

近赤外線分光分析法에 의한 등숙시기별 보리종실의 성분測定

金炳鎬* · 朴義浩** · 徐亨洙*

Determination of Barley Grain Components at Different Maturing Stages by Near Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis

Byung Joo Kim*, Eui Ho Park** and Hyung Soo Suh*

ABSTRACT : This study was conducted to establish the rapid determination method for major components of maturing covered barley grains, and to improve the efficiency of selection in barley breeding.

Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) is an established, economical and nondestructive technique applied widely to the food and feed industry. 34 barley lines were sampled at 5 day-interval from 25 to 35 days after heading.

A standard regression analysis for the data obtained by analytical laboratory methods and NIRS method was carried out to get a useful calibration equation. The simple significant correlation between these two methods at 25 days after heading was recognized in starch and β -glucan contents. At 30 days after heading the data obtained by two methods showed significant correlation in starch, β -glucan and protein contents. Analyzed data and that from NIRS method at 35 days after heading was significantly correlated in starch and protein contents. It was concluded that the applicability of NIRS method for the components analysis in maturing barley grains was different depending on maturing stages and components.

Key words : Covered barley, Maturing stage, Chemical components, NIRS.

우리 나라에서의 보리품질 연구는 벼에 비하여 아직 미흡한 실정이며, 특히 대량분석 체계의 미비로 육성초기세대의 많은 계통에 대한 양질의 보리품종 조기선발이 효과적으로 이루어지지 못하고 있다. 그러나 신속하고 정확한 분석을 위하여 1960년대 NIR spectrophotometer가 농산물의 수분, 지방 등의 정량분석법에 실질적으로 이용되면서^{2,12)} 미국과 캐나다에서는 1970년대 후반부터

는 소맥의 수분과 단백질분석시 근적외분광광도계를 이용한 분석법이 공정분석법으로 채택되고 있는 실정이다. 최근 국내에서도 근적외분광광도계를 이용한 비파괴분석법이 조 등^{3,4)}에 의해 소개되면서 일부 작물의 성분분석에 이용 가능성이 보고되고 있다^{7,8,9)}.

Czuhajowska 등^{5,6)}은 근적외분광광도계를 이용하여 보리의 전분 및 β -glucan 분석이 가능할

* 嶺南農業試驗場(National Yeongnam Agricultural Experiment Station, Milyang 627-130, Korea)

** 嶺南大學校 自然資源大學(College of Natural Resources, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea)

〈'95. 11. 2 接受〉

것으로 보고하였고, 金 등⁹⁾은 맥주보리 종실의 단백질함량을 Micro-Kjeldahl법과 비교분석하여 유의성을 보고하였다. 또한 Löffler 등¹⁰⁾은 밀의 두 생육단계에서 근적외분광분석법을 이용하여 단백질함량을 분석한 결과 상관성이 높게 나타나 조기선발에 대한 가능성을 제시하였다.

본 시험에서는 근적외분광분석법을 이용하여 육성과정에 있는 많은 보리 계통들의 성분을 수확기 이전에 신속하고 간편하게 사전분석할 수 있는 가능성을 검토함으로써 보리의 성분육종에 있어 선발효율을 극대화시키고자 수행되었다. 즉 성숙기 이전의 등숙단계별로 채취한 시료와 근적외분광광도계를 이용하여 각 등숙시기에 적합한 간접분석방법의 가능성을 검토함으로써 등숙기 이전에 많은 계통들의 성분 스크린을 신속하게 실시함으로써 최종선발의 능률을 높이는 데 목적을 두었다.

材料 및 方法

본 연구의 공시재료는 1993년 10월 20일에 영남농업시험장 전작포장(덕평동)에 휴폭 40cm, 파폭 18cm로 조파하여 재배된 알보리 외 33계통을 출수후 25, 30, 35일에 각각 채취하여 사용하였다. 종자의 수분함량을 14%이하로 상온에서 건조시킨 후 Heico sample mill(Model TI-100)을 이용하여 60 mesh로 분쇄하여 성분분석용 시료로 사용하였다. 각 시기별로 수확한 계통들의 종실전분, β -glucan, 조단백질 및 회분을 각각 3반복씩 분석하였다.

