

겉보리 種實 成分 變異가 近赤外 分光分析值에 미치는 影響

金炳鑄* · 朴義浩** · 鄭贊植*

Effects of Chemical Contents Variation in Covered Barley Seed on Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Byung Joo Kim*, Eui Ho Park** and Chan Sik Jung*

ABSTRACT : Near Infrared Reflectance Spectroscopy(NIRS) is accepted as today's most versatile method for rapid chemical analysis. The technique offers rapid multicomponent analysis. This study was conducted to improve the efficiency of quality analysis in covered barley grain, and to search for the effects of chemical components variation in covered barley grain on NIRS. Among the three groups with different range in the contents, each equation for starch contents increased standard error of prediction(SEP) and increased correlation coefficient from 0.872 to 0.883. According as β -glucan and protein contents decreased SEP and increased correlation coefficient by expanded chemical components variation. Effective equation for ash contents analysis was obtained from group 3. Among the covered barley chemical components, starch and ash contents were required to conduct further studies in term of accuracy and variation of contents. It was concluded that NIRS method would be applicable for the rapid determination of β -glucan and protein contents in covered barley grains.

Key words : Near Infrared Reflectance Spectroscopy, Chemical component variation, Equation, Covered barley

보리 양질 품종 육성은 초기시대부터 이화학적인 성분을 분석하여 목적하는 개체를 선발하는 것이 효율적이겠지만, 이에 많은 노력과 비용이 들기 때문에 현실적으로는 힘든 상황이다. 그러나 최근 신속하고 정확한 분석이 가능한 기기들이 보급되고 있는데, 특히 近赤外線 分光分析法(NIRS :Near Infrared Reflectance Spectroscopy)에 대한 연구는 1950년대 근대적인 走査(scanning) 방법을 사용한 UV, VIS, NIR장비의 출현전까지는 근적외선을 분광분석법으로 적용한 실제분석은 미미한 실정이었다. 하지만 1960년대 들어서

면서 NIR spectrophotometer를 이용한 농산물 의 水分, 脂肪 등의 定量分析에 실질적으로 적용 되었으며³⁾ 1970년대에는 미국과 캐나다에서 소맥 의 품질분석에 공정분석법으로 채택되었다.

우리나라에서도 최근 近赤外線 分光分析法을 이용하여 벼의 amylose, 단백질 및 무기성분을 측정하여 근적외선 분광분석법의 이용성을 보고 하였고^{5,6)} 金 등⁹⁾은 맥주보리 종실의 단백질함량을 근적외선 분광분석법으로 측정하여 Micro-Kjeldahl법과 비교한 바 있다.

한편 효율적인 近赤外線 分光光度計의 이용방

* 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)

〈96. 2. 12 接受〉

법에 대한 연구가 근래에 활발히 수행되고 있는데, Abrams 등¹¹⁾은 시료를 임의로 선별하여 분석하였을 때, 중상관계수(R^2)가 높고 표준오차(SEC: standard error of calibration)가 낮아서 유리하다고 하였다. Windham 등¹⁴⁾과 Shenk 등¹³⁾도 적은 시료를 가진 집단을 근적외선 분광분석법으로 분석할 경우, 효율적인 검량식 작성을 위해서는 넓은 변이를 가진 집단보다도 변이폭이 좁은 집단으로 분석하는 것이 효율적이라고 보고하였으며, Morgan 등¹²⁾은 보리, 트리티케일 및 밀에 대한 품질분석을 근적외선 분광분석법으로 실시하여 그 가능성을 제시하고 양질계통을 선별할 때, 일반적인 化學分析 방법보다 근적외선 분광분석법이 정확성 및 효율성을 증진시킬 수 있어 成分育種에 유리하게 이용할 수 있다고 보고하였다.

