

근적외 분광분석법을 이용한 강낭콩 종실단백질 및 지방의 비파괴 분석

이한범*[†] · 최병렬* · 강창성* · 김영호* · 최영진*

*경기도 농업기술원

Determination of Seed Protein and Oil Concentration in Kidney Bean by Near Infrared Spectroscopic Analysis

Han Bum Lee*[†], Byoung Ryoul Choi*, Chang Sung Kang*, Young Ho Kim* and Young Jin Choi*

*Kyonggi-do Agricultural Research and Extension Services, Hwasung 445-972, Korea

ABSTRACT: Near infrared spectroscopy (NIRS) is a rapid and accurate analytical method for determining the composition of agricultural products and feeds. An important merit of the NIRS analytical system is consistent predictions across instruments. However, proper calibration is the most important factor for a NIRS analytical system. Forty samples were obtained from Kyonggi-do Agricultural Research and Extension Services, and used to develop calibrations for crude protein content and crude oil content. Calibrations equations were developed using multiple linear regression (MLR). Accuracy and precision of NIRS predictions were adequate for quality measurement for the two constituents in kidney bean seed. In calibration sample sets (N=30), multiple correlation coefficient between NIR and lab measurements is 0.90 for seed, 0.97 for powder in seed protein concentration and 0.40 for seed and 0.92 for powder in seed oil concentration, respectively. It is concluded that NIRS method is suitable for the determination of seed composition in whole kidney bean.

Keywords : NIRS, kidney bean, protein, oil, calibration

강낭콩(菜豆, Kidney bean: *Phaseolus vulgaris* L.)은 콩과에 속하는 1년생 초본으로 단백질과 무기질, 비타민 등이 풍부하고 주로 밥밑콩, 간식용, 떡소용, 안주용 등 다양한 용도로 사용되어 그 수요가 날로 증가되고 있다. 특히 풋강낭콩은 소비자들의 수요가 늘어나 가격도 높게 형성되어 재배농가와 재배면적이 늘어나는 추세이며 2000년도 경기지역에서는 207 ha 재배되었다(이 등, 2000). 강낭콩은 품종이 많고 종피색도 다양하며 100립중은 20~60 g 내외이며 단백질 함량도 품종간에 차이가 큰 데 일반적으로 종실이 크면 단백질 함량이 적으며 백색종이 적색종보다 소화율이 높다고 하였다(박, 1986; 권, 1991). 종실의 수분함량에 따라서도 성분이 크게

변화되는데 종실수분이 15%이상에서는 환원당이 크게 증가하고 비환원당과 지방의 옥소기는 크게 감소하며 pH, 지방, 비단백태 질소는 다소 적게 변화한다고 하였다(Ramstad & Geddes, 1942). 따라서 풋강낭콩의 품질은 수분, 종실크기, 종피색 등에 의하여 복합적으로 작용하므로 풋강낭콩의 합리적 품질관리를 위한 신속하고 정확한 분석방법의 개발이 필요하다. 최근에는 종실을 손상시키지 않고 내부성분을 신속 정확하게 측정 할 수 있는 비파괴 분석방법인 근적외분광분석법(Near infrared spectroscopy: NIRS)이 시도되고 있다(조와 김, 1995; Clarke *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1991). 비파괴 분석은 시료의 추출, 여과, 회석, 시약과의 반응, 가열 등의 조작이 필요하지 않으며, 측정된 시료는 무손상 상태로 회수가 가능하다. 또한 동일시료의 저장 및 가공 중의 변화상태를 관찰할 수 있고 시간이 절약되며 화학약품을 사용하지 않기때문에 환경오염을 방지할 수 있는 장점이 있다. 이 방법은 파장 범위가 700~2,500 nm의 근적외선 영역에서의 스펙트럼은 유기분자의 광에너지 흡수에 의해 얻어지는데 이들 흡수대에서는 O-H, C-H, N-H, C=O 등의 관능기는 화학결합이 다양하게 나타나며 이를 응용함으로써 식품중의 수분, 단백질, 전분, 지방 등 복수의 품질성분이 동시에 신속하게 측정되는 것이다. 이러한 특징 때문에 생체시료 뿐 아니라 곡물 시료의 bulk상태도 분석이 가능하고, 분석의 정밀도를 높이기 위하여 시료 채취과정 부터 컴퓨터를 이용하여 검정치를 통계분석 할 수 있는 비파괴 분석으로 근적외분광분석법이 이용되고 있다.