전분함량은 시료 1g을 80ml 물과 현탁액을 만들어 autoclave내(120℃)에서 호화시킨 후 2% amyloglucosidase(Rhizopus, Sigma No. A-7255) 5ml를 넣어 55℃ 수조에서 2시간 동안 당화시킨 다음 여과시켜 얻어진 일정량의 액을 somogyi법¹¹⁾으로 당함량을 정량하여 전분으로 환산하였다. β -glucan은 McCleary법¹²⁾에 준하여 실시하였다. 단백질함량은 Micro-Kjeldahl법에 의해 전 질소함량을 구한 뒤 질소환원계수 6.25를 곱하여 나타냈으며 회분은 전기회화로를 이용하

여 600℃에서 4시간 동안 탄화시키는 회화법¹³⁾을 이용하여 측정하였다.

근적외분광분석은 근적외 스펙트럼측정용 시료용기에 화학적 분석에 사용된 동일 보리 분말시료 약 5g을 넣고 일정체적이 되게 조정한 후 근적외 분광분석장치(Neotec 102:filter type instrument, NIRS system사)에 장착하였다. NSAS(NIRS system data analysis software)프로그램을 사용하여 1,901nm에서 2,320nm까지 스펙트럼을 측정하고 흡광도자료 및 화학분석에 의한 자료를 컴퓨터에 입력시켜 미분변환 및 중회귀분석 등의 계산을 실시하였으며 검량식(calibration equation)작성은 표준회귀(standard regression)방식으로 작성하였다¹³⁾. 각 성분에 대해 출수 후 일수(25, 30, 35일)별로 검량식을 작성하여 그 실용가능성 여부(실행정확성)를 검정하였는데 34계통중 27계통을 검량식작성에, 나머지 7계통은 실행정확성 검정에 사용하였다.

結果 및 考察

1. 출수후 25일의 종실성분

출수후 25일에 채취한 시료중 27계통의 화학적 분석에 의한 결과와 NIRS 이용분석치를 이용하여 각 성분별로 두 분석방법의 결과간 중상관계수(R^2) 및 표준오차(SEC)면에서 정확도가 높은 4개의 후보검량식을 얻었다. 각각의 후보검량식을 미지의 시료 7계통에 적용시켜 표준오차(SEP)가 가장 낮은 검량식을 성분별로 각각 1개씩 선택하여 그 식의 도출과 실용성에 관련된 내용들을 정리하여 표 1에 나타내었다. 또한 이들 각각의 선택된 식에 7개의 시료를 적용시켜 실행정확성을 화학분석치와의 상관관계로 나타낸 결과는 그림 1과 같다. 표 1에서 보는 바와 같이 전분의 경우 2,163nm의 1개 파장으로 구성된 검량식이 추정치 표준오차가 1.50으로 가장 낮았으며 그림 1에서 보는 바와 같이 이 식에 의한 추정치와 화학분석치와의 상관계수도 0.83으로 높게 나타나 이를 이용한 근적외분광분석법이 가능할 것으로 판단되었다. β -glucan함량은 2,006nm의 1개 파장

Table 1. Standard regression analysis for lab analysis and NIR results from major covered barley grain components at 25 days after heading

Components	Calibration related			Application related	
	Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
Starch	2,163	0.762	2.350	2.440	1.500
β -glucan	2,006	0.772	0.261	0.253	0.231
Protein	1,947 / 2,087 / 2,078 / 2,103	0.558	0.904	1.300	0.872
Ash	2,112	0.346	0.240	0.353	0.198

R² : Coefficient of multiple determination
SDD : Standard deviation of difference

