

근적외분광분석법을 이용한 감귤잎의 수분 측정

서은정 · 우영아 · 임현량 · 김효진[★] · 문두경^{*} · 최영훈^{*}
동덕여자대학교 약학과, ^{*}농진청 제주농업시험장
(2003. 6. 18 접수, 2003. 7. 24 승인)

Determination of the water content in citrus leaves by portable near infrared (NIR) system

Eun-Jung Suh, Young-Ah Woo, Hun-Rang Lim, Hyo-Jin Kim[★], Doo-Gyung Moon^{*}, and Young-Hun Choi^{*}
College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea
^{*}National Jeju Agriculture Experiment Station, RDA, Namcheju 699-800, Korea
(Received Jun. 18, 2003, Accepted Jul. 24, 2003)

요 약 : 감귤의 생육단계별 토양 수분의 양은 감귤의 비대와 당도에 영향을 미치며, 토양 건조 처리를 통해 수분스트레스를 부여하면 과실의 당도를 높일 수 있다. 감귤잎 수분 함유율의 측정은 감귤 성장 시기에 따른 관수 시점, 관수량 조절의 지표가 될 수 있다. 본 연구는 근적외분광분석법(NIRS)을 이용하여 비파괴적으로 감귤잎의 수분을 측정하기 위하여 수행되었다. 온주밀감 (*Citrus unshiu* Marc.)의 잎 ('Okitsu' Satsuma mandarin leaves)은 건조감량시험법에 따라 건조시켜 수분 함유율 20.80-69.98% 범위로 하여 사용하였다. 감귤잎의 흡수 스펙트럼은 광섬유 반사 프로브를 이용하여 측정하였고, 1450 nm에서 수분 함유율 변화에 따른 OH band의 변화를 관찰할 수 있었다. 감귤잎 수분 측정을 위한 모델은 1100-1700 nm 파장 범위의 스펙트럼을 사용하여, 부분최소제곱법(PLSR, Partial least squares regression)을 실시하여 개발되었다. 그 결과 SEP (Standard errors of prediction)는 0.97%였다. 개발된 모델을 검증하기 위하여 다른 감귤잎에 적용시킨 결과, 건조감량 측정 결과에 대하여 SEP 0.81%로 좋은 상관성을 보여주고 있다. 본 연구를 통해서 신속하고 비파괴적인 감귤잎의 수분 함유율 측정이 근적외분광분석법을 이용하여 성공적으로 수행되었다.

Abstract : The amount of water for the cultivation of citrus is different based on the growing period. The effect of water stress induces to enhance of sugar accumulation in citrus. The water content in the leaves of citrus can be a index for watering during cultivation. The purpose of this study is to determine the water content of citrus leaves non-destructively by using near infrared spectroscopy (NIRS). Citrus leaves were prepared from 'Okitsu' Satsuma mandarin leaves (*Citrus unshiu* Marc.) ranging from 20.80 to 69.98% of water content by loss on drying method, and NIR reflectance spectra of citrus leaves were acquired by using a fiber optic probe. It was found that the variation of absorbance

★ Corresponding author
Phone : +82+(0)2-940-4525 Fax : +82+(0)2-943-9578
E-mail : hyojkim@dongduk.ac.kr

band 1450 nm from OH vibration of water depending on the water content change. Partial least squares regression (PLSR) was applied to develop a calibration model over the spectral range 1100-1700 nm. The calibration model predicted the water content for the validation set with a standard errors of prediction (SEP) of 0.97%. In order to validate the developed calibration model, routine analyses were performed using independently prepared citrus leaves. The NIR routine analyses showed good results with those of loss on drying method with a SEP of 0.81%. The rapid and non-destructive determination of the water content in citrus leaves was successfully performed by portable NIR system.