일본에서는 쌀의 식미가 좋은 품종을 선발, 육성하기 위한 NIRS 분석용 소프트웨어가 개발되어 응용되고 있으며, 콩 단백질 7S, 11S 글로부린 성분에 관한 분석 및 아미노산 조성에 관한 NIRS 응용연구도 발표되었다(조 등, 1990, 1991; Cho *et al.*, 1987; Abrams *et al.*, 1987; Clarke *et al.*, 1992; 황 등, 1994; 김 등, 1995; 손 등, 1996).

본 연구는 근적외선 분광광도계를 이용하여 강낭콩의 품질

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-229-5782 (E-mail) lhb64@kg21.net <Received May 17, 2001>

에 관여하는 성분 등을 신속하고 간편하게 분석할 수 있는 방법을 확립하고자 강낭콩의 주요성분인 단백질과 지방함량을 외부 변형없이 강낭콩 종실 자체로 분석하여 NIRS 이용가능성을 검토하고자 수행하였다.

이용하였고 10계통은 검량식 확인(validation sets) 즉 일반분석치와 검량식에서 얻은 분석치를 표준오차, 상관계수 등을 비교하여 가장 정확한 검량식을 판단하였다.

結果 및 考察

材料 및 方法

일반성분분석

경기도 농업기술원에서 강낭콩 유전자원 250계통중 40계통을 선발하여 강낭콩의 일반성분을 분석하였다. 성분분석을 위한 시료는 건조기(65°C)에서 8시간 건조한 다음 100 mesh 이하의 분말로 마쇄하여 분석에 사용하였으며 각 계통별로 3회 분할하여 반복으로 처리하고 조단백, 조지방의 2개 성분을 분석하였다. 조단백은 micro-Kjeldahl법으로 질소함량을 측정후 질소계수 6.25를 곱하여 정량하였고, 조지방은 ethyl ether를 사용하여 soxhlet 추출기로 추출하여 함량을 조사하였다.

근적외분광분석

강낭콩 종실을 bulk상태로 65°C 건조기에서 8시간 건조한 다음 근적외분광 분석기(NIRS-6500 Systems, Foss nirsystems, USA)를 사용하여 조단백 및 조지방 함량을 정량하였다. 방법은 NIRS에 부착된 sample transport module에 강낭콩 종실을 bulk상태로 장착한 뒤 reflectance로 spectrum을 구하고, 얻어진 spectrum을 사용하여 실험치와 NIR 데이터의 통계적인 모집단 분포의 해석과 상관관계에 의한 통계분석은 Infracsoft International Software WINISI(Infracsoft international, USA)로 사용하였다. 40계통중 30계통을 검량식 작성(calibration sets)에

강낭콩 종실 성분의 검량선 작성

Table 1은 강낭콩 40계통에 대하여 실험실에서 분석한 성적이다. 100립중의 변이는 12.8~45.5 g로 종실의 크기가 매우 다양했으며 조단백질은 12.2~16.5%범위로 변이폭이 컸으나, 조지방은 1.7~2.1%범위로 매우 작은 변이폭을 나타내었다.

강낭콩 종실의 NIR의 스펙트럼은 Fig. 1에서와 같이 400~2500 nm 파장대역에서 스펙트럼을 얻었다. 그러나 가시광선대역인 400~700 nm영역에서는 흡광도의 차이가 크게 나타났는데 그 이유는 강낭콩의 다양한 종피색이 원인으로 생각되었다. 따라서 조단백과 조지방의 근적외선 대역은 약 700~2,500 nm범위로 판단되었다.

700~2500 nm의 파장대역에서의 스펙트럼은 근적외선 영역으로, 일반적으로 NIRS로 정량분석시 기준선의 변동 및 흡광도의 방해가 올 수 있는 데 이러한 기준선의 변동요인은 입도

Table 1. Measurement of seed weight, protein and oil coccentration at the lab procedure.