SEC : Standard error of calibration
SEP : Standard error of prediction

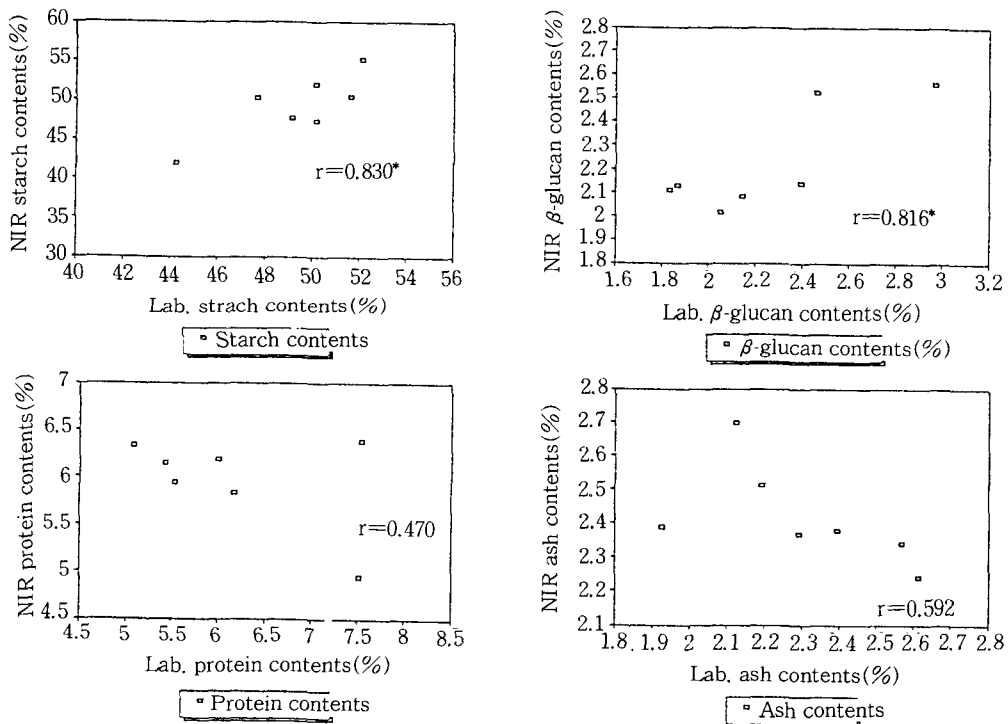


Fig. 1. Relationship between chemical component contents predicted by NIR equation and analyzed by laboratory method for 7 varieties at 25 days after heading.

으로 구성된 검량식에서 추정치 표준오차가 0.231로 나타났으며, 화학분석치와의 상관계수도 0.816을 나타내 유의성이 인정되었다. 출수후 25일 시료들의 β -glucan 성분에 의해 측정과장영역을 살펴본 결과 2,080nm와 2,100nm에서 분석이 이루어졌는데 Czuhajowska 등⁵⁾이 보고한 2,090~2,200nm 사이에서 전분 및 다당류분석이 이루어진다고 보고한 바와 일치하였다.

출수후 25일에 있어 단백질함량과 회분함량의 경우는 선택된 검량식에 의한 화학분석치와의 상관계수가 0.470 및 0.592를 나타내 유의성이 인정되지 않았다. Löffler¹⁰⁾ 등은 밀의 두 생육단계에서 근적외분광분석법에 의한 단백질의 분석이 가능하여 조기분석의 가능성을 시사하였는데 본 실험에서는 이와 다른 결과를 보였다. 이것은 출수후 25일경의 종실 단백질이 아미노산 구성 및 함

량면에서 근적외 스펙트럼으로 측정하기에는 안정되지 못하였기 때문에 유추되었다. 회분함량은 일부 작물에서 근적외분광분석법에 의한 측정이 가능한 것으로 알려져 있으나⁸⁾ 출수후 25일의 보리종실 회분함량은 측정이 불가능하였다. 이것은 검량식작성을 위해 공시된 계통들의 회분함량이 0.8% 정도로 좁은 변이폭을 가졌기 때문인 것으로 생각되었다.

2. 출수후 30일의 종실성분

출수후 30일의 시료들을 대상으로 분석을 실시하여 각 성분별 후보검량식중 가장 우수할 것으로 판단되는 검량식의 구성을 표 2와 그림 2에 나타내었다. 전분함량의 경우 2,053/2,082/2,235nm의 3파장으로 구성된 검량식에서 추정치 표준오차가 1.69로 가장 낮았다. 이 식에 의한 추정치와

Table 2. Standard regression analysis for lab analysis and NIR results from major covered barley grain components at 30 days after heading

Components	Calibration related			Application related	
	Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
Starch	2,053/2,082/2,235	0.888	1.770	1.910	1.690
β -glucan	2,064/2,110	0.850	0.392	0.520	0.233
Protein	2,139/2,167/2,006/1,931	0.933	0.486	1.020	0.997
Ash	2,251	0.852	0.180	0.464	0.198

R² : Coefficient of multiple determination
SDD : Standard deviation of difference

