

시료 전처리 방법이 근적외선분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 화학적 조성분 평가에 미치는 영향

박형수 · 이종경* · 이효원** · 황경준 · 정하연 · 고문석

Effect of Sample Preparations on Prediction of Chemical Composition for Corn Silage by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Hyung Soo Park, Jong Kyung Lee*, Hyo Won Lee**, Kyung Jun Hwang, Ha Yeon Jung and Moon Suck Ko

ABSTRACT

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) has been increasingly used as a rapid, accurate method of evaluating some chemical compositions in forages. Analysis of forage quality by NIRS usually involves dry ground samples. Costs might be reduced if samples could be analyzed without drying or grinding. The objective of this study was to investigate effect of sample preparations and spectral math treatments on prediction ability of chemical composition for corn silage by NIRS. A population of 112 corn silage representing a wide range in chemical parameters were used in this investigation. Samples of corn silage were scanned at 2nm intervals over the wavelength range 400-2500nm and the optical data recorded as $\log 1/\text{Reflectance}(\log 1/R)$ and scanned in oven-dried grinding(ODG), liquid nitrogen grinding(LNG) or intact fresh(IF) condition. Samples were analysed for neutral detergent fiber(NDF), acid detergent fiber(ADF), acid detergent lignin(ADL), crude protein(CP) and crude ash content were expressed on a dry-matter(DM) basis. The spectral data were regressed against a range of chemical parameters using modified partial least squares(MPLS) multivariate analysis in conjunction with four spectral math treatments to reduce the effect of extraneous noise. The optimum calibrations were selected on the basis of minimizing the standard error of cross validation(SECV). The results of this study show that NIRS predicted the chemical parameters with very high degree of accuracy(the correlation coefficient of cross validation(R^2_{cv}) range from 0.70~0.95) in ODG. The optimum equations were selected on the basis of minimizing the standard error of prediction(SEP). The optimum sample preparation methods and spectral math treatment were for ADF, the ODG method using 2,10,5 math treatment($SEP = 0.99$, $R^2_v = 0.93$), and for CP, the ODG method using 1,4,4 math treatment($SEP = 0.29$, $R^2_v = 0.91$).

(Key words : NIRS, Chemical composition, Quality, Corn silage)

I. 서 론

현재 국내 조사료에 관련된 주요 현안은 주
로 수급적 측면에 초점이 맞추어져 있는 실정

이다. 하지만 근래에 들어 수입조사료의 비중
확대와 국내 조사료의 유통시장 활성화로 인한
조사료의 품질평가에 대한 관심이 상대적으로
증가되고 있다. 특히 조사료 품질변화는 내·

난지농업연구소 (National Subtropical Agriculture Institute)

* 축산연구소 (National Livestock Research Institute)

** 한국방송통신대학교 (Korea National Open University)

Corresponding author : Hyung Soo Park, National Institute of Subtropical Agriculture, Rural Development Administration, Jeju 690-150, Korea. E-mail : anpark@rda.go.kr

외적 요인에 따라 차이가 매우 큰 반면 시중에 유통되고 있는 가격의 폭은 매우 제한적이기 때문에 수요자들에게 불신감 조장의 원인을 제공하기도 한다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 신속하고 정확한 사료가치 평가 기술이 필요한 실정이다.

근적외선 분광법의 가장 큰 특징은 비파괴적인 분석법으로 시료에 특별한 전처리 없이 신속하고 정확하게 측정이 가능하다는 점이다. 미국의 Norris 등(1976)에 의해서 최초로 조사료의 사료가치 분석에 근적외선 분광법이 적용되어졌고 그 이후로 조사료와 농후사료의 소화율과 화학적 조성분의 분석에 관한 연구결과가 본격적으로 보고되기 시작했다(Murray, 1990; Givens 등, 1997). 특히 목초나 사료작물의 섬유소 성분과 일반 조성분 함량은 다른 성분에 비해서 정확성이 매우 높아 그 활용도 매우 높은 편이다(Garcia-Cuidad 등, 1993; Cozzolino 등, 2000).

근래에 들어 컴퓨터와 다양한 통계기법(Chemometrics)의 발달로 과거에는 분석이 힘들었던 성분이나 시료의 형태에서도 분석 가능성이 보고되고 있다. 이는 시료에 전처리를 가하거나 다양한 스펙트럼 수처리 방법의 개발로 각종 요인에 의해서 발생하는 오차를 보정할 수 있기 때문이다. 따라서 근래에 들어 시료의 전처리, 즉 분쇄 방법이나 건조방법, 시료의 형태가 근적외선 분광법의 정확성에 미치는 영향에 대한 연구가 보고되고 있다(Daniel Alomar 등, 1999). 특히 근적외선 분광법의 응용성을 확대하기 위해 시료의 형태에 따른 측정 정확성을 높이기 위한 검량기법과 스펙트럼 전처리 방법들이 연구 개발되고 있다. 외국에서는 실질적으로 조사료의 경우 현장에서 수확기(harvester)에 근적외선 분광기를 장착하여 수확 즉시 사료가치를 측정하려는 연구가 보고되고(Paul 등, 2000) 있으며 국내에서도 과일의 당도를 근적외선 분광법을 이용해서 비파괴적으로 현장에서 직접 측정하는 방법이 개발되었다(조 등, 1998).