Key words : near infrared (NIR), citrus leaves, water content, partial least squares regression (PLSR)

1. 서 론

감귤은 추위에 약하기 때문에 최저 온도 -7 °C 이상의 온난한 지방에서 생산되는 과실로 우리 나라에서는 주로 제주도에서 생산된다. 감귤의 당도, 산함량, 크기는 감귤의 품질을 좌우하는 중요한 요인으로서 품종, 착과 상태, 감귤원의 입지 조건 및 기상 환경에 의해 영향을 받는다. 일반적으로 여름과 가을 사이의 강우가 감귤의 품질과 비대에 영향을 주며, 강우가 적은 해가 강우가 많은 해에 비하여 감귤의 당도가 높은 것으로 알려져 있다. 특히, 과실비대기인 9-10월의 강우량이 감귤의 비대와 당도에 직접적으로 영향을 미친다.¹

토양 수분과 수확기 감귤의 당도의 관계는 gypsum block으로 측정된 토양 수분 값이 1 이하인 토양에서는 과즙의 당도가 12.5 °BX 이상이었으며, 10 이상인 토양에서는 약 9.0 °BX로 토양 수분이 낮을수록 감귤의 당도가 증가되었다.²

토양 건조 처리에 의한 수분스트레스로 인해 과실의 당도가 높아지는 기작은 세 가지 요인으로 요약할 수 있다. 첫째는 과실의 비대가 감소되어 상대적으로 당도가 증가하는 것이고, 두 번째는 과피 또는 과실 내의 속껍질이 얇아지며 이를 구성하는 다당류가 가용성 당으로 분해되기 때문에 당도가 높아지는 것이다. 세 번째는 수체 내 동화물의 분배양식 변화로 잎이나 가지, 뿌리 등의 생장이 억제되어 과실로의 분배 비율이 높아지기 때문에 과실의 당도가 증가하게 되는 것이다.

이러한 수분스트레스의 원리를 이용하여 고품질의 감귤을 생산하기 위해 인위적으로 토양수분의 양을 조절하여 수분스트레스를 부여하는 연구가 이루어지고

있다. 과실비대기 때 감귤원 토양을 타이백 또는 비닐로 멀칭하여 수분스트레스를 부여하므로써 과실 비대를 억제하고 과실로의 당집적을 유도하여 증당을 꾀하는 방법이나,^{3,4} 토양 중 뿌리 분포 영역을 물리적으로 제한하여 수체 생장을 억제하고 과실비대기에 수분스트레스를 효과적으로 부여하므로써 과즙 내 당축적을 촉진하는 방법이 알려져 있다. 그러나 적절한 수분스트레스를 부여하기 위해서는 감귤의 성장 시기에 따라 관수시점과 관수량 등을 조절하는 것이 중요하다.

감귤나무의 수분스트레스를 측정하는 방법은 크게 두 가지로 분류할 수 있다. 첫째는 석고블럭이나 tensiometer, psychrometer 등을 이용하여 토양수분포텐셜을 측정하는 간접적인 방법으로 토양의 종류에 따라 오차가 발생하는 문제가 있다. 두 번째는 엽수분포텐셜측정기를 이용하여 해뜨기 전 엽자루가 포함된 잎을 챔버에 고정시켜 질소가스로 압력을 조절하고, 엽자루로부터 물이 나오는 시점을 엽수분포텐셜 수치로 측정하는 직접적인 방법이다. 현재 많이 사용되는 비교적 정확한 방법이지만, 이른 아침에 많은 시간과 노력이 소비될 뿐 아니라 한 번 측정에 사용된 잎의 반복적인 측정이 불가능하다는 문제가 있다.

본 연구는 원형 상태의 감귤잎에서 수분 함유율을 측정하기 위해 비파괴적이면서 동시에 간편하다는 장점을 갖추고 있는 근적외분광분석법(NIRS)을 이용한 새로운 수분스트레스 측정법을 개발하기 위해 수행되었다. 근적외선을 감귤잎에 조사시켜 비파괴적으로 간편하게 감귤의 수분 함유율을 측정하는 것이 이 연구의 목표이다. 근적외분광분석법은 전처리가 최소화되기 때문에 신속하게 반복적으로 측정할 수 있어, 정량의 재현성 증가, 현장에서의 직접 적용 가능, 측정 시간 및 비용의 절감 등 많은 이점이 있다. 근적외분광