SEC : Standard error of calibration
SEP : Standard error of prediction

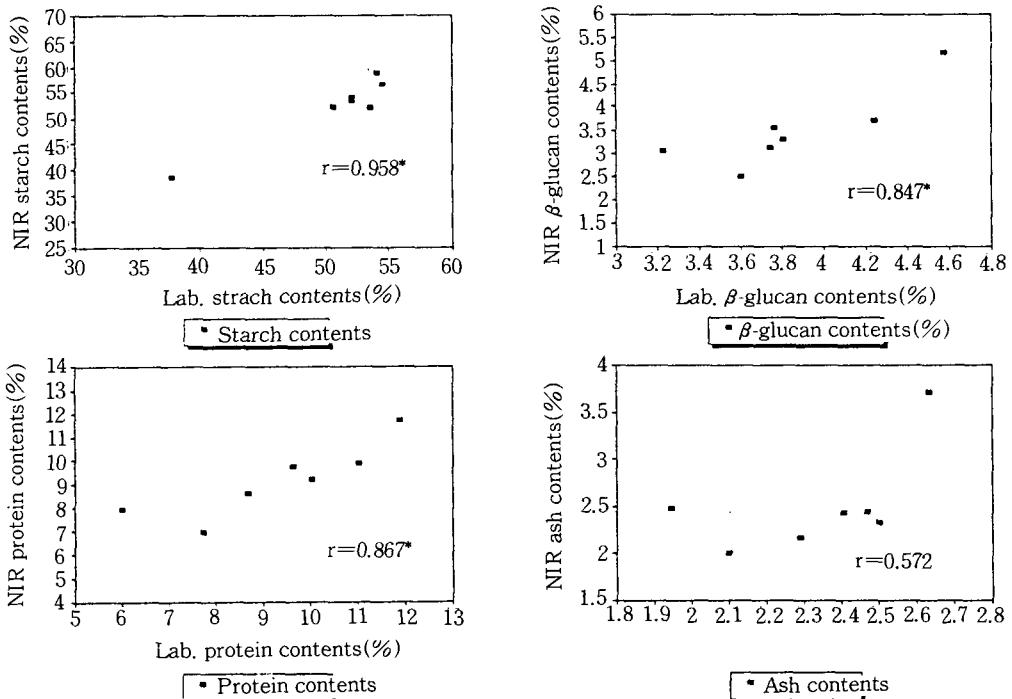


Fig. 2. Relationship between chemical component contents predicted by NIR equation and analyzed by laboratory method for 7 varieties at 30 days after heading.

화학분석치간의 상관계수가 0.958로 정의 유의한 상관성이 인정되어 근적외분광분석법의 적용이 가능한 것으로 나타났다. β -glucan 성분은 2,064/2,110nm의 2개 파장으로 구성된 검량식에서 추정치 표준오차가 0.233으로 가장 낮았다. 화학분석치와 유의적인 상관관계를 나타내어 근적외분광분석법으로 분석이 가능할 것으로 판단되었다. Czuhajowska 등⁶⁾은 성숙보리종자의 전분과 β -

glucan 성분의 분석에 근적외분광분석법의 이용이 가능하다고 보고하였는데 본 실험결과도 이와 일치하였다. 단백질함량은 2,139/2,167/2,006/1,931nm의 4개 파장으로 구성된 검량식에서 추정치 표준오차가 0.997, 이 식에 의한 추정치와 화학분석간의 상관계수가 0.867로 나타나 유의성이 인정되었다. Löffler 등¹⁰⁾은 밀의 두 생육단계에서 모두 실측치와 근적외분광분석치간에 유의

Table 3. Standard regression analysis for lab analysis and NIR results from major covered barley grain components at 35 days after heading

Components	Calibration related		Application related		
	Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
Starch	2,022 / 2,255	0.793	2.600	2.990	2.780
β -glucan	1,923 / 1,922 / 1,920	0.808	0.436	0.507	0.459
Protein	2,042 / 2,265 / 2,289	0.912	0.368	0.620	0.531
Ash	2,160 / 2,261 / 1,972 / 1,968	0.870	0.169	0.389	0.123

R² : Coefficient of multiple determination
SDD : Standard deviation of difference