본 실험은 근적외선 분광분석법의 효율성 증진 및 근적외선 분광광도계의 이용 가능성을 검토할 목적으로 근적외선 분광광도계를 이용해 분석할 경우, 시료의 성분함량 변이폭에 따라 檢量式의 중상관계수(R^2) 및 표준오차(SEC), 그리고 추정치 표준오차(SEP)의 변화 양상을 살펴봄으로써 효율적인 근적외선 분광광도계를 이용하기 위한 기초자료를 얻고자 실시하였다.

材料 및 方法

본 연구는 1993년 농촌진흥청 영남농업시험장에서 결보리 생산력 검정예비시험에 공시한 34계통을 이용하여 출수 후 25일, 30일, 35일, 40일 그리고 45일의 다섯 시기에 걸쳐 이삭을 채취하고 수분함량을 14%이하로 건조시킨 후 분쇄하여 일반 화학분석용 시료 및 근적외선 분광분석법에 적용하기 위한 시료로 사용하였다. 이삭을 다섯 시기에 걸쳐 채취한 것은 저함량을 가진 것부터 고함량을 가진 시료를 인위적으로 얻고자 실시하였다.

결보리 전분은 Somogy법²⁾, β -glucan은 McCleary법¹¹⁾, 단백질 및 회분은 각각 Micro-Kjeldahl법⁹⁾과 회화법²⁾에 준하여 실시하였다. 근적외선 분광분석은 Standard Regression 방식을 이용하여 검량식을 작성하였다. 본 실험에서는

170개(5시기×34계통)의 시료를 등속시기별로 구분하지 않고 종합하여, 저함량에서 고함량으로 배열하고 각 성분마다 저함량을 가진 시료로부터 3개의 group으로 분류하여 분석을 실시하였다. 첫번째 group은 가장 낮은 함량을 지닌 시료로부터 70개의 시료를 취하여 그 중 50개는 중회귀분석을 실시하여 각 성분측정에 필요한 검량식별로 중상관계수(R^2) 및 표준오차(SEC)를 구하였으며, 나머지 20개의 시료를 후보검량식과 비교 분석하여 측정 정확성을 검정하였다. 두번째 group은 각 성분의 변이폭을 확대하기 위하여 가장 낮은 함량을 지닌 시료로부터 120번째로 높은 함량을 지닌 시료를 순서배열하고, 이 중에서 일반 화학분석시 비교적 정확한 50개를 취하여 검량식을 작성하고, 일반 화학분석시 반복간 가장 낮은 오차를 보인 20개를 선별하여 작성된 후보검량식과의 정확성을 검정하였다. 세번째 group은 170개의 시료를 종합하여 위와 동일한 방법으로 50개 및 20개의 시료를 택하여 분석을 실시하였다.

結果 및 考察

각 성분에 대해 근적외선 분광분석을 실시한 결과 전분함량은 34.32%에서 50.15%까지의 70개 시료를 첫번째 group으로, 두번째 group은 34.32%에서 52.62%까지의 120개를, 그리고 34.32%에서 가장 높은 함량을 보인 58.55%까지의 170개 시료를 세번째 group으로 분류하고, 각 group별로 검량식 작성용으로 50개 및 측정 정확성을 검정하기 위해 20개 시료를 이용하였다.

첫번째 group에 대하여 근적외선 분광분석법을 실시한 결과, 표 1에서 보는 바와 같이 2,013nm의 검량식에서 微分變換을 실시하지 않고 Log 1/R상태로 분석한 검량식이 추정치 표준오차가 1.41을 나타내 측정 정확성이 높게 나타났으며, 그림 1에서 보는 바와 같이 상관계수도 0.872로 유의성이 인정되었다. 두번째 group은 2,013/1,981/2,295nm의 세개 파장으로 구성된 검량식이 추정치 표준오차가 1.66을 나타내었으며 상관계수는 0.880을 나타내었다. 세번째 gro-

Table 1. Standard regression analysis estimated by lab analysis and NIR results for the starch contents of three barley groups