분석법은 Karl Norris에 의해 농업분야에서 농산물의 수분, 지방, 단백질의 분석에 사용된 이후로 많은 분야에서 그 응용이 확대되고 있다.⁵ Jaren 등은 포도의 당도를 근적외분광분석법을 사용하여 분석하였다.⁶ Munehiro Tanaka와 Takayuki Kojima는 배의 당도에 관한 연구에서 근적외분광분석법을 이용하였다.⁷ 그 밖에 곡류, 육류 및 유제품의 수분, 지방, 단백질, 탄수화물과 섬유질의 신속한 정량에 널리 사용되고 있다.⁸⁻⁹ 본 연구에서는 감귤잎에 근적외선을 직접 조사하여 얻은 흡광도와 감귤잎의 수분함유율의 상관성을 부분최소제곱법 (PLSR)을 이용하여 상관성을 검증하고자 하였다. 또한 개발된 모델을 실제 다른 감귤잎에 적용해보았다.

2. 실험 방법

2.1. 검체 수집 및 전처리

검체는 제주농업시험장 감귤연구센터를 통해 제주도에서 채취한 온주밀감 (*Citrus unshiu* Marc.)의 잎 ('Okitsu' Satsuma mandarin leaves)을 사용하였다. 그 중 감귤잎 4매를 취해, 각각을 6등분하였다.

2.2. 건조감량시험

검체를 5 mm 두께의 유리판 사이에 끼워 105 °C 건조기에서 건조시키면서, 건조 직전과 건조 후 15분, 30분, 50분에 무게 (W_1)를, 그리고 향량이 되었을 때의 무게 (W_2)를 측정하였다. 건조감량시험을 통해 수분 함유율 (%)을 구하는 식은 다음과 같다.

$$\text{수분 함유율 (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100 \quad (\text{Equation 1})$$

2.3. NIRS를 이용한 측정

감귤잎의 흡수 스펙트럼의 측정을 위해 근적외분광분석기 (HandHeld HN1100, SpectronTech Co., Ltd, Korea)를 사용하였다 (Fig. 1). Tungsten-halogen lamp 광원과 lithography 방식의 microchip 기술로 제작된 PDA (photodiode array) 형태의 InGaAs 검출기를 사용하였다. 이 분광기는 휴대용으로 충전하여 6시간 동안 전원 없이 작동이 가능하며, 320×100×255 (w×h×d) 크기로 운반이 용이하다. Y자 형태의 두 갈래로 나뉜 광섬유 반사 프로브를 이용하여 감귤잎의 뒷면에 프로브의 끝을 직접 접

촉시켜 측정하였다. 프로브의 끝은 각각 광원, 검출기, 측정부위와 연결된다. 광원에서 나온 빛은 프로브의 한 끝으로 이동해 8개의 발광부를 통해 측정부위에 도달한다. 시료에 흡수된 후, 나머지 빛이 1개의 수광부를 통해 검출기와 연결된 프로브의 끝으로 들어가 검출기에 도달하면 검출기에서 흡수된 빛을 산출하여 스펙트럼으로 보여준다. 1100-1750 nm의 파장 범위에서 매 회 30번 측정하여 평균 스펙트럼을 얻었다. 스펙트럼 당 2 nm 간격으로 326 data points를 수집하도록 설정하였다. 99% ceramic을 측정해 기준스펙트럼으로 하여 검체 측정 직전에 측정한 후, 감귤잎을 측정하였다. 측정 시기는 감귤잎의 무게를 측정한 직후에 이루어졌고 검체 하나 당 건조 직전과 건조 후 15분, 30분, 50분에 측정하였다. 따라서 총 96개의 스펙트럼을 얻을 수 있었다. 근적외선 분광분석의 측정은 ChemoHN1100 ver. 1.9.5jt software (SpectronTech Co., Ltd, Korea)를 이용하여 기록하였다.

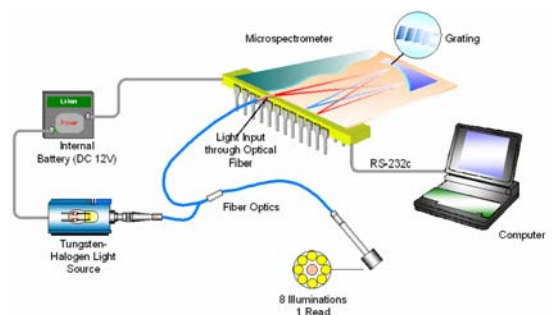


Fig. 1. Schematic diagram of the portable NIR system.