따라서 본 연구의 목적은 근적외선 분광법을 이용하여 옥수수 사일리지의 화학적 분석방법보다 신속하게 평가하기 위하여 시료의 전처리 방법에 따른 근적외선 분광법의 예측 정확성을 평가하고 그 응용성을 확대하기 위하여 최적의 시료 전처리 방법과 스펙트럼 수처리 방법을 구명하기 위해 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 수집 및 전처리 방법

옥수수 사일리지 시료는 경기도 일원에서 옥수수 사일리지를 제조하는 120여 농가에서 대략 1 kg씩 120점을 수집하였으며 수집된 시료는 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

생사일리지(Intact Fresh) 시료는 냉동된 옥수수 사일리지 시료를 5℃ 냉장고에서 하루정도 해동시킨 다음 사일리지를 잘 혼합하여 500g을 취하여 건조과정이나 분쇄과정을 거치지 않고 원물 그대로를 Natural Product Sample cup을 이용하여 측정하였다. 액화질소(Liquid Nitrogen Grinding) 처리 시료는 300 g 정도의 시료를 취하여 액체질소컨테이너(-196℃)에 30분정도 담가 두었다가 다시 꺼내어 나무망치로 잘게 부순 다음 근적외선 흡광스펙트럼 측정시에 입자 크기에 의한 영향을 최소화하기 위해 Centrifugal mill(Retch®) 로 분쇄한 후 Quarter cup을 이용하여 측정하였다. 건조분쇄(Oven Dried Grinding) 시료는 300 g 정도의 시료를 취하여 65℃ 순환식 송풍건조기에서 2일간 건조 후 1 mm 체를 가진 Cyclotec sample mill (Tecator, Rodgau, Germany)로 분쇄한 후 Quarter cup을 이용하여 측정하였다.

2. 시료의 NIR 스펙트럼 수집

근적외 영역의 스펙트럼이 측정 가능한 Near Infrared Spectrophotometer(NIRSystems 6,500,

Silver Spring, MD, USA)를 이용하여, 400~2,500nm의 범위에서 매 2nm의 간격으로 반사도를 측정 후 검량식 유도를 위해서 흡광도(log 1/R : absorbance)로 변환시켜 수집하였다.

3. 옥수수 사일리지의 화학적 조성분 분석

옥수수 사일리지의 ADF(Acid detergent fiber), NDF (Neutral detergent fiber) 및 ADL(Acid detergent lignin)은 Georing 및 Van Soest (1970) 방법으로 분석하였다. 한편 종실이 포함된 옥수수 사일리지는 전분함량이 많아 NDF 분석 시에 전분 분해효소인 α -amylase (Sigma number A3306; Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo)를 시료당 50 μ l 첨가한 후 분석하였다(Van Soest 등, 1991). 조단백질 및 조회분 함량은 AOAC 법(1990)에 의거하여 분석하였다.

4. 검량식 작성과 검증

총 시료는 120개 였으나 각 전처리에 따른 시료의 스펙트럼을 scoring하여 global H가 3이상의 값을 갖는 시료를 1차적으로 제거시킨 다음 sample selection 과정을 거쳐 neighborhood H값이 0.6의 범위에 있는 유사한 시료 중에 있는 시료만을 선발하여 ODG 전처리는 63개의 시료, LNG 전처리는 78개의 시료, IF 전처리는 80개 시료의 파장을 검량식 작성(calibration)에 이용하였다. 처리기법에 따라 유도된 검량식의 정확성을 검증하기 위하여 각각 미지의 49개 (ODG), 34개 (LNG), 32개 (IF) 시료를 검정용(validation) 데이터로 사용하였다.

검량식 작성 알고리즘은 시료의 스펙트럼에서 입자의 크기나 수분에 의한 물리적 성질에 의한 오차를 보정하기 위해 스펙트럼을 수처리 방법(1,4,4 2,6,4 2,10,5)과 산란효과를 보정하기 위해 SNV (Standard Normal Variate) 및 Detrend를 이용하였고 검량식 작성 기법은 변형부분최소제곱법 (Modified Partial Least Square) 을 이

용하여 분석하였다. 또한 모든 통계적 처리는 상업용 프로그램인 WINISI (Foss NIRsystem, USA) ver. 1.50을 이용하였다.

