

세포 표면 특성을 이용한 사과 신선도 평가*

Evaluation of Apple Freshness by Characterizing Surface Texture of Cells

조 용 진*

정희원

Y. J. Cho

ABSTRACT

The freshness of apple was evaluated by characterizing the surface texture of flesh cells. The freshness index which was related to the amount of wrinkles on the cell surface was defined to quantify the freshness. Four parameters relevant to the amount of the cell wrinkles were selected and measured using image analysis including wrinkle extraction procedure and Fast Fourier Transform of a wrinkle-extracted image. Out of 4 parameters, three parameters had highly significant correlations with the time elapsed after harvest. But it was concluded that two parameters out of such 3 parameters could be used for description of freshness index.

주요용어(Key Words): 신선도 지수(freshness index), 사과(apple), 세포(cell), 영상처리(image analysis)

1. 서 론

사과의 품질(quality)과 상태(condition)를 객관적으로 평가하기 위하여 여러 가지 인자가 사용되고 있다. 미국 농무성 시장검사지침서(market inspection instructions) (USDA, 1978)의 사과 항목을 살펴보면, 사과의 품질을 나타내는 인자로는 미숙도(immaturity), 형상(shape), 청결도(cleanness), 색상(color) 및 결함(defects)이 사용되고 있으며, 상태를 평가하기 위해 사용되는 인자로는 경도(firmness), 부패(decay) 및 기타상태인자(other condition factors)가 있다. 기타상태인자의 경우, 명문화 하기에는 해당되는 인자가 매우 많을 수 있기 때문에 일부 인자에 대해서만 다루어져 있으며, 대표적인 기타상태인자

로는 멍든 표피(bruising skin), 신선한 표피(fresh skin), 부패 없이 깨진 표피(unhealed broken skin) 등이 있다.

이와 같이 사과의 품질과 상태를 객관적으로 평가하기 위하여 많은 인자가 도입되어 있음에도 불구하고, 신선도(freshness)란 용어는 사용 빈도가 높은 형편에 비하여 정량적 평가가 미흡한 인자로 알려져 있다.

Arthey(1975)는 신선도란 중요한 품질 특성에 해당된다고 지적하였으며, 상태(state)와 시간(time)의 관점에서 해석될 수 있다고 하였다. 따라서, 신선도란 수확 후 소비자가 구매할 때까지 경과한 시간을 의미하며, 또한 수확 후 즉시 소비되지 않음으로 인해 생산물이 질적으로 저하된 정도와 관련이 있다고

* 본 연구는 농림부의 농림수산물특정연구과제 연구비 지원으로 수행되었음

* 한국식품개발연구원

설명하였다.

Ben-Arie 등(1979)은 사과와 숙성(ripening) 과정에서 나타나는 세포 초미세구조의 변화를 관찰한 결과, 연화가 매우 진전된 단계에서는 세포와 세포를 결합하고 있는 중엽(middle lamella)의 분리가 뚜렷하게 나타났다고 하였다.

Bolin과 Huxsoll(1987)은 사과와 살구의 신선도 저하에 따른 조직감의 연화 정도를 정량화하고자 SEM/IA(scanning electron microscope/image analyzer)를 사용하여 세포의 형태학적 변화를 분석하는 방법을 소개하였다. 사과와 살구의 경우, 함수율이 2% 감소하였을 때 세포의 장폭비 및 원형도가 유의하게 다르게 나타났다고 하였다.

Trakoontivakorn 등(1988)은 사과와 살구의 신선도를 평가하고자 전자현미경을 이용하여 세포 구조를 분석하였던 바, 영상 분석에 의하여 세포의 면적, 길이 및 세포 간극을 정량하였다. 분석 결과에 의하면, 숙성 사과의 경우 세포 면적 및 세포 간극이 미숙 사과에 비해 더 크게 나타났으며, 숙성 사과의 세포 길이도 더 긴 것으로 나타났다.