Groups*	Math	Calibration related			Application related	
		Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
G1	N	2013	0.683	2.670	1.420	1.410
G2	N	2013 /1981 /2295	0.792	2.150	1.660	1.660
G3	N	2013 /2011 /2010	0.895	1.890	2.210	2.180

* Starch contents range : Group 1(34.32~50.15%), Group 2(34.32~52.62%) and Group 3(34.32~58.55%)

Math : The difference number (N=Log1 /R)

R² : Coefficient of multiple determination SEC : Standard error of calibration

SDD : Standard deviation of difference SEP : Standard error of prediction

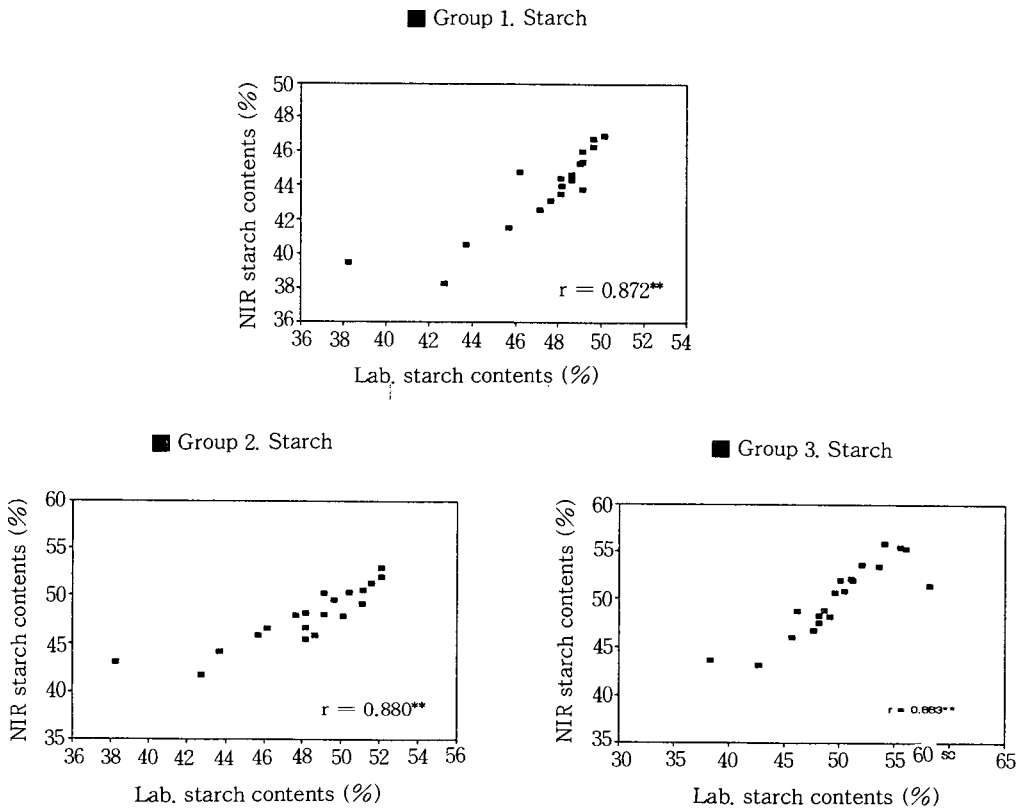


Fig. 1. Relationship between predicted starch contents acquired by NIR and known starch contents of 20 lines in three groups.

up 역시 2,013/2,011/2,010nm의 세개 파장으로 구성된 검량식이 추정치 표준오차가 2.18로 가장 낮아 측정 정확도가 가장 높게 나타났으며 상관계수도 0.883으로 유의성이 인정되었다. Czuh-

jowska 등⁴⁾은 보리 전분함량을 近赤外線 分光分析法으로 측정할 수 있다고 보고하였으며, 黃 등⁵⁾은 근적외선 분광광도계를 이용하여 벼의 amylose함량을 측정된 결과 추정치 표준오차가 0.882

