

근적외선 분광분석법을 이용한 향미벼의 아밀로스 및 단백질 정량분석

김정순 · 송미희¹ · 최재율¹ · 이희봉¹ · 안상낙^{1*}

농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터, ¹충남대학교 농학과

Quantification of Protein and Amylose Contents by Near Infrared Reflectance Spectroscopy in Aroma Rice

Jeong-Soon Kim, Mi-Hee Song¹, Jae-Eul Choi¹, Hee-Bong Lee¹, and Sang-Nag Ahn^{1*}

National Agrobiodiversity Center, National Academy of Agricultural Science, RDA

¹Department of Agronomy, Chungnam National University

Abstract The principal objective of current study was to evaluate the potential of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) as a non-destructive method for the prediction of the amylose and protein contents of un-hulled and brown rice in broad-based calibration models. The average amylose and protein content of 75 rice accessions were 20.3% and 7.1%, respectively. Additionally, the range of amylose and protein content were 16.6-24.5% and 3.8-9.3%, respectively. In total, 79 rice germplasms representing a wide range of chemical characteristics, variable physical properties, and origins were scanned via NIRS for calibration and validation equations. The un-hulled and brown rice samples evidenced distinctly different patterns in a wavelength range from 1,440 nm to 2,400 nm in the original NIR spectra. The optimal performance calibration model could be obtained by MPLS (modified partial least squares) using the first derivative method (1:4:4:1) for un-hulled rice and the second derivative method (2:4:4:1) for brown rice. The correlation coefficients (r^2) and standard error of calibration (SEC) of protein and amylose contents for the un-hulled rice were 0.86, 2.48, and 0.84, 1.13, respectively. The r^2 and SEC of protein and amylose content for brown rice were 0.95, 1.09 and 0.94, 0.42, respectively. The results of this study suggest that the NIRS technique could be utilized as a routine procedure for the quantification of protein and amylose contents in large accessions of un-hulled rice germplasms.

Keywords: NIR spectrum, aroma rice, amylose, germplasm evaluation, MPLS

서 론

쌀은 현미상태에서도 영양 성분이 주식에 가깝게 단백질, 지질, 탄수화물이 고루 분포되어 있으며, 기능성 성분도 다량 함유되어 있으며(1), 단백질 함량(2,3) 및 아밀로스(4,5)는 쌀의 미질을 결정하는 중요한 이화학적 특성으로 보고되었다(6).

Infrared reflectance spectroscopy(NIRS; 근적외선 분광분석법)에 의한 분석방법은 시료를 비 파괴적으로 신속하게 정성 및 정량적인 분석이 가능하기 때문에 다량의 시료를 짧은 시간 내에 분석할 수 있어, 선진국에서는 쌀의 식미 평가를 NIRS 분석용 프로그램을 이용한 자동화시스템의 개발(7,8) 등 다양한 방법에 의한 가능성을 시도하고 있다(9-11).

최근 국내에서도 NIRS를 이용한 여러 가지 예측모델(12-17)이 개발하고 있으며, 특히 쌀의 단백질(18) 및 아밀로스(19,20) 함량 및 백미(21), 현미의 성분(18,22), 현미의 함수율(16), 미강의 성분, 벼 생체 엽(23), 강낭콩 종실의 특성(24) 등 다양한 상태의 농작물에 대한 품질 평가방법으로 NIRS를 이용한 연구 결과들이 보고되었다.

본 연구는 농촌진흥청 농업유전자원센터에 보존되고 있는 다양한 향미 유전자원의 성분 분석을 위한 신속, 정확한 평가 및 선별체계를 구축하고자 근적외선 분광분석법을 이용하여 현미 및 벼 상태의 향미자원으로부터 획득한 spectrum의 비교분석을 통해 비 파괴적으로 아밀로스 및 단백질함량을 분석하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 벼 유전자원은 Table 1과 같이 2006년 농촌진흥청 국립농업유전자원센터로부터 활력이 80% 이상인 향미자원 65점과 다면적 재래자원 14점을 분양받아 2007년 증식한 재료를 사용하였다.