Lapsley 등(1992)은 scanning electron microscopy (SEM), cold-stage SEM(cryoSEM) 및 confocal scanning laser microscopy(CSLM)를 이용하여 사과의 조직감(texture)을 평가하기 위하여 세포의 구조를 분석하였다. 3가지 방법 중에서 사과의 생체 세포를 3차원적으로 관찰하기에는 CSLM이 적합하다고 하였다.

이들 연구 사례는 신선도와 밀접한 관계를 나타내는 조직감의 연화 과정에서 세포벽이 붕괴되는 현상을 바탕으로 하여 세포의 구조 및 형태학적 특성을 분석하는 방법을 통하여 사과의 신선도 또는 조직감을 평가하고자 하였던 것으로, 그 상관 관계가 나타난다고 하였다.

그러나, 지금까지의 연구 사례에서 파악된 문제점으로는 사용 장비의 고가, 시료 조제의 난해 등이 있을 뿐만 아니라 근본적으로 신선도를 나타낼 수 있는 정량적 지수를 제시하지 못하고 있다.

따라서, 본 연구에서는 가격이 저렴하고 시료 조제가 매우 간단한 광학현미경과 영상분석기법을 이

용하여 사과의 신선도를 효과적으로 평가할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다.

2. 신선도 지수 설정

가. 신선도 지수의 정의

대부분의 과채류는 숙성 과정 동안에 조직감이 연화되는 현상을 보이게 되는데, 조직감의 연화는 세포 팽압의 감소, 전분의 분해 및 세포벽의 붕괴에 따른 결과로 나타나는 현상이다(Seymour 등, 1993). 사과의 경우도 숙성 과정 동안 이와 유사한 세포의 물리적 및 생화학적 변화를 보이게 되어 세포의 표면 조직감이 변하게 된다(Ben-Arie 등, 1979; Bolin과 Huxsoll, 1987; Trakoontivakorn 등, 1988; Lapsley 등, 1992).

따라서, 신선도는 수확 이후에 나타나는 조직감의 연화 현상과 밀접한 관계를 가지게 되므로 본 연구에서는 수확 이후 시간 경과에 따른 세포의 표면조직감 즉, 주름의 양을 정량하여 그 값을 신선도 지수(freshness index, FI)로 정의하였다.

나. 신선도 지수 표시법

물체의 표면조직감은 영상 분석에서 다음과 같은 상대거칠기(relative smoothness, R)를 이용하여 정량화 할 수 있다(Gonzalez와 Woods, 1992).

$$R = 1 - 1/(1 + \sigma^2) \dots\dots\dots (1)$$

여기서 σ : 주어진 영상의 화소치의 표준편차

(1)식에서 R 값이 0이면 물체의 표면에서 주름, 무늬 등이 전혀 없는 무결한 상태를 의미하고, R 값이 증가할수록 주름, 무늬 등이 많은 표면 상태를 나타내게 된다.

따라서, 본 연구에서는 (1)식과 유사하게 세포의 표면 상태를 표시하는 매개변수를 이용하여 다음의 (2)식으로 신선도 지수를 표시하였다.

$$FI = 1/(1 + w^2) \dots\dots\dots (2)$$

여기서 FI: 신선도 지수

w: 세포 표면의 주름의 양과 관련된 매개 변수

(2)식에서 w가 세포 표면의 주름의 양과 관련된 매개변수일 때, 신선한 사과일수록 w는 작은 값을 가지게 되어 FI는 1에 가까운 값을 가지게 된다.

3. 재료 및 방법

가. 실험재료

본 연구에 사용된 사과의 품종은 쓰가루(Tsugaru)이며, 산지(경기도 김포군 대곶면 거물대리)에서 수확적기에 수확(1996년 9월 5일)된 사과를 실온에 두면서 사용하였다.