작성된 검량식의 평가에는 결정계수 (determination coefficient, R^2), SEC (Standard Error of Calibration), SECV (Standard Error of Cross Validation)가 이용되었으며 최적의 검량식은 SECV가 가장 낮은 값을 갖는 것을 선택하였다. 또한, 작성된 검량식을 검증하기 위하여 검량식 작성에 이용되지 않은 미지시료를 이용하여 검량식을 검증하였다. 예측된 값들에 대한 정확도는 SEP(Standard Error of Prediction)로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. NIR 스펙트럼의 특성

옥수수 사일리지 시료의 근적외선 영역에서의 전 처리 방법별 평균 스펙트럼과 1차 미분 스펙트럼은 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 시료의 IF처리와 LNG처리 방법에 따른 스펙트럼은 외관상 큰 차이를 보이지 않았으나 1,975 nm 근처의 흡수 스펙트럼에서 전처리별 차이를 나타냈다. 이런 차이는 Griggs 등(1999)의 연구결과에서 보고된 스펙트럼과 일치하였다. 근적외선 흡광 스펙트럼 해석은 주로 미분법을 적용하는데 이것은 바탕선의 변동 및 흡광도의 방해요인인 시료의 입자크기, 온도와 밀도 등으로 인한 오차를 최소화하여 보다 정확한 스펙트럼 정보를 얻기 위한 방법으로 이용되어진다(Hruschka, 1987; Shenk 및 Westehaus, 1991b; Garcia-Cuidad 등, 1993).

근적외선 배역대에서의 흡수 스펙트럼을 살펴보면 조사료 가치 평가에 이용되어지는 세포벽 물질인 NDF와 ADF는 1,555~1,674, 2,294 nm(Williams, 1987) 근처에서 흡수가 주로 일어나고, cellulose는 1,320~2,044 nm(Garcia-Cuidad 등, 1993) 근처에서 일어나고 조단백질은 옥수

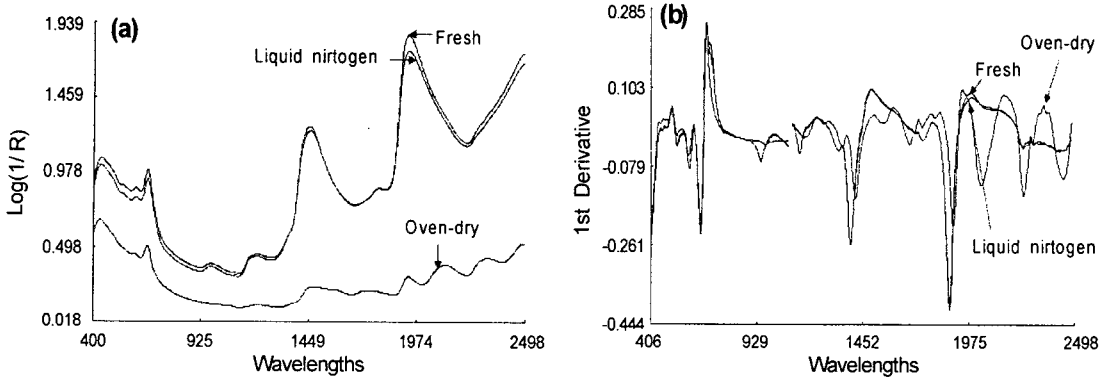


Fig. 1. Average NIR spectra of silage either as log1/R (a) or as a first derivative (b) for oven dried grinding (ODG), liquid nitrogen grinding (LNG) and intact fresh (IF) treatments.

수의 전식물체의 경우 1,680~2,336 nm(Valdes 등, 1987) 근처에서 흡수가 주로 일어난다고 보고하였다. 한편 연구자들에 따라 파장대역의 적용범위가 ± 20 nm의 차이를 보인다는 보고를 하였다(Garcia-Cuidad 등, 1993). 이처럼 근적외 스펙트럼은 여러 성분에 대한 정보가 서로 겹쳐져서 나타나기 때문에 각각의 성분에 대한 파장별 귀속은 어려우나 동시에 여러 성분을 측정할 수 있는 특징을 가지고 있다.

2. 옥수수 사일리지의 이화학적 특성

검량식 작성과 검증에 이용되어지는 옥수수 사일리지의 섬유소 및 화학적 조성분의 함량 범위, 평균 및 표준편차는 Table 1에서 보는 바와 같다. 검량식 작성(calibration set)을 위해 이용되어지는 옥수수 사일리지 시료($n=86$)의 화학적 조성분 함량의 분포는 시료의 전처리 방법에 따라 NDF 함량의 표준편차는 6.33% (ODG), 6.10% (LNG) 및 6.01% (IF)로 가장 다양하게 나타났고 조단백질 함량이 0.79% (LNG), 0.85% (ODG) 및 0.86% (IF)로 변이가 가장 적게 나타났다. 검증세트(validation set)도 모든 성분에서 검량식 작성 범위와 비슷한 분포를 보였다. 각 처리에 대한 검량식 작성 범위가 서로 다른 이유는 본 시험에 사용되어지는 112개의 시료의 스펙트럼은 시료의 전처리방법에 따라

다르게 측정되어지고 또한 최적의 검량식을 유도하기 위해서는 측정되어진 스펙트럼을 scoring을 통한 'SELECTION' 이라는 과정을 거쳐 최적의 검량식을 작성하기 위한 스펙트럼을 선별하기 때문에 전처리 방법에 따라 범위가 달라진다.