를 나타내 유의성이 인정된다고 보고한 바 있다. 또한 근적외선 분광분석법의 이용 측면에서 Shenk 등¹³⁾은 상관계수에 영향을 미치는 일정범위 이상을 가진 시료를 제거하여 분석함으로써, 근적외선 분광분석법의 효율성을 향상시킬 수 있다고

보고하였다. 전분함량은 각 group별로 변이폭이 증가할수록 추정치 표준오차는 1.41에서 2.18로 다소 증가하였으나, 상관계수가 0.872에서 0.883으로 증가하여 미지의 시료에 대한 측정 정확성은 다소 증가하는 경향을 보였다.

Table 2. Standard regression analysis estimated by lab analysis and NIR results for the β -glucan contents of three barley groups

Groups*	Math	Calibration related			Application related	
		Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
G1	2	2233 / 2078 / 2095 / 1943	0.858	0.391	0.464	0.451
G2	2	2026 / 2235 / 2234 / 2061	0.919	0.350	0.321	0.293
G3	N	2070 / 2025 / 2072 / 2040	0.924	0.431	0.383	0.258

* β -glucan contents range : Group 1(1.447~3.945%), Group 2(1.447~4.580%) and Group 3(1.447~6.505%)
 Math : The difference number (N=Log1 / R, 2=Second der.)
 R² : Coefficient of multiple determination SEC : Standard error of calibration
 SDD : Standard deviation of difference SEP : Standard error of prediction

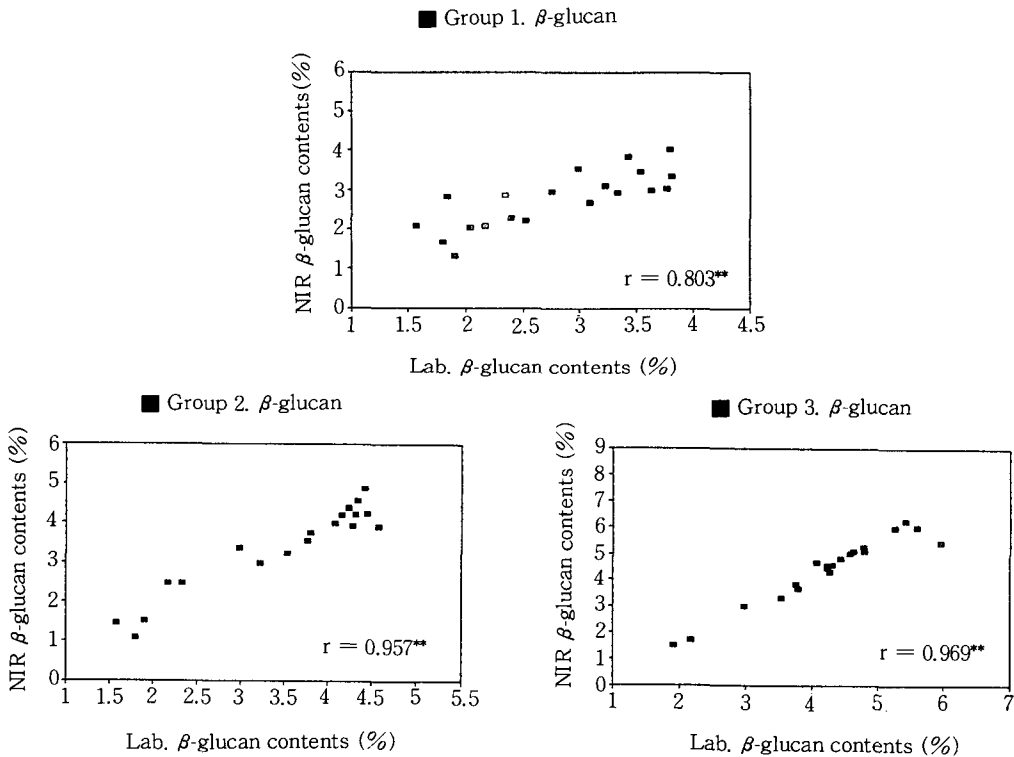


Fig. 2. Relationship between predicted β -glucan contents acquired by NIR and known β -glucan contents of 20 lines in three groups.