Characteristics	Mean	Range
100 grain wt. (g)	36.2 ± 6.80	12.8~45.5
Crude seed protein (%)	14.3 ± 1.00	12.2~16.5
Crude seed oil (%)	1.9 ± 0.09	1.7~2.1

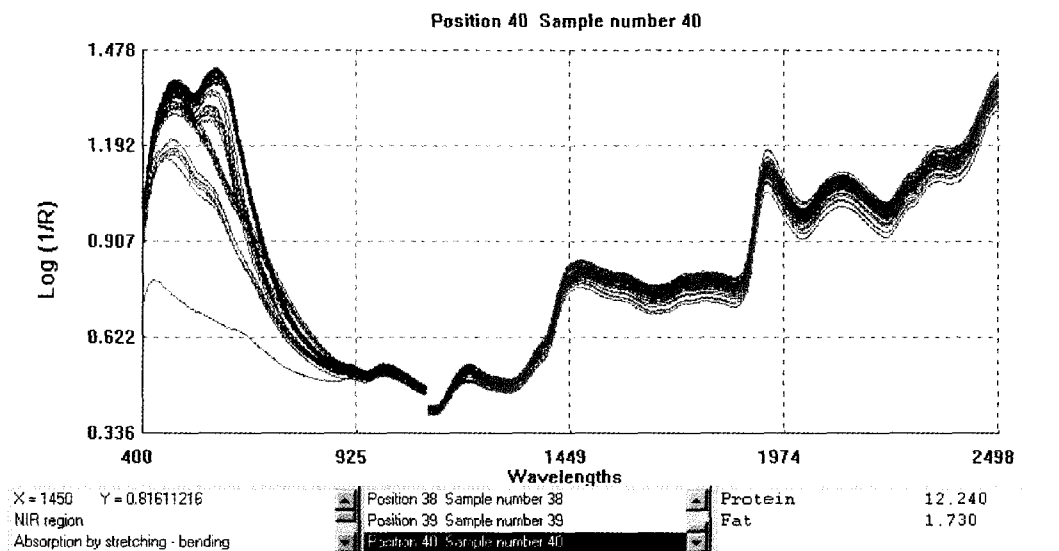


Fig. 1. Typical absorbance spectra of kidney bean seed using NIRS.

Table 2. Equation statistics and calibration

Scatter correction	Error of overlapping	Program	PCA	Regression
SNV and Detrend	1st derivative	WINISI	Mahalanobis distance	Modified PLSR

크기, 시료의 밀집상태 등이 있으며, 흡광도의 방해요인으로는 peak가 넓고, 겹치는 것을 들 수 있다. 따라서 이들 요인들을 제거하기 위해 미분 및 회귀분석 등이 이용된다.

Table 2는 시험재료에 사용된 통계처리 및 검량식 유도조건을 나타낸 것으로 산란보정 및 수처리를 하게되면 더욱 확연한 분리로 원하지 않는 기준선의 범위를 최소화 함으로서 데이터 해석에 정확도를 기할 수가 있다. 위에서 언어진 스펙트럼을 이용하여 40점의 시료를 기본요소분석(principal component analysis)을 수행하여 각 기본요소를 중심으로 거리(Mahalanobis distance)를 구해 모집단을 분석해 본 결과 Fig. 2와 같은 모집단 분포의 3차원 도식을 얻을 수 있었다. 여기에서 각 축 1, 2, 3은 주성분을 나타내며 크게 두 부분으로 분류되는 모집단 분포를 보여주는데 이러한 분포의 특이성은 강낭콩의 품종별 이화학적 특성의 다양성을 시사하고 있다. 각 집단별로 살펴보면 중앙에 군집이 형성되는 것을 알 수 있고 이러한 정규분포의 양상은 자연계에서 흔하게 나타나는 대표적인 시료군의 형태로서 스펙트럼의 차이만을 가지고 모집단의 분포를 나타낸 것이 기준분석 방법으로 분석한 결과의 실험치 분포 그림과 비교할 때 거의 일치 함을 볼 수가 있었다.