3. 근적외선 분광법에 의한 검량식 작성 및 검증

옥수수 사일리지 시료의 전처리 방법에 따라 근적외선 스펙트럼을 측정하여 얻은 흡광도 데이터와 화학적 조성분의 실험실 습식 분석치간에 중회귀분석을 통해 작성된 검량식 및 검량식 검증결과는 Table 2~5에서 보는 바와 같다. 유도된 검량식의 평가는 검량식 결정계수 (R^2), SEC (Standard Error of Calibration), SECV (Standard Error of Cross Validation) 그리고 R^2_{cv} (Coefficient of Determination for Cross Validation)가 이용되어지는데 결정계수 (R^2 , R^2_{cv})는 높을수록 우수한 검량식이고 SEC와 SECV는 낮을수록 우수한 검량식이라고 하였다 (Shenk 및 Westerhaus, 1991a; Adesogan 등, 1998).

다변량 회귀분석법인 변형부분최소자승회귀법(MPLS)을 이용하여 작성된 검량식은 독립적이면서도 검량식 작성 세트와 유사한 별도의 예측세트를 이용하여 검량식의 정확성을 확인

Table 1. The range in chemical composition of the 112 corn silage

Constituents	Calibration set			Validation set		
	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD
..... % , DM						
Oven dried grinding(ODG)						
NDF	34.8-63.0	47.8	6.33	38.8-57.0	47.6	4.76
ADF	19.8-37.3	27.9	4.18	21.9-37.1	28.4	4.25
Hemicellulose	13.5-27.8	19.8	2.79	15.9-23.1	19.7	1.88
ADL	2.2- 6.5	3.9	0.94	2.4- 6.2	3.9	0.86
CP	5.1-10.1	8.3	0.85	6.1-10.3	8.5	0.95
Ash	3.5- 9.0	6.0	1.11	4.0- 9.2	6.1	1.08
Liquid nitrogen grinding(LNG)						
NDF	34.8-63.0	47.9	6.10	38.8-58.4	47.8	5.06
ADF	19.8-37.3	28.0	4.15	21.9-35.1	28.4	3.47
Hemicellulose	13.5-27.8	19.9	2.65	15.5-23.9	19.4	2.12
ADL	2.2-10.7	4.0	1.28	2.8- 6.2	4.1	0.83
CP	5.1- 9.9	8.3	0.79	6.1-10.3	8.5	1.10
Ash	3.5-11.0	6.2	1.13	3.9- 9.2	6.4	1.22
Intact fresh(IF)						
NDF	34.8-63.0	47.8	6.01	38.6-57.0	47.6	5.19
ADF	19.8-37.3	28.0	4.09	20.9-35.1	28.0	3.75
Hemicellulose	13.5-27.6	19.8	2.62	16.0-24.4	19.6	2.23
ADL	2.4-10.7	4.0	1.19	2.2- 6.2	4.0	0.90
CP	5.1-10.3	8.3	0.86	6.1-10.1	8.4	0.92
Ash	3.9-11.0	6.2	1.12	3.5- 9.2	6.2	1.22

검증하여야 한다. 검량식 검증에 사용되어지는 예측세트는 검량식 작성에 사용되지 않은 미지의 시료가 이용되어진다. Williams(1987)는 작성된 검량식의 검증시 화학분석치와 NIRS 측정치간의 검정 표준오차 (SEP : Standard Error of Prediction), 상관계수(R^2_v)를 예측정확도에 대한 판단 지표로 평가할 것을 제안했다.

(1) 섬유소 및 리그닌

옥수수 사일리지의 시료 전처리 방법과 스펙트럼 수처리 방법에 따른 NDF 함량 측정에 대한 검량식 작성 및 검증 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 옥수수 사일리지의 NDF 함량을 신속하고 정확하게 예측하기 위한 시료 전처리 방법과 스펙트럼 수처리 방법은 건조하여 균일한 입자크기로 분쇄한 (ODG) 처리에 2,6,4 수처리 방법을 이용하여 작성한 검량식이 R^2_{cv}

= 0.89, SECV = 2.06%로 우수한 예측 능력을 보였으나 미지의 시료를 이용하여 작성된 검량식을 검증한 결과 2,10,5 수처리 방법이 SEP = 1.78% R^2_v = 0.86으로 가장 우수한 예측능력을 나타냈다. Cozzolino 등(2000)은 NIRS를 이용하여 사일리지용 옥수수 전 식물체(whole plant)의 NDF 함량을 측정된 결과 R^2 = 0.96, SECV = 3.4%로 본 시험의 결과와 비슷한 결과를 보였다.