3. 결과 및 고찰

3.1. 감귤잎의 스펙트럼

NIRS의 스펙트럼은 분자 운동에 의하여 mid-IR 영역 (700-2500 nm)에서 나타나는 NH, OH, CH band의 기본 진동수의 overtone과 combination에 의한 것으로, 강도는 상대적으로 약하다.¹⁰ Fig. 2는 20.80-69.98% 수분 함유율의 감귤잎을 NIRS를 이용하여 측정하여 log1/R 형태의 흡광도로 나타낸 스펙트럼이다. 1450 nm에서 보이는 크고 broad한 피크가 물의 OH stretching band의 first overtone에 의한 것이다. Fig. 3는 수분 함유율에 따른 OH band의 변화를 잘 관찰할 수

있도록 전체 스펙트럼 중 4개만을 취하여 MC (mean centering) 한 것이다. MC법은 교정부 전체의 평균 스펙트럼을 구하고, 교정부의 각 스펙트럼과 평균 스펙트럼의 차이를 구하는 것으로 스펙트럼 사이의 구별하기 어려운 차를 크게 하는 효과가 있다.¹¹ 그러나 NIR 흡수 스펙트럼은 측정 부위의 복잡한 성분들에 의한 신호가 중첩되어 있는 상태일 뿐만 아니라, 측정 면에 의한 산란 효과가 크다. 그러므로 Fig. 3에서 OH band의 크기와 수분 함유율 사이의 상관성을 관찰 할 수 있음에도 불구하고, 기존의 단변량 분석법을 통해서서는 정확한 수분 함유율을 구할 수 없다.¹²

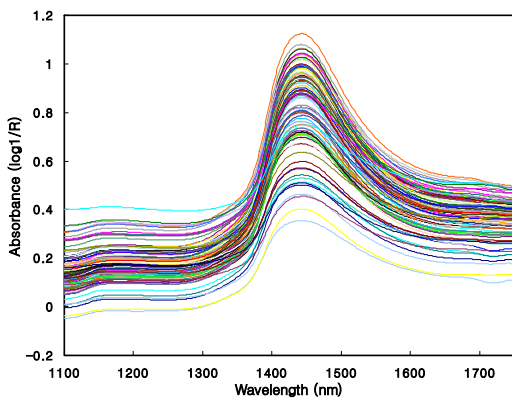


Fig. 2. NIR spectra of citrus leaves using the portable NIR system.

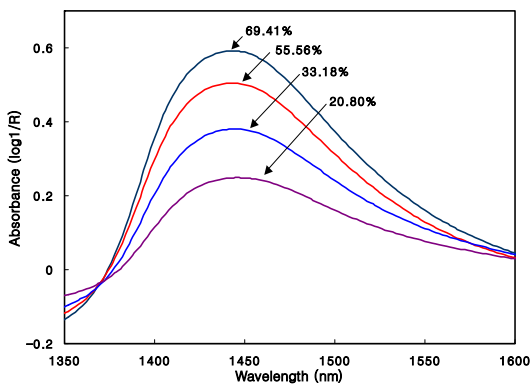


Fig. 3. Enhanced water peak variations after mean centering of spectra.