SEC : Standard error of calibration
SEP : Standard error of prediction

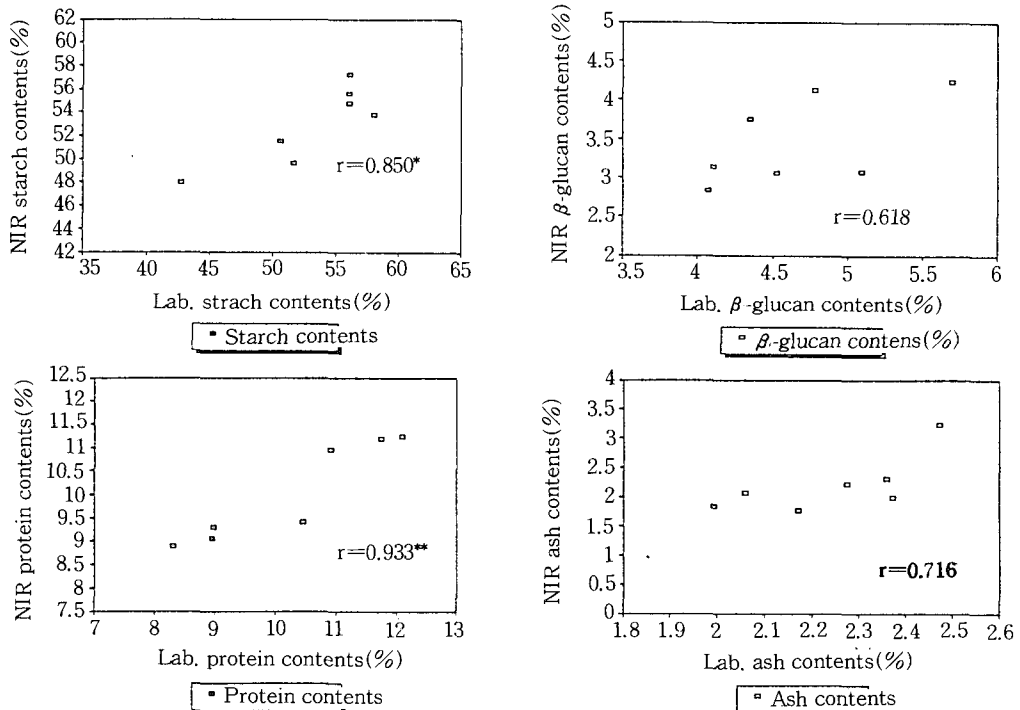


Fig. 3. Relationship between chemical component contents predicted by NIR equation and analyzed by laboratory method for 7 varieties at 35 days after heading.

적인 상관성이 인정되었다고 보고하였는데 출수후 30일의 재료를 분석한 본 실험의 결과도 이와 유사한 경향이였다. 회분함량은 출수후 25일과 마찬가지로 분석이 불가능하였는데 출수후 30일의 회분함량 역시 공시계통간 변이폭이 1% 정도로 좁아 적정 검량식이 작성되지 못하였고, 또 화학분석치와의 상관계수도 낮은 것으로 생각되었다.

3. 출수후 35일의 종실성분

출수후 35일에 대한 보리종실의 성분을 근적외분광분석법으로 분석하기 위하여 검량식작성 관련내용을 종합한 결과는 표 3과 그림 3에 나타내었다. 전분함량의 경우 2,022/2,255nm의 2개 파장으로 구성된 검량식의 추정치 표준오차가 2.78, 이 식에 의한 추정치와 화학분석치간에 유의적인 상관관계가 인정되어 근적외분광분석법의 이용이 가능할 것으로 판단되었다. 단백질함량은 후보검량식중 2,042/2,265/2,289nm의 3개 파장으로 구성된 검량식에서 추정치 표준오차가 0.531로 가장 낮게 나타났다. Micro-Kjeldahl법으로 분석한 단백질함량과 이 식에 의한 근적외분석치간의 유의적인 상관성이 인정되어 근적외분광분석법의 적용이 충분히 가능한 것으로 나타났다. 출수후 35일에 있어 β -glucan과 회분함량은 그림 3에서 보는 바와 같이 선택된 검량식에 의한 추정치와 화학분석치간에 유의성이 인정되지 않았다. β -glucan성분의 측정파장영역을 살펴본 결과 2,090nm에서 흡광도 peak가 나타났다. Czuhajowska 등⁶⁾에 의하면 2,090nm는 수분측정과 전분이 분석되는 파장으로 알려져 있는데 이러한 요인으로 실측치와의 유의적인 상관성이 인정되지 않았을 것으로 추정된다. 그러나 본 실험에서 사용된 근적외분광광도계의 파장영역보다 넓은 기기를 사용한다면 1 및 2, 3차배음대에서 충분히 측정이 가능할 것으로 생각되었다. 회분함량은 출수후 25일과 30일에 비해 공시계통간 변이폭이 다소 넓어져 추정치 표준오차 및 상관계수가 향상되었으나 유의성은 인정되지 않았다.