시료의 전 처리방법에 따라 작성된 검량식을 검증한 결과는 ODG 처리의 스펙트럼 수처리 방법에 따른 검증결과는 R^2_v = 0.82~0.86으로 큰 차이를 보이지 않았으나 LNG 처리방법은 R^2_v = 0.43~0.66으로 수처리 방법에 따라 정확성의 차이를 보였다. 이는 근적외선 분광법에서 스펙트럼의 수처리 효과는 시료의 수분함량과 입자크기의 차이에 따른 스펙트럼의 오차를 보정해주는 효과가 있기 때문에 분쇄하지 않은

Table 2. The calibration and validation statistics for the prediction of neutral detergent fiber(NDF) of corn silage

Preparation methods	Math treatment	Calibration				Validation	
		SEC ¹⁾	R ²	SECV ²⁾	R ² _{cv} ³⁾	SEP ⁴⁾	R ² _v ⁵⁾
Oven dried grinding	1,4,4,1	1.73	0.93	2.14	0.89	1.98	0.83
	2,6,4	1.79	0.91	2.06	0.89	2.04	0.82
	2,10,5	1.95	0.91	2.25	0.88	1.78	0.86
	Mean	1.82	0.92	2.15	0.89	1.93	0.84
Liquid nitrogen grinding	1,4,4	2.13	0.87	3.51	0.65	3.94	0.43
	2,6,4	1.96	0.89	3.26	0.70	3.48	0.50
	2,10,5	2.12	0.87	3.40	0.67	2.94	0.66
	Mean	2.07	0.88	3.39	0.67	3.45	0.53
Intact fresh	1,4,4	3.82	0.65	4.09	0.56	4.11	0.32
	2,6,4	3.26	0.70	3.81	0.59	4.64	0.22
	2,10,5	3.31	0.68	3.82	0.59	4.26	0.30
	Mean	3.46	0.68	3.91	0.58	4.34	0.28

¹⁾ Standard error of calibration, ²⁾ Standard error of cross validation, ³⁾ Multiple correlation coefficient of cross validation, ⁴⁾ Standard error of prediction, ⁵⁾ Multiple correlation coefficient of validation.

Table 3. The calibration and validation statistics for the prediction of acid detergent fiber (ADF) of corn silage

Preparation methods	Math treatment	Calibration				Validation	
		SEC ¹⁾	R ²	SECV ²⁾	R ² _{cv} ³⁾	SEP ⁴⁾	R ² _v ⁵⁾
Oven dried grinding	1,4,4	0.79	0.96	1.05	0.94	1.00	0.92
	2,6,4	0.58	0.98	0.93	0.95	1.10	0.90
	2,10,5	0.75	0.97	0.98	0.94	0.99	0.93
	Mean	0.71	0.97	0.99	0.94	1.03	0.92
Liquid nitrogen grinding	1,4,4	1.17	0.92	1.89	0.79	2.35	0.61
	2,6,4	1.15	0.92	2.21	0.72	2.34	0.60
	2,10,5	1.27	0.91	2.00	0.77	2.23	0.68
	Mean	1.20	0.92	2.03	0.76	2.31	0.63
Intact fresh	1,4,4	2.55	0.62	2.84	0.52	2.91	0.37
	2,6,4	1.80	0.80	2.46	0.64	2.96	0.36
	2,10,5	2.33	0.67	2.64	0.64	2.94	0.33
	Mean	2.23	0.70	2.65	0.60	2.94	0.35

¹⁾ Standard error of calibration, ²⁾ Standard error of cross validation, ³⁾ Multiple correlation coefficient of cross validation, ⁴⁾ Standard error of prediction, ⁵⁾ Multiple correlation coefficient of validation.

시료나 수분함량이 높은 시료에 알맞은 스펙트럼 수처리 방법이 필요하다는 것을 입증해주는 것이다 (Hruschka, 1987; Baker 등, 1994).

근적외선 분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 ADF 함량 예측을 위한 검량식 작성 및 검증 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. ADF 함량의 예측 능력은 세포벽 구성성분 중에서 가장 높은 예측 능력을 보였는데 이는 Park 등

(1998) 및 이 등(2001)이 보고한 연구결과와 비슷한 결과를 보였다. 시료의 전처리 방법에 따른 검량식 작성 결과는 ODG ($R^2 = 0.97$, $SECV = 0.99\%$) > LNG ($R^2 = 0.92$, $SECV = 2.03\%$) > IF ($R^2 = 0.70$, $SECV = 2.65\%$) 순으로 우수하였다. 스펙트럼 수처리 방법에 따른 예측 능력은 2,6,4 수처리 방법이 각각 $R^2 = 0.98$, $SECV = 0.93\%$ (ODG), $R^2 = 0.86$, $SECV = 2.46\%$ (IF)로

가장 우수한 결과를 보였으며 LNG 처리법은 1,4,4($R^2=0.92$ $SECV=2.21\%$) 수처리 방법이 가장 우수한 수처리 방법으로 나타났다.

시료의 전처리 방법 및 스펙트럼 수처리 방법에 따라 작성된 검량식의 검증 결과는 ODG 전처리 방법이 $SEP=0.99\sim 1.10\%$, $R^2_v=0.90\sim 0.93$ 으로 예측능력이 다른 전처리 방법에 비해서 월등히 우수한 결과를 나타냈다. 이런 결과는 시료를 건조한 후 분쇄하여 측정하는 방법이 시료내 수분함량 및 입자도에 의한 오차를 줄일 수 있기 때문으로 생각되어진다. 스펙트럼의 수처리 방법에 따른 예측 능력은 수분함량에 대한 보정이 이루어지지 않은 LNG 처리와 수분함량과 입자도에 의한 오차의 요인을 가지고 있는 IF 처리에서 수처리 효과가 뚜렷하게 나타났다.