3.2. 근적외분광 스펙트럼을 이용한 감귤잎의 수분 측정 모델의 개발

감귤잎의 수분 측정을 위한 모델의 개발 및 평가는 부분최소제곱법 (PLSR)을 사용하여 수행되었다. PLSR은 여러 분야에서 널리 쓰이는 다변량 분석법의 하나로 분광분석을 통해 얻은 스펙트럼 정보뿐 아니라 농도 자료에 대해 각각 인자분석을 실시하여 이들 간의 상관관계를 포함한 모델을 얻고 이에 대해서 회귀분석을 실시하는 분석법으로 보다 정확한 모델을 얻을 수 있다. 건조감량시험을 통해 얻은 감귤잎의 수분 함유율을 기준으로 하여 검량식을 작성하였다. PLS 모델을 개발하기 위해, 1100-1700 nm 파장 범위의 스펙트럼이 사용되었다. 전체 수분 함유율 20.80-69.98%의 감귤잎 스펙트럼 96개와 수분 함유율 62.20-69.98%의 건조시키지 않은 감귤잎 스펙트럼 24개를 선택하여 각각 모델 개발에 사용하였다. 수분 함유율이 감소함에 따라 감귤잎 표면 상태가 변화되어 빛의 산란 효과가 변하기 때문에, 건조시키지 않은 감귤잎 스펙트럼을 선택하여 개발한 모델이 전체 감귤잎 스펙트럼을 사용한 경우보다 더 좋은 결과를 보였다. 그러므로 본문에는 수분 함유율 62.20-69.98%의 건조시키지 않은 감귤잎 스펙트럼을 선택하여 개발한 모델을 기재하였다. 바탕선 이동을 제거하고 중첩되어 있는 신호를 부각시키기 위하여 스펙트럼의 다양한 전처리 기법을 사용하는데, 여기에서는 미분법 및 MC법을 사용하여 모델을 작성하였다. 총 24개의 스펙트럼은 6대 4의 비율로 소프트웨어 자체 내에서 무작위 선택하여 calibration set과 validation set으로 나누어졌다. Calibration set은 스펙트럼과 기지의 감귤잎의 수분 함유율을 이용하여 흡수 스펙트럼과 감귤잎의 수분 함유율과의 수학적적인 관계식 또는 모형을 추정하는데 사용된다. Validation set은 calibration set으로부터 얻은 추정 모델을 가지고 스펙트럼 정보를 적용시켜 수분 함유율을 예측해서 모델을 검증하는데 사용된다. Calibration set의 오차는 SEC (Standard Errors of Calibration)로, validation set의 오차는 SEP (Standard Errors of Prediction)로 나타내었고 그 식은 아래와 같다. 모든 데이터 처리는 ChemoHN1100 ver. 1.9.5jt software (SpectronTech Co., Ltd, Korea)를 이용하였다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{n-k}} \quad (\text{Equation 2})$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (C_{pred,i} - C_{ref,i})^2}{p}} \quad (\text{Equation 3})$$

- n : number of sample in calibration set
- k : number of PLS factor
- p : number of sample in validation set
- $C_{pred,i}$: predicted concentration of i th sample
- $C_{ref,i}$: reference concentration of i th sample

최적의 인자수를 결정하기 위하여 인자수에 따른 SEC 및 SEP의 변화를 조사하였다 (Fig. 4). Factor에 따라 계산한 SEP가 최소를 나타내는 인자를 최적 인자로 결정하였다. Calibration 및 validation 결과는 Table 1과 같다. MC를 실시한 모델이 SEP 0.97%로 가장 좋은 결과를 보였다. Fig. 5는 calibration 및 validation의 결과를 건조감량으로 계산된 수분 함유율을 X축으로, 근적외분광분석법으로 측정된 결과를 Y축으로 하여 나타낸 것이다.

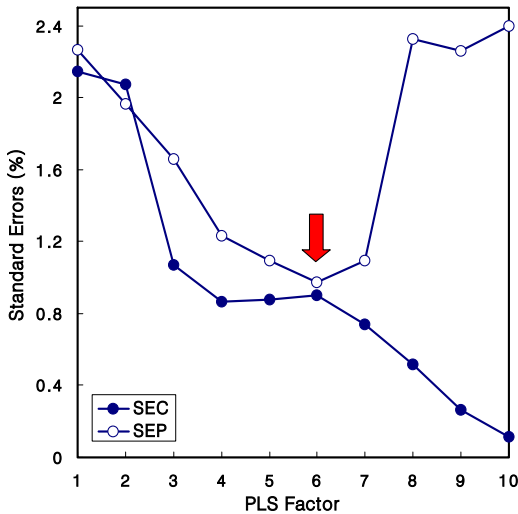


Fig. 4. Effect of the number of PLS factors on the SEC and the SEP for the calibration model.