β -glucan함량은 1.45에서 6.51%까지의 분포를 보였는데 첫번째 group은 1.45~3.95%, 두번째 group은 1.45~4.58%, 세번째 group은 1.45~6.51%까지를 포함하는 세개의 group으로 구분하였다. 첫번째와 두번째 group은 2차 微分하여 검

량식을 작성하였고, 세번째 group은 Log 1/R로 계산하여 검량식을 작성하였다. 첫번째 group은 표 2에서 보는 바와 같이 2,233/2,078/2,095/1,943nm의 4개 파장으로 구성된 검량식이 추정치 표준오차가 0.451로 가장 낮아 측정 정확도가 높

Table 3. Standard regression analysis estimated by lab analysis and NIR results for the protein contents of three barley groups

Groups*	Math	Calibration related			Application related	
		Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
G1	N	1981 / 2294 / 1901 / 2249	0.819	1.090	1.440	1.190
G2	2	2239 / 2019 / 2156	0.909	0.866	0.883	0.856
G3	2	2049 / 2228 / 1961	0.940	0.855	1.050	1.000

* Protein contents range : Group 1(3.78~9.91%), Group 2(3.78~11.23%) and Group 3(3.78~15.04%)

Math : The difference number(N=Log1 /R, 2=Second der.)

R² : Coefficient of multiple determination SEC : Standard error of calibration

SDD : Standard deviation of difference SEP : Standard error of prediction

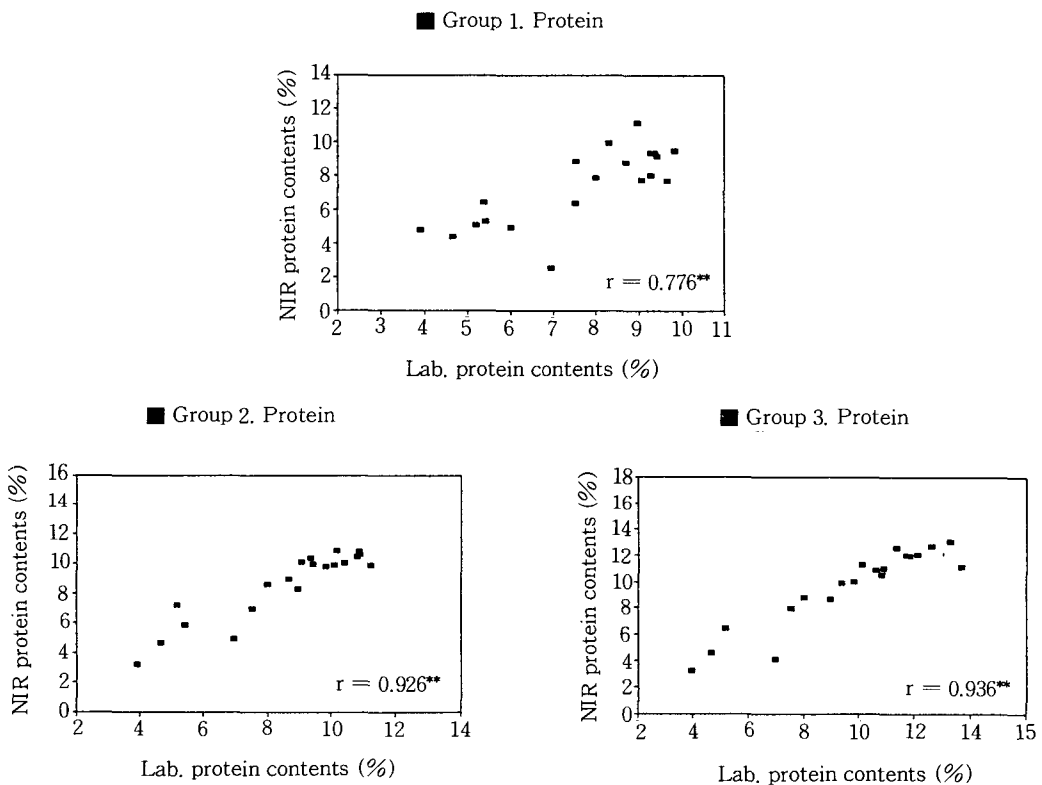


Fig. 3. Relationship between predicted protein contents acquired by NIR and known protein contents of 20 lines in three groups.

게 나타났으며, 미지의 시료 20개를 적용시켜 본 결과 상관계수가 0.803으로 나타나 유의성이 인정되었다(그림 2). 두번째 group에서도 2,026/2,235/2,234/2,061nm의 검량식에서 추정치 표준오차가 0.293, 상관계수가 0.957로 나타나 첫

번째 group에 비해 추정치 표준오차가 낮아지고 상관계수가 상당히 높아지는 결과를 얻을 수 있었다. 세번째 group 역시 4개의 파장으로 구성된 검량식이 표 2 및 그림 2에서 보는 바와 같이 추정치 표준오차가 0.258, 상관계수가 0.969로 나타나, β

Table 4. Standard regression analysis estimated by lab analysis and NIR results for the ash contents of three barley groups

Groups*	Math	Calibration related			Application related	
		Wavelength(nm)	R ²	SEC	SDD	SEP
G1	N	2013/1981/2017/2029	0.564	0.113	0.130	0.118
G2	2	2160/2288/1945	0.732	0.140	0.170	0.161
G3	2	2246/2019/2245/2021	0.888	0.152	0.210	0.207

* Ash contents range : Group 1(1.502~2.280%), Group 2(1.502~2.492%) and Group 3(1.502~3.145%)

Math : The difference number (N=Log1 /R, 2=Second der.)