(2) 조단백질 및 조회분

옥수수 사일리지의 조단백질 함량의 시료 전처리 및 스펙트럼 수처리 방법에 따른 작성된 검량식 및 검증 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 시료의 전처리방법에 따른 조단백질 함량 예측에 대한 검량식 작성 결과는 ODG 처

리방법에서 평균 $R^2=0.89$ 와 $SECV=0.30\%$ 로 가장 높게 나타났으며 LNG 전처리 방법은 $R^2=0.78$ 과 $SECV=0.50\%$, IF 전처리 방법은 $R^2=0.73$ 와 $SECV=0.54\%$ 의 예측 능력을 보였다.

본 시험의 ODG 전처리 방법에 대한 결과는 Cozzolino 등(2000)과 De Boever 등(1995)의 연구결과보다 예측 능력은 조금 낮은 경향을 보였으며 LNG 전처리 방법에 대한 결과는 Park 등(1998)이 보고한 $SEC=0.14$, $R^2=0.98$ 보다 낮은 예측 능력을 보였다. 또한 스펙트럼 수처리 방법에 따른 예측 능력은 ODG 전처리 방법에서 2,6,4 수처리 방법이 $R^2=0.95$, $SECV=0.25\%$, LNG 전처리 방법은 2,6,4 수처리 방법이 $R^2=0.89$, $SECV=0.47\%$. 그리고 IF 전처리 방법은 2,10,5 수처리 방법이 $R^2=0.76$, $SECV=0.51\%$ 로 가장 우수한 예측 능력을 보였다.

옥수수 사일리지의 조단백질 함량 예측을 위해 작성된 검량식을 미지의 시료를 이용하여 검증한 결과 각 전처리 및 스펙트럼 수처리 방법에 따른 최적의 예측능력은 각각 ODG 전처리 방법은 1,4,4 수처리 방법이 $SEP=0.29\%$, $R^2_v=0.91$, LNG 전처리 방법은 1,4,4 수처리 방법이 $SEP=0.46\%$, $R^2_v=0.74$, IF 전처리 방

Table 4. The calibration and validation statistics for the prediction of crude protein (CP) of corn silage

Preparation methods	Math treatment	Calibration				Validation	
		SEC ¹⁾	R ²	SECV ²⁾	R ² _{cv} ³⁾	SEP ⁴⁾	R ² _v ⁵⁾
Oven dried grinding	1,4,4	0.24	0.88	0.29	0.84	0.29	0.91
	2,6,4	0.16	0.95	0.29	0.85	0.29	0.89
	2,10,5	0.29	0.84	0.31	0.82	0.33	0.89
	Mean	0.23	0.89	0.30	0.84	0.30	0.90
Liquid nitrogen grinding	1,4,4	0.33	0.77	0.51	0.48	0.46	0.74
	2,6,4	0.33	0.77	0.48	0.53	0.53	0.74
	2,10,5	0.32	0.79	0.50	0.52	0.53	0.73
	Mean	0.33	0.78	0.50	0.51	0.51	0.74
Intact fresh	1,4,4	0.41	0.70	0.52	0.53	0.54	0.57
	2,6,4	0.40	0.73	0.58	0.43	0.56	0.51
	2,10,5	0.37	0.76	0.51	0.57	0.56	0.45
	Mean	0.39	0.73	0.54	0.51	0.55	0.51

¹⁾ Standard error of calibration, ²⁾ Standard error of cross validation, ³⁾ Multiple correlation coefficient of cross validation, ⁴⁾ Standard error of prediction, ⁵⁾ Multiple correlation coefficient of validation.

법은 1,4,4 수처리 방법이 $SEP = 0.54\%$, $R^2_v = 0.57$ 로 가장 우수한 예측능력을 나타냈다.

식물체의 조직내 조회분 함량은 무기물 함량과 밀접한 관계를 가지고 있는데 근적외선 분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 조회분 함량을 측정하기 위해 작성된 검량식 및 검증 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. 시료의 전처리 방법에 따른 평균 예측 능력은 ODG 전처리방법이 $R^2 = 0.93$, $SECV = 0.46\%$ 로 가장 우수한 예측 능력을 보였다. 스펙트럼 수처리 방법에 따른 예측 능력은 ODG 전처리 방법은 처리간 차이가 나타나지 않았으며 LNG 전처리 방법의 경우 1,4,4 수처리 방법이 $R^2 = 0.87$ 과 $SECV = 0.66\%$ 로 가장 우수한 결과로 나타났다. IF 처리는 2,6,4 수처리 방법이 가장 높게 나타났다.