摘 要

많은 보리계통의 주요 종실성분을 등속초기단계에 신속하고 정확하게 분석하기 위한 근적외분광분석법의 이용가능성을 검토하기 위하여 겔보리 34계통을 재료로 출수후 25, 30, 35일에 각각 수확하였다. 이들 시료들을 대상으로 양질의 보리 품종을 선발하는데 있어 품질면에 크게 영향을 미치는 전분, β -glucan, 단백질 및 회분성분을 일반 분석법에 의해 분석한 뒤, 이 성적과 근적외분광광도계(NIRS)를 이용한 검량식(calibration equation)작성으로, 간접측정방법의 가능성을 검토하였다. 각 등속시기별 성분별로 우수 검량식을 택하고 이를 이용하여 실분석치와의 상관정도를 검토함으로써 실행정확성을 판단하였는데 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 출수후 25일의 보리종실성분 중 전분은 2,163nm의 파장으로 구성된 검량식에서, β -glucan은 2,006nm 파장의 검량식에서 측정정확도가 높아 NIRS의 이용가능성이 있었으나 단백질 및 회분은 불가능한 것으로 나타났다.
2. 출수후 30일의 보리종실성분 중 전분은 2,053/2,082/2,235nm, β -glucan은 2,064/2,110nm, 단백질은 2,139/2,167/2,006/1,931nm로 구성된 검량식에서 각각 측정정확도가 높았으나 회분은 실분석치와의 유의성이 인정되지 않았다.
3. 출수후 35일 수확 종실의 경우 NIRS에 의한 전분과 단백질의 측정정확도가 높은 것으로 나타났다. 그러나 β -glucan 및 회분은 유의성이 인정되지 않았다.
4. 출수후 35일 종실의 β -glucan은 흡광도 peak가 2,090nm에서 이루어져 분석이 되지 않았으며, 또한 회분은 세 시기 모두 계통간 성분변이폭이 좁아 NIRS에 의한 분석이 어려울 것으로 판단되었다.

引用文獻

1. AOAC. 1984. Official method of Analysis. 14th Ed. Arlington, Virginia, USA.
2. Ben-Gera, L. and K. H. Norris. 1968. Di-

- rect spectrophotometric determination of fat and moisture in meat product. *J. Food Sci.* 33:64.
3. 조래광, 홍진환, 김현구, 박무현. 1990. 근적외분광분석법에 의한 건조고추의 품질측정. *한국식품과학회지* 22:676-680.
 4. _____, 손미령, 안재진. 1991. 근적외분광분석법에 의한 분말고추 중의 씨앗 및 꼭지혼입량의 신속한 측정. *한국식품과학회지* 33:447-451.
 5. Czuhajowska, Z., J. Szczodark and Y. Pomeranz. 1992. Characterization and estimation of barley polysaccharides by near infrared spectroscopy 1. Barley, Starchs and β -glucan. *Cereal Chemistry* 69(4):407-412.
 6. _____, _____ and _____. 1992. Characterization and estimation of barley polysaccharides by near infrared spectroscopy 2. Estimation of total β -glucan. *Cereal Chemistry* 69(4):413-418.
 7. 黃興九, 趙來光, 孫再根, 李壽寬. 1994. 近赤外分光分析法에 의한 米質관련 성분측정. *韓作誌* 39:7-14.
 8. 姜光熙, 鄭明根, 金炳鑄. 1994. 芍藥根에서 NIR을 이용한 Paeoniflorin 및 一般成分 檢定. *韓育誌 學術研究發表要旨 別冊1號*:88-89.
 9. 金炳鑄, 徐得龍, 徐亨洙. 1994. 近赤外分光分析法과 Micro-kjeldahl法間의 麥酒보리 種實의 蛋白質含量 分析比較. *韓作誌* 39(5):489-494.
 10. Löffler, C. M. and R. H. Busch. 1982. Determination of protein percentage of wheat vegetation at two growth stages by near infrared reflectance. *Crop Sci.* 22:167-168.
 11. McCleary, B. V. and M. Glennie-Holmes. 1985. Enzymic equation of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and malt. *J. Inst. of Brew.* 91:285-295.
 12. Norris, K. H. 1964. Reports on the design and development of a new moisture meter. *Agricult. Eng.* 45:370
 13. Windham, W. R., D. R. Mertens and F. E. Barton. 1989. Protocol for NIRS calibration: Sample selection and equation development and validation. P. 96-103. *In* G. C. Marten et al.(ed). *Near infrared reflectance spectroscopy(NIRS): Analysis of forage quality. Agric. Handbook.* P. 643. USDA-ARS, Washington DC.