Table 1. Calibration results of the water content in citrus leaves using the 1100-1700 nm range

Spectral treatments	No. factors	Calibration		Validation	
		SEC	R ²	SEP	R ²
none	6	0.77	0.958	1.00	0.780
MC	6	0.90	0.942	0.97	0.803
1D, MC	8	0.50	0.987	1.04	0.759

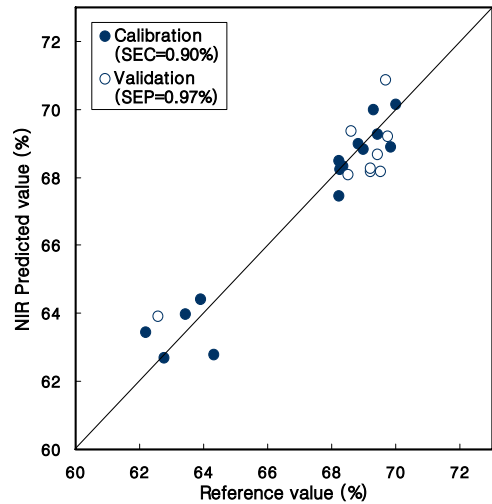


Fig. 5. Scatter plot showing the correlation between the water content of citrus leaves and NIR value.

3.3. 일상분석

위에서 개발된 PLS 모델을 다른 감귤잎에 적용시킨 결과, 건조감량 측정 결과와 비교하여 SEP 0.81%로 좋은 상관성을 보여주고 있다 (Table 2). 건조감량과 근적외분광분석법에 의한 결과의 평균을 신뢰도 95%에서 검정하기 위해 쌍체 비교 (paired t-test)를 실시하였다. 그 결과 t통계량의 절대값은 0.98로 t기각치 단측 검정값인 1.83보다 작아 95% 신뢰 수준에 적합하다.

4. 결론

수분 함유율이 작아짐에 따라 OH band의 크기가 작아지는 것을 관찰할 수 있었다. 감귤잎의 수분 측정을 위해 개발된 PLS 모델은 SEP 0.97%로 좋은 상관성을 보이고 있다. 또한 이 모델에 실제로 다른 감귤

Table 2. Routine analysis results of the water content in citrus leaves using the 1100-1700 nm range

Reference value (%)	NIR Predicted value (%)	Residual
69.84	70.28	-0.44
69.60	69.37	0.23
68.35	70.60	-2.25
69.22	69.26	-0.04
68.13	68.09	0.04
68.57	68.22	0.35
67.90	68.35	-0.45
68.76	68.72	0.04
67.17	67.88	-0.71
68.26	67.57	0.69

있을 적용해 보았을 때 건조 감량에 의해 얻은 수분 함유율과 NIR에 의해 예상된 값의 오차는 작았다. 이 연구를 통하여 근적외분광분석법을 이용하여 신속하고 비파괴적으로 감귤잎의 수분 함유율을 측정할 수 있음을 확인하였다.

참고 문헌

1. Carter, R., B.S. Bulsing, and J.A. Atterway, *Proc. Florida State Hort. Soc.*, **4**, 92-95(1972).
2. 현해남, 한해룡, 문두길, 임한철, 문두경, *農試論文集(農業産學協同篇)*, **33**, 53-60(1991).
3. 文斗敬, 비닐멀칭이 土壤水分과 柑橘의 品質에 미치는 影響, 濟州大 碩士學位論文 (1992).
4. 李種熙, 멀칭材料에 따른 柑橘園 土壤水分調節이 果實品質에 미치는 影響, 慶北大 碩士學位論文 (1997).
5. Williams, Phil and Norris, Karl, "Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industry", 201, American Association of Cereal Chemists, Inc., Minnesota, 1987.
6. Jaren C., Ortuno JC., Arazuri S., Arana JJ., Salvadores MC., *International Journal of Infrared & Millimeter Waves*, **22**(10), 1521-1530(2001).
7. Munehiro Tanaka and Takayuki Kojima, *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 2272(1996).
8. Panford J.A., Williams P.C., and deMan J.M.,

JAOCs, **65**, 1627(1988).

9. Stephen R.D., Kent S.M., and Bill D.W., *Analytical Techniques and Instrumentation*, **73**(2), 257-263(1996).
10. D.A. Burns and E.W. Ciburczak, "Handbook of Near-Infrared Analysis", 7, Marcel Dekker, Inc., 1992.
11. Kim H. Esbensen, "Multivariate Data Analysis - In Practice", 33, 54, CAMO ASA, 2000.
12. B.G. Osborne and T. Fearn, "Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis", 86, Longman Scientific & Technical, 1986.