시료의 전처리 방법 및 스펙트럼 수처리 방법에 따라 작성된 검량식의 검증에서 최적의 예측 능력은 ODG 처리의 경우 2,10,5 수처리 방법이 $SEP = 0.37\%$, $R^2_v = 0.89$ 로, LNG 처리의 경우 2,10,5 수처리 방법이 $SEP = 0.77\%$, $R^2_v = 0.73$ 으로 IF 처리는 2,10,5 수처리 방법이 $SEP = 0.82\%$, $R^2_v = 0.49$ 로 가장 우수한 예측 능력을 발휘하였다.

일반적으로 근적외선 분광법을 이용한 무기물 함량의 측정은 근적외선 지역에서 흡수가 일어나지 않는다는 이유로 거의 불가능한 것으로 알려졌으나 근적외선 분광법을 이용한 무기물 함량의 직접인 분석에 대한 성공사례가 많은 초종들 사이에서 보고되고 있다(Clark 등, 1987). 근적외선 분광법을 이용하여 무기물 함량을 측정할 수 있는 이유는 몇몇 연구자들에 의해서 일반적으로 조직 내 무기물은 유기물과 결합되어 존재하기 때문에 유기물과 무기물의 결합에 따른 물리성이나 함량을 측정함으로써 무기물의 직접적인 측정 보다 간접적으로 측정할 수 있다고 한다.

본 시험은 생 (원물) 사일리지를 사일로에서 직접 채취하여 특별한 전처리 과정 없이 바로 근적외선 분광법을 이용하여 사료가치를 분석코자 하였으나 본 시험의 결과를 보면 검량식 작성과 상호 검증에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 마지막 검량식 검증에서 정확성이 매우 큰 차이를 보였다. 이는 시료의 충진 정도, 수분 및 입자도와 같은 스펙트럼에 직접적으로 영향 미치는 주요인들을 보정하기 위하여 여러 가지의 스펙트럼 수처리 방법을 적용하였는데 그에 따른 효과가 크게 나타나지 않았다.

Table 5. The calibration and validation statistics for the prediction of crude ash of corn silage

Preparation methods	Math treatment	Calibration				Validation	
		SEC ¹⁾	R ²	SECV ²⁾	R ² cv ³⁾	SEP ⁴⁾	R ² v ⁵⁾
Oven dried grinding	1,4,4	0.34	0.90	0.45	0.83	0.41	0.84
	2,6,4	0.26	0.95	0.49	0.80	0.54	0.78
	2,10,5	0.25	0.95	0.45	0.84	0.37	0.89
	Mean	0.28	0.93	0.46	0.82	0.44	0.84
Liquid nitrogen grinding	1,4,4	0.43	0.83	0.74	0.48	0.80	0.62
	2,6,4	0.32	0.91	0.70	0.54	0.90	0.58
	2,10,5	0.48	0.78	0.77	0.45	0.77	0.73
	Mean	0.41	0.84	0.74	0.49	0.82	0.64
Intact fresh	1,4,4	0.62	0.64	0.81	0.40	0.85	0.41
	2,6,4	0.51	0.76	0.80	0.43	0.90	0.42
	2,10,5	0.60	0.66	0.82	0.38	0.82	0.49
	Mean	0.58	0.69	0.81	0.40	0.86	0.44

¹⁾ Standard error of calibration, ²⁾ Standard error of cross validation, ³⁾ Multiple correlation coefficient of cross validation, ⁴⁾ Standard error of prediction, ⁵⁾ Multiple correlation coefficient of validation.

IV. 요약

본 연구는 시료 및 스펙트럼의 전처리 방법이 근적외선 분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 화학적 조성분의 예측능력에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행되었다. 시료의 전처리 방법은 건조하여 분쇄하는 방법(Oven Dried Grinding), 액화 질소처리 후 분쇄하는 방법(Liquid Nitrogen Grinding) 그리고 생사일리지(Intact Fresh)처리로 하였으며 4개의 스펙트럼의 수처리(1,4,4, 2,6, 4, 2,10,5) 방법을 이용하여 다변량회귀분석법인 변형부분최소자승회귀법(MPLS)을 통해 검량식을 작성하였다. 시료의 전처리 방법에 의해서 유도된 검량식의 예측 능력은 섬유소 성분(NDF, ADF)과 일반 조성분(CP, Ash) 모두에서 Oven dried grinding (ODG) > Liquid nitrogen grinding (LNG) > Intact fresh (IF) 처리 순으로 우수하였다. 또한 스펙트럼의 수처리 방법에 의한 결과는 시료의 전처리 방법에 따라 그 예측 능력이 다르게 나타났다. 옥수수 사일리지의 섬유소 함량을 예측하기 위한 최적의 시료 전처리 및 스펙트럼 수처리 방법은 NDF는 ODG 처리에 2,10,5 수처리 방법 ($R^2 = 0.86$), ADF는 ODG 처리에 2,10,5 수처리 방법 ($R^2_v = 0.93$)이 가장 우수한 전처리 방법으로 나타났다. 조단백질 함량과 조회분 함량을 측정하기 위한 최적의 시료 전처리 및 스펙트럼 수처리 방법은 조단백질은 ODG 처리에 1,4,4 수처리 방법($R^2_v = 0.91$), 조회분은 ODG 처리에 2,10,5 수처리 방법($R^2_v = 0.89$)이 가장 우수한 전처리 방법으로 판단된다. 이상의 연구 결과를 종합해보면 근적외선 분광법을 이용한 사일리지의 화학적 조성분 함량 측정은 적은 오차 범위 내에서 신속하고 정확한 분석법이 될 수 있음을 확인할 수 있었다. 비록 원물 생시료(IF)에 대한 직접적인 측정은 다소 예측 정확성이 떨어지지만 현장 적용성과 편리성을 높이기 위해서는 생시료의 측정시 오차를 줄일 수 있는 스펙트럼의 수처리 방법이나 산란보정 방법과 같은