나. 실험장치

본 연구에서는 사과 과육 세포의 표면 특성을 분석하기 위하여 광학현미경(Leica DMRB, Germany)에 영상분석장치를 장착하여 사용하였다. 광학현미경에서는 $\times 40$ 대물렌즈가 사용되었으며, 영상분석장치는 color digitizer module(Oculus-TCX, Coreco Inc., Canada), 2/3" one-chip color CCD camera(TMC-74, PULNiX America, Inc., USA), Pentium microcomputer 등으로 구성되었다. 이와 같은 장치를 통해서 $640 \times 480 \times 3$ 의 해상도를 갖는 RGB 컬러 영상을 획득하여 영상을 분석하였다. 여기서 640×480 화소를 갖는 영상의 실제 크기는 $0.205\text{mm} \times 0.156\text{mm}$ 이다. 한편, 영상 분석을 위한 알고리즘은 Visilog version 4.1.5(Noesis Vision, Inc., Canada)의 C interpreter를 사용하여 프로그램 하였다.

다. 세포의 표면조직감 분석

사과의 과육을 해부용 칼로 얇게 절단하여 슬라이드 글라스에 놓고 1% 용액의 Congo Red로 염색한

시료에 대해서 현미경을 통해 포착된 세포 표면 영상을 분석하였다.

영상 분석을 위한 알고리즘의 주요 내용은 다음과 같다. 먼저 640×480 화소의 크기를 갖는 컬러 영상으로부터 적색, 녹색 및 청색 성분 영상들로 분할하여 세포의 주름 상태를 가장 잘 보여주는 적색 성분 영상만을 취하였다. 적색 성분 영상에 대해 recursive laplacian operation과 normalization operation을 이용하여 세포 표면의 주름을 추출한 후, 영상의 중심 좌표를 기준으로 하여 256×256 크기의 정방형 영상으로 절단하였다. 한편, 256×256 영상에 대해서 Fast Fourier Transform을 실시하여 푸리에 스펙트럼 성분을 구하였다. 이와 같이 얻어진 영상들에 대해서 다음과 같이 표면조직감과 관련된 4개의 매개변수를 정의하여 세포의 신선도를 평가하였다.

- w_1 : 세포 표면의 주름만이 추출된 영상에서의 화소치의 평균
- w_2 : 세포 표면의 주름만이 추출된 영상에서의 화소치의 표준편차
- w_3 : 세포 주름의 푸리에 스펙트럼 영상의 화소치의 평균
- w_4 : 세포 주름의 푸리에 스펙트럼 영상의 화소치의 표준편차

한편, 각 시료는 수확 후 약 7일 간격으로 매단계에서 4개의 사과를 취하고 각각의 사과에 대해서 임의의 3위치에서 과육 세포를 채취함으로써 각 단계마다 12반복으로 총 72의 시료를 대상으로 측정하였다. 측정치의 통계분석을 위해서 SAS ver.6.03(SAS, 1988)을 이용하였다. 그림 1의 (a)는 사과 세포의 표면을 나타내는 원시영상이고, (b)는 세포 표면의 주름만이 추출된 가공영상이다.

4. 결과 및 고찰

가. 세포의 표면 특성

표 1은 수확 후 경과한 시간과 사과 세포의 표면

조직감 사이의 상관계수를 나타낸 것이다. 앞에서 정의된 4개의 매개변수(w_1, w_2, w_3, w_4)는 세포 표면의 주름이 많을수록 큰 값을 가지게 된다. 표에서 보는 바와 같이 수확 후 시간이 경과함에 따라 사과 세포의 표면에 형성되는 주름의 양이 증가하는 것을 알 수 있으며, 특히 세포의 표면 상태를 나타내는 4개

의 매개변수 중에서 w_2, w_3 및 w_4 는 99%의 신뢰수준에서 수확 후 경과 시간과 고도로 유의한 상관 관계를 가지는 것으로 나타났다.

따라서, 이 결과로부터 사과와 사과 세포 표면의 주름의 양을 정량하여 사과의 신선도를 평가할 수 있음을 알 수 있다.