강낭콩 종실 및 분말의 검량식 및 Validation

Fig. 3, 4, 5, 6은 검량식 작성시 조단백 및 조지방 함량의 일

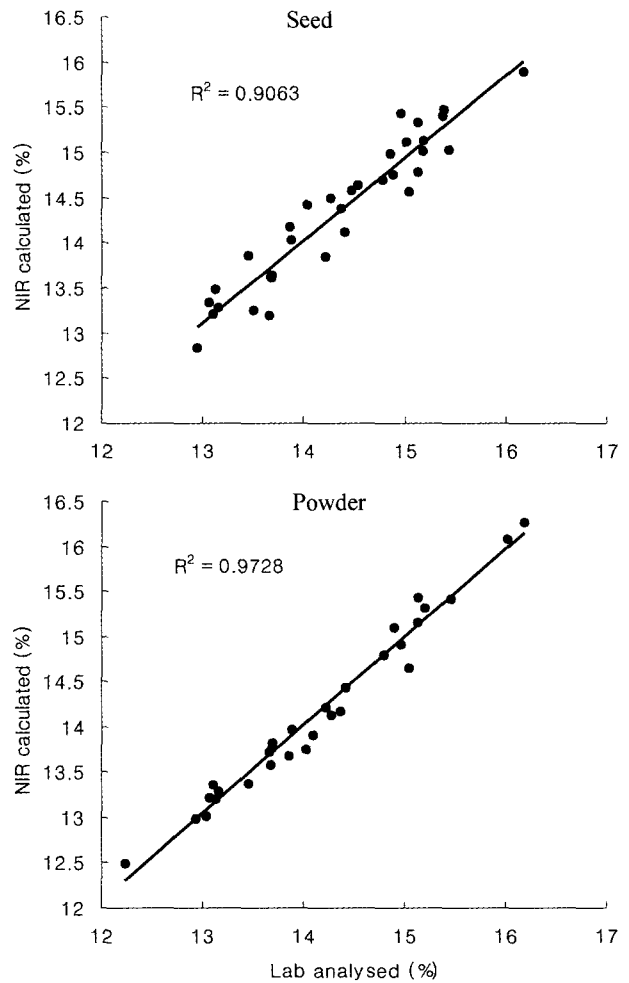


Fig. 3. Correlation between lab and NIRS measurements for seed protein concentration using bulk seed and seed powder.

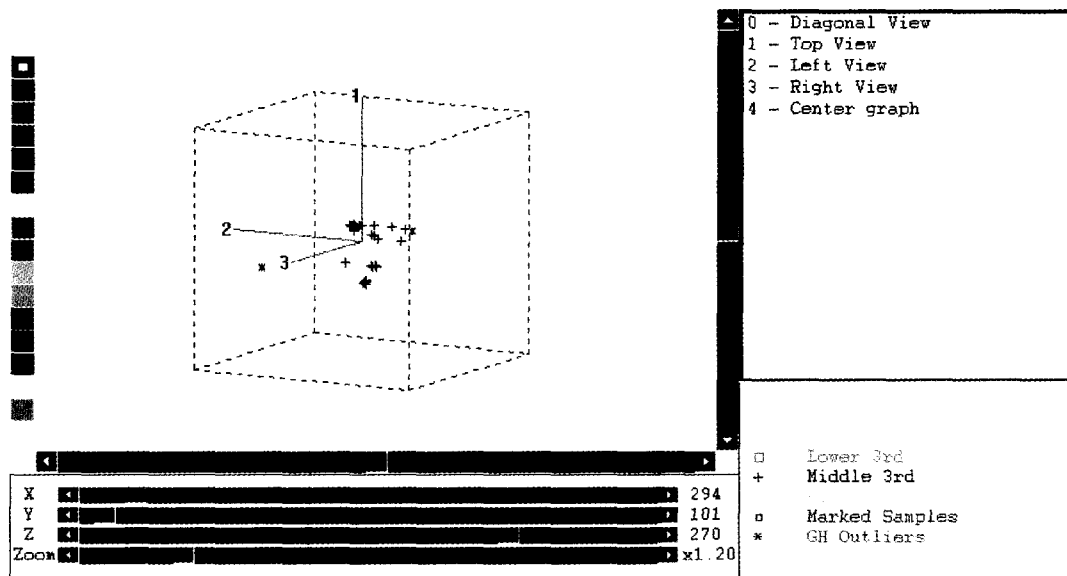


Fig. 2. Three dimensional diagram of kidney bean samples from three major principle component analysis axis in seeds.