전체 자원중 75자원에 대한 이화학적 특성분석을 통한 검량식 작성을 위해, 향미 10g씩을 실험실용 현미제현기(SY88-TH, Sangyong Machine Ind. Co. Ltd., Incheon, Korea)로 탈영시켜서 사미, 피해 립 등을 제거한 후, 현미상태로 NIR 스펙트럼을 작성 후, 동일한 샘플을 이화학적 분석에 이용하였다. 이화학적 특성 분석용 샘플은 현미를 분쇄기로 90초 간 분쇄하여 100 mesh의 체로 친 현미가루를 이용하여, 아밀로스함량 및 단백질함량을 농촌진흥청 쌀 품질 및 식미평가서에 의거하여 조사하였다.

아밀로스함량 분석

아밀로스함량 분석은 Juliano(26)의 비색 정량 법에 따라 100

*Corresponding author: Sang-Nag Ahn, Department of Agronomy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
Tel: 82-42-821-5728
Fax: 82-42-822-2631
E-mail: ahnsn@cnu.ac.kr
Received July 9, 2008; revised October 29, 2008;
accepted October 29, 2008

Table 1. List of origin and accession number of domestic and foreign aroma rices and widely cultivated indigenous rice varieties.

Type	Origin	Accession number	Origin	Accession number
Aromatic rice	Australia	1	Malaysia	1
	Butan	2	Nepal	3
	China	3	Pakistan	10
	India	4	IRRI	18
	Iran	6	Taiwan	1
	Japan	3	Thailand	1
	Korea	5	USA	3
	Madagascar	1	Vietnam	2
	Widely cultivated indigenous rice	Korea	14	Japan
Total	79 accessions			

mg의 현미가루에 95% ethanol 1 mL와 1 N NaOH 9 mL 가해 진탕항온수조에 10분간 호화시킨 후 20°C 증류수로 100 mL을 채운 다음, 그 중 5 mL를 취해 1 N acetic acid 1 mL와 2% I₂-KI (iodine solution) 2 mL를 가해 증류수로 100 mL까지 채우고 30°C에서 20분간 발색 반응시켜 620 nm의 파장에서 UV/Vis분광광도계(UV-2450, Shimadzu, Tokyo, Japan)로 측정하였다.

단백질함량 분석

단백질함량은 Micro Kjeldahl 질소 정량 법(4)을 이용하여 다음과 같이 정량하였다. 현미 시료 500 mg을 500 mL Kjeldahl 분해병에 넣고 진한 황산(H₂SO₄) 20 mL을 가한 후 분해촉매제(Kjeltabs) 1 g을 넣고 400°C에서 2시간 동안 분해하였다. 실온에서 냉각 후 가스를 방출시키고 증류수를 300 mL 가하면서 분해병의 내벽을 세척 하고 45% NaOH 50 mL을 가하여 용액을 알칼리화 하여 Kjeldahl 증류장치로 75 mL까지 증류 한 후, 2% 붕산용액(H₃BO₃) 10 mL을 가하여 0.1 N H₂SO₄ 표준용액으로 자동 분석 장치(Kjeltec 2400, Foss, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 질소함량(N)을 분석 후, 질소보정계수를 N×5.95(%)로 하여 단백질함량으로 환산하였다.

근적외선 스펙트럼 수집

분양받은 향미와 다면적 재래자원의 현미 및 벼 상태에 대한 NIR을 이용한 근적외선 스펙트럼을 측정하기 위해, 근적외선 분광분석기(NIRsystems 6500, Foss)를 사용하였으며, 시료를 half cup seed holder에 채운 후 실온에서 가시광선 및 근적외선 대역(400-2500 nm)에서 scanning 한 후 스펙트럼은 한 품종 당 3반복으로 얻은 원시 spectrum을 standard normal variance와 detrend로 입도 차이에서 오는 산란을 보정 하였다.

NIRS 검량식 작성

NIRS을 이용한 정량분석을 위해 우선 원시 spectrum을 파일로 작성한 후 검량 식을 얻어야 한다. 검량 식은 원시 spectrum을 4 가지 수 처리(math treatment)방법을 통하여 spectrum을 영역별로 중첩에서 생기는 noise와 bias를 최소화하였다. 원시 spectrum을 가공하여 데이터 분석 및 아밀로스과 단백질에 대한 검량 식을 작성하고 이를 79자원의 현미에 적용하여 시료의 가상적인 아밀로스과 단백질 함량을 얻었다.