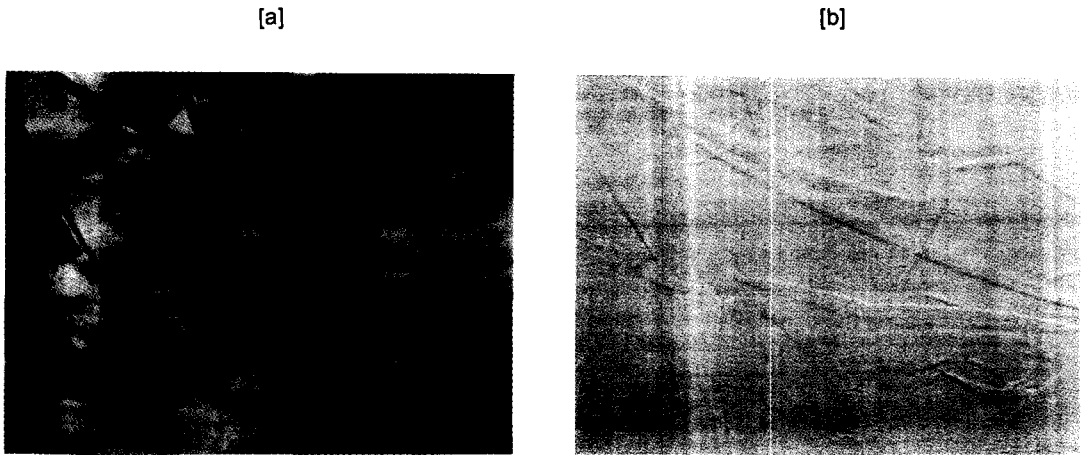


Fig. 1 [a] An original image of apple cell surface, [b] the wrinkle-extracted image.

Table 1 Correlation between the surface texture of apple cells and the time elapsed after harvest

Time (days)	w_1	w_2	w_3	w_4	
Time (days)	1.0000	0.8412 (0.0358)	0.9433** (0.0047)	0.9340** (0.0064)	0.9286** (0.0074)
w_1		1.0000	0.8860 (0.0187)	0.9424** (0.0049)	0.7934 (0.0596)
w_2			1.0000	0.9899** (0.0002)	0.9851** (0.0003)
w_3				1.0000	0.9509** (0.0036)
w_4					1.0000

Notes) w_1 : Mean of grey scale of pixels in an image processed by the recursive laplacian

w_2 : Standard deviation of grey scale of pixels in an image processed by the recursive laplacian

w_3 : Mean of grey scale of pixels in an image of Fourier spectrum by FFT

w_4 : Standard deviation of grey scale of pixels in an image of Fourier spectrum by FFT

() : Significance probability which means "highly significant" when its value is equal to or less than 0.01

** : highly significant at confidence level of 99%

나. 신선도 지수의 변화

그림 2는 사과 수확 후 시간 경과에 따른 신선도 지수의 변화를 나타낸 것이다. 표 1과 마찬가지로 약 7일 간격의 매 단계에서 12개의 시료에 대한 평균값을 이용하여 분석한 결과이다. 그림에서 보는 바와 같이, 퓨리에 스펙트럼 영상의 화소치 평균을 신선도 평가를 위한 매개변수(w_3)로 도입하였을 때의 신선도 지수[FI(w_3)]가 w_2 및 w_4 를 매개변수로 사용한 신선도 지수[FI(w_2), FI(w_4)]보다 높게 평가되는 것으로 나타났으며, w_4 를 매개변수로 사용하였을 때는 신선도의 변화를 나타내기에는 미흡한 것으로 보인다. 이와 같이 신선도 지수를 산정하기 위해 어떠한 매개변수를 사용하느냐는 신선도 지수의 크기와 경향에 영향을 주는 것으로 나타났다. 종합적으로 그림 2를 통해서, 서론에서 소개한 바와 같이 Arthey(1975)가 정의하고 있는 신선도의 변화 경향을 표시하기 위해 FI(w_2)와 FI(w_3)가 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 다만 본 연구에서 제시하고 있는 신선도 지수는 신선도의 변화 경향을 정량적으로 나타낼 수 있을 뿐이며, 신선도 지수의 절대치에 의미를 부여하기 위해서는 향후 신선도 지수의 표준화에 관한 연구가 요망된다.