R² : Coefficient of multiple determination

SEC : Standard error of calibration

SDD : Standard deviation of difference

SEP : Standard error of prediction

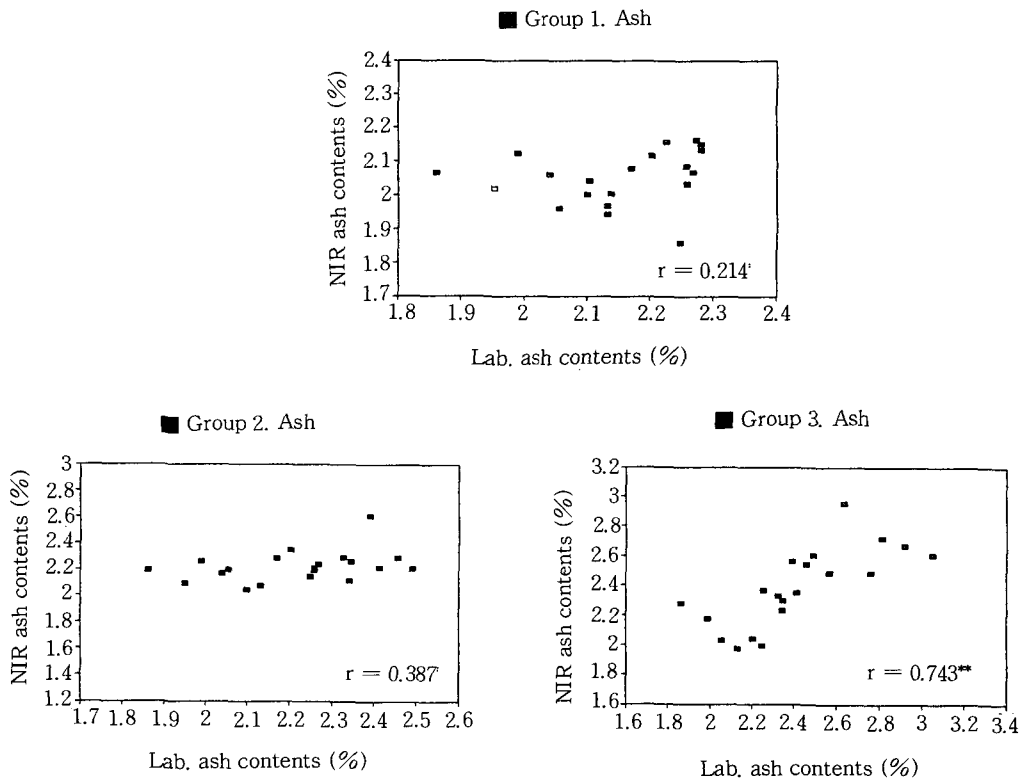


Fig. 4. Relationship between predicted ash contents acquired by NIR and known ash contents of 20 lines in three groups.

-glucan함량은 변이폭이 증대될수록 추정치 표준오차가 낮아지고 상관계수는 향상되는 결과를 얻을 수 있었다. 따라서 β -glucan함량 역시 어느 정도의 변이폭을 가졌을때 좀 더 정확한 검량식을 유도할 수 있을 것으로 생각된다.

단백질은 표 3과 그림 3에서 보는 바와 같이 첫 번째 group보다 함량변이가 넓은 세번째 group 쪽으로 갈수록 추정치 표준오차가 감소하는 경향을 보였으며 상관계수는 증가하는 경향을 나타내 β -glucan과 동일한 경향을 나타내었다. 단백질은 근적외선 분광분석법을 이용하여 분석을 실시할 경우 어느 성분보다 그 이용 가능성이 높다고 생각되며, 이미 1970년대부터 미국에서는 소맥 단백질 측정시 근적외선 분광분석법을 이용한 분석방법이 공정분석법으로 채택되어 사용되고 있다. 金 등⁹⁾은 맥주보리에서 단백질함량을 근적외선 분광광도계를 이용한 분석을 실시하여 그 가능성을 보고한 바 있으며, 맥주보리의 다수의 작물에서 근적외선 분광광도계를 이용하여 단백질분석에 대한 가능성을 제시한 바 있다.^{7,8,10)}