수 처리(math treatment)는 우선 1차 미분(1st derivative)을 이용한 1, 4, 4, 1(1st derivative, 4 nm gap, 4 point smooth, and 1 point second smooth)조건, 1, 10, 10, 1 조건과 2차 미분을 이용

한 2, 4, 4, 1 조건 및 2, 10, 10, 1 조건을 사용하였다. 수 처리된 spectrum은 회귀분석을 통해 검량 식을 작성하였다.

회귀분석은 PLS(partial least squares), MPLS(modified partial least squares), PCR(principal component regression)법을 사용하여 검량 식을 산출하였으며, 작성된 검량식을 상호비교 분석하여 최적의 검량 식을 도출하였다.

실험치(lab data)와 NIR 데이터의 통계적인 모집단 분포의 해석과 그 상관관계에 관한 통계분석은 WINISI II software(Ver 1.50, Foss)를 사용하여 RSQ(R²; squared coefficient of multiple determination in calibration), SEC(standard error of calibration), 그리고 SEP(standard error of prediction) 값을 분석하였는데, SEC, SEP, Bias식은 다음과 같다.

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (X_i - y_i)^2}{n - p - 1}}$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i) - (\bar{x} - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

$$Bias = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i = \bar{x} - \bar{y}$$

여기에서 xi: 각각의 화학성 분 값, yi: 각각의 NIR 측정값, n: 시료 수, p: 보정계수에 이용한 filter의 수, \bar{x} : 화학분석에 의한 평균값, \bar{y} : 근적외선분석에 의한 평균값(22).

결과 및 고찰

단백질 및 아밀로스함량 분석

75점의 향미 및 다면적 재래 유전자원의 현미로부터 측정된 단백질 및 아밀로스함량 범위를 Table 2에서 살펴보면 단백질함량의 범위는 3.8-9.3%였으며, 평균 단백질함량은 7.1%이고 단백질함량이 6.6-7.5%인 자원은 26점으로 전체의 32.9%를 차지하였다. 전체 자원의 아밀로스함량의 범위는 8.5-27.4%였으며, 평균 아밀로스함량은 20.3%이고 아밀로스함량이 12.5% 이하인 저 아밀로스 자원은 7점이었으며, 아밀로스함량이 16.6-24.5%인 고아밀로스 자원은 58자원으로 전체의 73.4%를 차지하였다.

75점의 향미 및 다면적 재래 유전자원의 시료에 대한 단백질 및 아밀로스함량에 대한 분석 결과 Table 2에서 보는 바와 같이

Table 2. Protein and amylose contents of the brown rice by Kjeldhal method and Juliano method