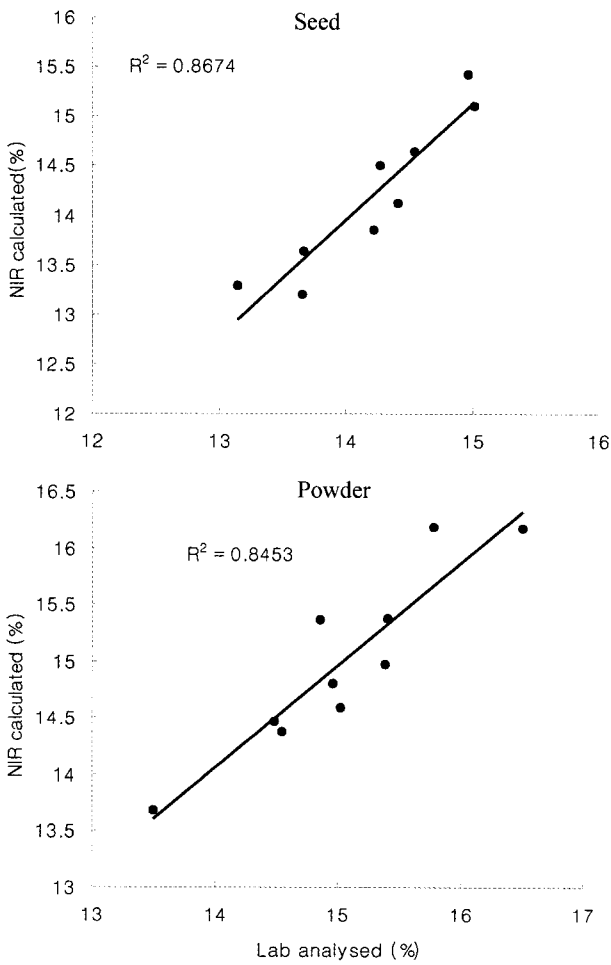


Fig. 4. Correlation between lab and NIRS measurements for seed protein concentration and validation using bulk seed and seed powder.

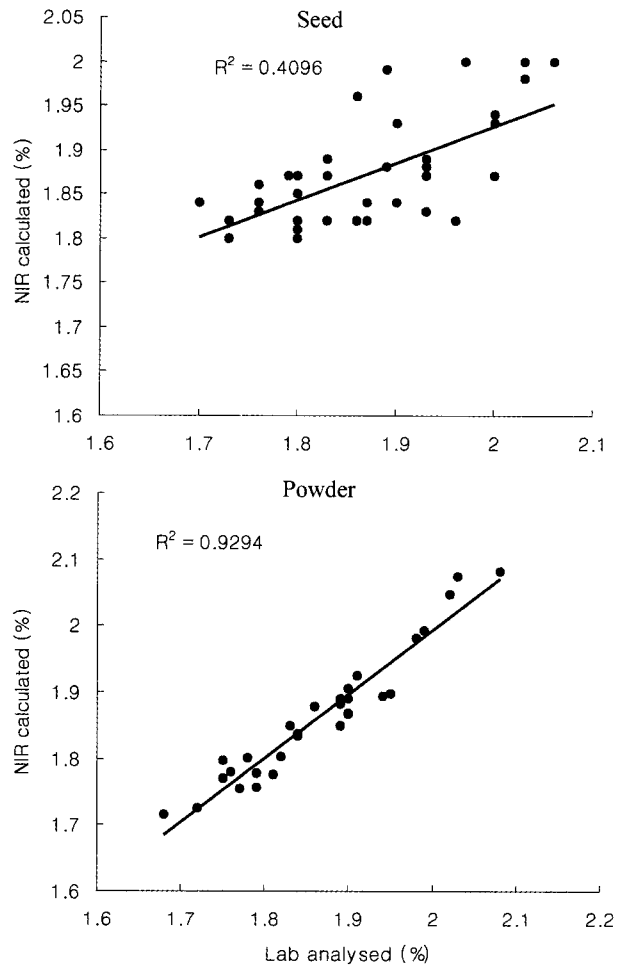


Fig. 5. Correlation between lab and NIRS measurements for seed oil concentration using bulk seed and seed powder.