일반적으로 무기성분은 근적외선 영역에서 파장이 흡수되지 않기 때문에 근적외선 분광분석법으로는 분석이 불가능한 것으로 여겨져 왔으나, 유기성분과 결합되어 있는 무기성분의 일부는 측정이 가능하다고 보고되고 있다.^{5,6)} 겉보리 종실성분 중 회분은 표 4 및 그림 4에서 보는 바와 같이 첫번째 group과 두번째 group에서는 측정이 불가능하였으나, 1.502에서 3.145%까지의 변이를 보인 세번째 group에서는 추정치 표준오차가 0.207, 상관계수가 0.743으로 유의성이 인정되었다. 이것은 첫번째와 두번째 group에서는 각 시료간 변이가 극히 좁았기 때문인 것으로 생각되며, 근적외선 분광광도계를 이용한 회분함량의 측정은 어느 정도의 변이폭이 있어야만 가능할 것으로 생각되었다. 또한 겉보리의 회분함량 역시 어느 정도의 변이폭이 주어진다면 타작물과 마찬가지로 분석이 가능할 것으로 생각되었다. 그리고 유의성을 보인 세번째 group에서 회분의 흡광도 peak를 살펴 본 결과 1,940nm와 2,160nm에서 정량분석이 이루어졌는데 이 波長帶域에서는 水分과 Imide기($\text{RCO-NH-R} = 2 \times \text{amide I} + \text{amide II}$)를 가진 물질이 흡수되어 나타나는 파장이므로, 이러한 사실을 추론해 볼 때 회분은 수분과 결합되어 근적외선 분광분석법으로 정량분석이 이루어지는 것으로 생각되었다.