이와 같은 신선도 지수를 사용하게 되면, 신선도란 사과 세포의 물리적 및 생화학적 변화를 반영한

결과이므로 그 영향을 직접 반영한 신선도를 평가할 수 있을 것으로 기대된다.

5. 요약 및 결론

과채류의 신선도는 수확 후 저장이나 유통 과정에서 매우 중요한 품질 인자로 인식되어 있음에도 불구하고 정량적인 평가가 미흡한 실정하에서, 본 연구에서는 사과의 신선도를 정량적으로 평가할 수 있는 표시법을 제시하고자 하였다. 과육 세포의 물리적 및 생화학적 변화를 반영하는 신선도를 평가하기 위하여 세포의 표면 특성을 정량화하는 영상 분석기법을 개발하였다. 본 연구를 통하여 도출된 결과 및 결론은 다음과 같다.

1. 세포벽 표면의 상태에 근거한 사과의 신선도 지수를 설정하였다.
2. 사과 세포벽 표면의 상태를 나타내는 매개변수를 영상 분석을 이용하여 정량한 결과, 그 매개변수는 수확 후 경과한 시간과 고도로 유의한 상관관계를 보였다.
3. 본 연구에서 제안한 신선도 지수를 사용하게 되면 사과의 신선도를 효과적으로 정량 평가할 수 있을 것으로 기대된다. 한편, 신선도 지수의 절대적 크기에 의미를 부여하기 위하여 향후 신선도 지수의 표준화에 관한 연구가 요망된다.

참 고 문 헌

1. Arthey, V. D. 1975. Quality of horticultural products. Butterworths & Co Publisher, Ltd. London.
2. Ben-Arie, R., N. Kislev and C. Frenkel. 1979. Ultrastructural changes in the cell walls of ripening apple and pear fruit. *Plant Physiol.* 64:197-202.
3. Bolin, H. R. and C. C. Huxsoll. 1987. Scanning electron microscope/image analyzer determination of dimensional postharvest changes in fruit cells. *J. of Food Science* 52(6):1649-1698.

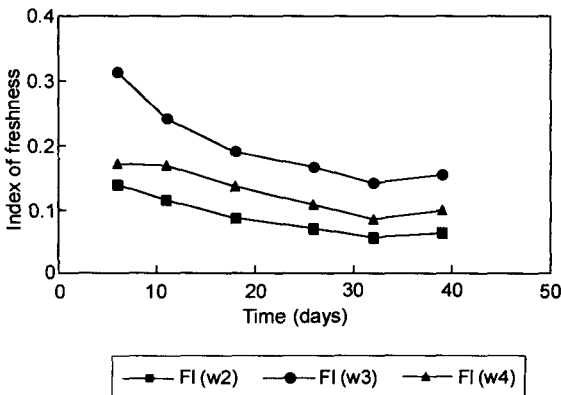


Fig. 2 Variation of the apple freshness index with respect to the time elapsed after harvest.

4. Gonzalez, R. C. and R. E. Woods. 1992. Digital image processing. Addison-Wesley Publishing Company, Reading, USA.
5. Lapsley, K. G., F. E. Escher and E. Hoehn. 1992. The cellular structure of selected apple varieties. Food Structure. 11:339-349.
6. NOESIS. 1991. A tutorial on image processing. Noesis Vision Inc., Quebec, Canada. pp. 149-166.
7. SAS. 1988. SAS/STAT guide for personal computers, version 6.03. SAS Institute, Inc., Cary, USA.
8. Seymour, G. B., J. E. Taylor and G. A. Tucker (ed.). 1993. Biochemistry of fruit ripening. Chapman & Hall, London. pp. 17-24.
9. Trakoontivakorn, G., M. E. Patterson and B. G. Swanson. 1988. Scanning electron microscopy of cellular structure of granny smith and red delicious apples. Food Microstructure 7:205-212.
10. USDA. 1978. Market inspection instructions: apples. USDA AMS Fruit and Vegetable Division, Washington, D.C.