반분석법에 의한 분석치와 NIRS에서 도출해낸 분석치와의 상관관계를 나타낸 것이다.

조단백의 경우 종실 0.90, 분말 0.97로 높게 나타남으로서 종실과 분말 모두 조단백의 검량식 작성이 적당함을 판단할 수 있었다. 그리고 NIRS에 의해 얻어진 검량식을 미지의 시료인 validation sets로 정확도를 검정한 결과는 종실 0.86, 분말 0.84로 높은 상관관계를 나타내어 어느 정도 정확함을 알 수 있었다. 따라서 조단백 함량 추정을 위하여 검량식 작성에 사용된 계통수집은 적당하다고 판단되었다.

그러나 조지방은 R^2 값이 종실 0.40, 분말 0.92로 분말은 높게 나타났으나 종실은 낮게 나타났다. 따라서 조지방은 변이폭이 넓지 못한 점을 알 수 있었다. 미지의 시료인 validation sets로 종실의 정확도 검량식 작성시 R^2 값이 종실 0.62 분말 0.92로 종실에서 낮아 종실상태로 조지방을 검정하는 것은 다소 무리가 있을 것으로 생각되었다. 본 시험에서 강낭콩의 잠종초기 세대에서 NIRS를 이용하여 F_2 의 성분을 검정 할때

조단백은 이용이 가능하였으나, 조지방의 경우는 앞으로 당질, 탄수화물과 더불어 더 많은 검토가 필요할 것으로 생각된다.

적 요

비파괴분석을 통한 종실 성분 함량 측정의 가능성을 알아보고자 근적외분광분석기(NIRS)를 사용하여 강낭콩 종실 및 분말상태로 조단백 및 조지방 함량을 측정하였다.

1. 강낭콩의 100립중은 12.8~45.5 g, 조단백 12.2~16.5%, 조지방 1.68~2.08%의 분포를 나타냈다.
2. 시험계통별 조단백 함량은 13.1~14.0% 13개(32.5%), 조지방 함량은 1.8~1.9% 18개(45%)로 가장 많은 비율을 나타냈다.
3. 검량식 작성시 종래의 화학적 방법에 의한 분석치와 NIRS 분석치와의 상관계수는 조단백의 경우 비파괴의 종실이 0.90, 분말 0.97이고 조지방의 경우 종실 0.40, 분말 0.92