摘要

신속하고 정확한 근적외선 분광분석법으로 품질분석의 효율성을 증대하기 위하여 화학성분의 변이분포가 검량식 작성과정에 미치는 영향과 측정 정확성에 미치는 관계를 구명하여, 근적외선 분광광도계의 이용 효율성 제고를 위한 기초자료를 얻고자 실시한 실험의 결과는 다음과 같다.

1. 보리 전분에 대한 추정치 표준오차는 변이폭이 증대될수록 증가하는 경향을 보였으며, 상관계수도 변이폭이 증대될수록 0.872에서 0.883으로 다소 높아지는 경향을 나타내었다.
2. β -glucan과 단백질은 변이폭이 증대될수록 추정치 표준오차는 낮아지고 상관계수는 높아지는 결과를 보여, 근적외선 분광분석법의 이용성 향상을 위하여서는 이들 성분의 함량변이 확대가 필요할 것으로 생각되었다.
3. 회분은 첫번째와 두번째 group에서는 유의성이 인정되지 않았으나, 세번째 group에서는 상관계수가 0.743으로 유의성이 인정되어 회분함량의 경우에는 어느 정도의 변이폭이 있어야만 근적외선 분광분석법이 가능할 것으로 생각되었다.
4. 겉보리 성분 중 전분과 회분은 재검토가 이루어져야 할 것으로 생각되었으며, β -glucan과 단백질은 근적외선 분광분석법의 적용이 가능하여 분석의 효율성이 증대될 것으로 생각되었다.

引用文獻

1. Abrams, S. M., J. S. Shenk, M. O. Westerhaus and F. E. Barton II. 1987. Determination of forage quality by near

- infrared reflectance spectroscopy : Efficacy of broad-based calibration equation. *J. Dairy Sci.* 70 : 806-813
2. AOAC. 1984. Official method of Analysis. 14th Ed. Arlington, Virginia, USA.
 3. Ben-Gera, I. and K. H. Norris. 1968. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat product. *J. Food Sci.* 33 : 64
 4. Czuhajowska, Z., J. Szczodark and Pomeranz. 1992. Characterization and estimation of barley polysaccharides by near infrared spectroscopy. 1. Barleys, starches, and β -glucans. *Cereal Chemistry* 69(4) : 407-412
 5. 黃興九. 1992. 米質의 環境變異와 쌀의 理化學的特性에 따른 米 品種群 分類. 慶北大學校 博士 學位論文
 6. _____, 趙來光, 孫再根, 李壽寬. 1994. 近赤外分光分析法에 의한 米質關聯 成分測定. 韓作誌 39(1) : 7-14
 7. Hymowitz, T., J. W. Dudley, F. I. Collins and C. M. Brown. 1974. Estimation of protein and oil concentration in corn, soybean, and seed by near infrared light reflectance. *Crop Sci.* 14 : 713-715
 8. 姜光熙, 鄭名根, 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 맥주보리 種實의 蛋白質含量 分析比較. 韓作誌 39(5) : 489-494
 10. Klepper, L. and K. Wilhelmi. 1980. Comparison between Kjeldahl and near infrared protein analysis on vegetative and head samples of wheat. *Crop Sci.* 20 : 923-925
 11. McCleary, B. V. and M. Glennie-Holmes. 1985. Enzyme equation of (1-3)(1-4)- β -D-glucan in barley and malt. *J. Inst. of Brew.* 91 : 285-295
 12. Morgan, A. G. and D. B. Smith. 1981. An evaluation of near infrared reflectance analysis in some plant breeding programs. *J. Agric. Sci.* 97 : 107-118
 13. Shenk, J. S. and M. O. Westerhaus. 1991. Population Definition, Sample Selection, and Calibration Procedures for Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Crop Sci.* 31 : 469-474
 14. Windham, W. R., N. S. Hill and J. A. Stuedemann. 1991. Ash in forage, esophageal, and fecal samples analyzed using near-reflectance. *Crop Sci.* 31 : 1345-1349