데이터 처리기법에 대한 더 많은 연구가 앞으로 진행되어야 한다고 생각되어진다.

V. 인용 문헌

- Adesogan, A.T., E. Owen, and D.I. Givens. 1998. Prediction of the *in vivo* digestibility of whole crop wheat from *in vitro* digestibility, chemical composition, *in situ* rumen degradability, *in vitro* gas production and near infrared reflectance spectroscopy. Anim. Feed Sci. Technol. 74:259-272.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis(15th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Baker, C.W., D.I. Givens, and E.R. Deaville. 1994. Prediction of organic matter digestibility *in vivo* of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy: effect of calibration method, residual moisture and particle size. Anim. Feed Sci. Technol. 50: 17-26.
- Clark, D.H., H.F. Mayland, and R.C. Lamb. 1987. Mineral analysis of forages with near IR reflectance spectroscopy. Agron. J. 79:485-490.
- Cozzolino, D., A. Fassio, and A. Gimenez. 2000. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. J. Sci. Food Agric. 81:142-146.
- Daniel Alomar, Rita Fuchslocher and Sergio Stockebrand. 1999. Effects of oven-or freeze-drying on chemical composition and NIR spectra of pasture silage. Anim. Feed Sci. Technol. 80:309-319.
- De Boever J.L., B.G. Cottyn, J.M. Vanacker and C.V. Boucqué. 1995 The use of NIRS to predict the chemical composition and the energy value of compound feeds for cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 51:243-253.
- Garcia-Cuidad, A., B. Garcia-Criado, M.E. Pérez-Corona, B.R. Vázquez de Aldana, and A.N. Ruano-Ramos. 1993. Application of near-infrared reflectance

- spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *J. Sci. Food Agric.* 63:419-426.
9. Givens, D.I., J.L. De Boever, and E.R. Deaville. 1997. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutr. Res. Rev.* 10:83-114.
 10. Griggs, T.C., K.B. Lobos, and P.E. Kingery. 1999. Digestibility analysis of undried, unground, and dry ground herbage by near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 39:1164-1170.
 11. Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. *Agric. Handb.* 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.
 12. Hruschka, W.R. 1987. Data analysis: wavelength selection methods. *In* P. Williams and K. Norris (Eds.) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. St. Paul, MN: Am. Assoc. of Cereal Chemists Inc.. pp. 35-55.
 13. Murray, I. 1990. Application of NIRS in agriculture. *In*: Iwamoto, M., Kawano, S. (Eds.), *Proceedings of the Second International Near Infrared Spectroscopy Conference*. Korin Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japan, pp. 11-20.
 14. Norris, K.H., R.F. Barnes, J.E. Moore, and J.S. Shenk. 1976. Predicting forage quality by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43: 889-897.
 15. Park, R.S., R.E. Agnew, F.J. Gordon, and R.W.J. Steen. 1998. The use of near infrared reflectance spectroscopy(NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72:155-167.
 16. Paul C., M. Rode and U. Feuerstein. 2000. From laboratory to harvester : forage analysis by NIRS diode array instrumentation. *Grassland Sci. Europe* 5:37 [Poster]
 17. Shenk, J.S. and M.O. Westerhaus. 1991a. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 31:469-474.
 18. Shenk, J.S. and M.O. Westerhaus. 1991b. Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Sci.* 31:1548-1555.
 19. Valdes, E.V., R.B. Hunter, and L. Pinter. 1987. Determination of quality parameters by near infrared reflectance spectroscopy in whole-plant corn silage. *Can. J. Plant Sci.* 67:747-754.
 20. Van soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
 21. Williams, P.C. 1987. Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopic analysis. *In* P. Williams and K. Norris (Eds.) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. St. Paul, MN: Am. Assoc. of Cereal Chemists Inc., pp. 143-167.
 22. 이효원, 박형수, 김종덕. 2001. 사일리지용 옥수수 근적외 분석에 관한 연구. *한국동물과학회지* 43(6):981-988.
 23. 조래광, 손미령, 권영길, 이경희, 박우철. 1998. 근적외 분광분석법을 응용한 사과의 비파괴 품질 측정 가능성 조사. *한국농화학회지* 41(2):153-159.