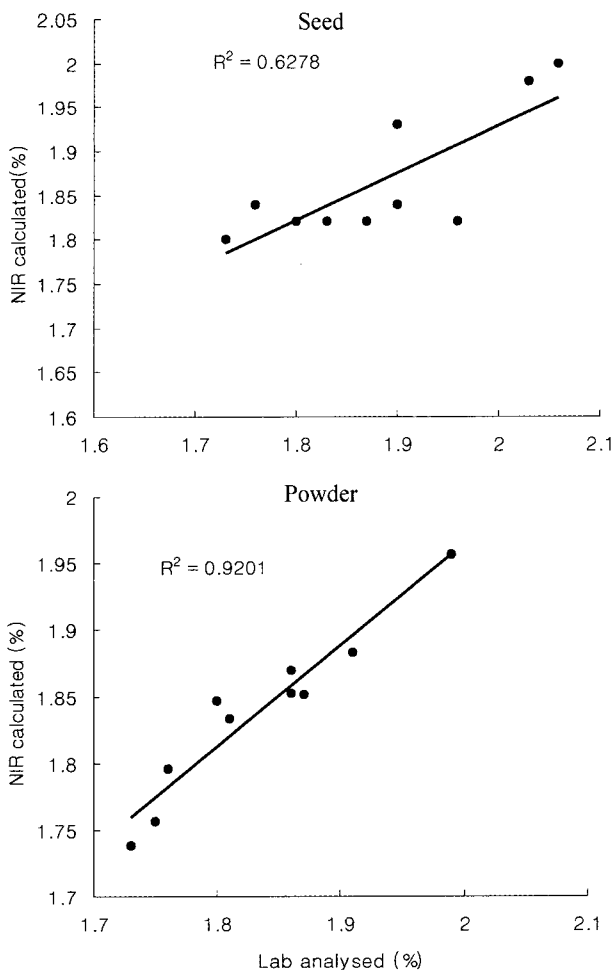


Fig. 6. Correlation between lab and NIRS measurements for seed oil concentration and validation using bulk seed and seed powder.

로 종실보다는 분말시료가 검량식의 작성에 유리함을 알 수 있었고, 화학성분으로 볼 때 조지방 검량식 보다는 조단백의 검량식이 유용성이 더 큰 것으로 판단되었다.

4. 작성된 검량식들의 정확도를 알아보기 위해 미지의 시료

로 측정된 NIRS 분석치와 Validation과의 상관계수는 조단백의 경우 종실 0.86, 분말 0.84이었고 조지방은 종실 0.62, 분말 0.92를 나타내어 조단백의 이용은 가능할 것으로 판단되었다.

인용문헌

- Abrams, S. M., J. S. Shenk, M. O. Westerhaus and F. E. Barton. 1987. Determination of forage quality by near infrared reflectance spectroscopy: Efficiency of broad-based calibration equations. *J. Dairy Sci.* 70: 806-813.
- 조규채, 김용호. 1995. 근적외선 분광분석법을 이용한 작물품질분석법. *작물 품질 관련 정밀기기 작동방법*. P. 143-183.
- 조래광, 홍진환, 김현구. 1990. 근적외분광분석법에 의한 건조 고추의 품질측정. *한국식품과학회지*. 22(6): 675-680.
- 조래광, 손미령, 안재진. 1991. 근적외분광분석법에 의한 분말 고추 중의 씨앗 및 꼭지 혼입량의 신속한 측정. *한국식품과학회지*. 23(4): 447-451.
- Cho, R. K., M. Iwamoto, and K. Saito. 1987. Determination of 7S and 11S globulins in ground whole soybeans by Near Infrared Reflectance Spectroscopic Analysis. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 34(10): 666-672.
- Clarke, M. A., E. R. Arias and C. McDonald-Lewis. 1992. Near infrared analysis in the sugarcane factory. *Sugary Azucar. pres. at Rus-pam Commun. Inc. USA.*
- 황홍구, 조래광, 손재근, 이수관. 1994. 근적외 분광분석법에 의한 미질 관련 성분 측정. *한작지*. 39(1): 7-14.
- 金龍昊, 尹洪台, 鄭愚卿, 金奭東. 1995. 近赤外 分光分析法을 이용한 콩 一般 成分의 非破壞 分析. *農業論文集* 37(2): 91-94.
- 권오달. 1991. 종실용 강낭콩의 조단백질 함량과 몇가지 특성 연구. *삼육대학 논문집* 23: 163.
- 이한범, 최병렬, 강창성, 김영호. 2000. 강낭콩 주요성분 NIR 검량식 개발. *경기도원 시험연구보고서*, 127-134.
- 박량문. 1996. 제주지방 재래종 강낭콩 품종에 관한 연구. *제주대학교 논문집*. 23: 13.
- Ramstad, P. E. and W. F. Geddes. 1942. *Minnesota Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.*, No.156.
- 孫榮求, 金聖烈, 黃種珍, 金善林. 1996. 近赤外 分光分析法에 의한 콩옥수수 非破壞的 迅速 水分測定. *農業論文集* 38(2): 820-825.
- Williams, P. C., H. M. Cordeiro, and M. F. T. Hamden. 1991. Analysis of oat bran products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Cereal Foods World*. 36(7): 571-574.