		Biotype	Verities	Amylose (%)	Protein (%)			Biotype	Verities	Amylose (%)	Protein (%)
Domestic aroma rice	Tongil		Hyangmibyeyo 1ho	18.2±0.22	7.4±0.10			Basmati 1		26.0±0.02	7.6±0.03
			Hyangmibyeyo2ho	18.5±0.09	7.8±0.04			Basmati 213 C		23.2±0.02	6.4±0.06
			Hyangnambyeo	17.4±0.14	5.8±0.06			Basmati 372		26.2±0.03	8.6±0.12
	Japonica		Aranghyangchalbyeo	8.5±0.16	6.5±0.05			Chahora 144		26.5±0.02	9.0±0.03
			Mihayangbyeo	18.5±0.09	6.9±0.05			Dinorado		27.2±0.04	8.4±0.04
			Hyanggaengdo	22.6±0.19	7.6±0.05			Domsiah		23.4±0.04	8.4±0.06
			Hyangdo	23.4±0.15	8.7±0.06			Mulai		25.8±0.04	7.2±0.10
			Iranbyeopssi	20.3±0.14	9.3±0.09			Muhyang99-8		18.5±0.15	5.8±0.05
			Iranbyeopssi	20.7±0.15	9.2±0.11			Jahyangna861		8.9±0.17	6.4±0.06
			Iranbyeopssi	21.5±0.17	9.3±0.15			Daebunhyangdo2		18.4±0.13	6.0±0.05
			Basmati 370	21.4±0.14	7.7±0.06			415 X Ir352		9.3±0.19	7.1±0.06
			Jasmine 85	18.2±0.15	4.6±0.15			Shiyayuuine		16.7±0.14	7.8±0.04
			Dellmont	19.7±0.11	7.0±0.08			A-2		8.5±0.14	7.9±0.08
			Aroma	21.5±0.14	4.6±0.04			A-3, Choh hang		9.0±0.18	7.1±0.06
			Ds20	18.9±0.13	7.0±0.04			Japonica Daw Dam		9.2±0.11	6.8±0.04
			05-Irri-M-46	27.4±0.10	8.1±0.05			KINANDANG PAT		24.7±0.02	4.5±0.03
			Goolarath	18.1±0.13	7.4±0.11			Kung-Shan Wu-Shen-Ken		22.0±0.03	8.3±0.06
			Ir841-85-1-1-2	17.9±0.04	6.7±0.08			Iari 7447		8.8±0.03	8.1±0.04
		Foreigne aroma rice	Indica		Seratus Malam	24.6±0.07	7.4±0.08			Masino Basmati	
	TALLI			24.8±0.04	7.5±0.04			Inaguhu		24.2±0.02	7.7±0.06
	05-Irri-M-46			26.1±0.07	7.1±0.04			Flores		21.5±0.02	6.3±0.07
	Basmati 107			21.1±0.08	8.8±0.04			Rasomotrafotsy		23.4±0.00	6.9±0.04
	Basmati 405			22.5±0.11	8.4±0.05			Pungwoog		17.0±0.09	6.0±0.13
	Basmati 5853			22.5±0.09	6.6±0.07			Palgoeng		17.6±0.09	5.4±0.14
	Basmati 5874			22.8±0.08	7.6±0.07			Noinjo		21.0±0.04	6.2±0.15
	Basmati 6129			22.8±0.05	7.4±0.05			Dadajo		19.4±0.02	5.9±0.06
	Basmati 6311			22.0±0.08	7.2±0.18			Donnado		19.3±0.03	5.4±0.06
	Basmati 6313			22.6±0.08	6.6±0.05			Nagdongbyeo		16.6±0.04	6.2±0.09
	Basmati 6141			21.0±0.03	8.0±0.14	Widely cultivated indigenous rice		Paldal		17.3±0.03	6.5±0.04
	Gerdeh			16.4±0.03	8.7±0.04		Japonica	Tongil		21.8±0.03	7.4±0.10
	AZUCENA			23.3±0.02	7.2±0.05			Koshihikari		17.7±0.03	4.1±0.04
	Binicol			24.5±0.02	7.6±0.13			Dongjinbyeo		20.7±0.03	5.5±0.06
	Milfor 6			24.6±0.02	7.9±0.04			Ilpumbyeo		18.8±0.03	3.8±0.05
	Basmati 5836			24.3±0.00	6.8±0.03			Nampyeongbyeo		19.4±0.02	6.1±0.05
	Basmati 5854			23.6±0.03	8.0±0.04			Sindongjinbyeo		18.8±0.03	5.5±0.04
	Basmati 5875			21.6±0.03	8.8±0.04			Dongjin 1 ho		19.0±0.03	6.0±0.04
	Basmati 6113			24.4±0.00	8.4±0.04			Joonambyeo		20.3±0.00	4.4±0.46
	Basmati 6129		25.7±0.02	7.4±0.03							

비교적 정규분포에 가까운 양상을 나타내고 있으므로 근적외선 분광 분석기를 이용한 현미의 아밀로스함량 및 단백질 함량에 대한 검량식 작성에 사용될 샘플집단으로 무리가 없을 것으로 판단된다. 이와 유사한 결과를 쌀의 분석 결과에서 보고한 바 있다 (19,21).

근적외선 spectrum 수집

Fig. 1(A, B)는 75점의 향미 및 다면적 재래 유전자원에 대한 벼 상태 및 현미상태에서의 NIR 원시spectrum을 나타낸 것으로

1,490 nm 이상의 파장범위에서 벼 상태 및 현미상태에서 큰 차이를 보였으며, 전체 spectrum의 양상은 Kim 등(19)과 Kwon 등(22)이 보고한 현미상태의 NIR 원시spectrum의 양상과 비슷하였다.

가시광선 범위는 chlorophyll과 같이 주로 색도와 연관된 영역으로 다양한 spectrum 양상을 나타내기 때문인데, 본 실험에 사용한 재료의 영색과 현미색이 다양하므로, Fig. 1에서 벼 상태 및 현미상태에서 얻은 가시광선 범위의 spectrum이 분산되는 현상을 나타내었다. Song 등(21)에 의하면 도정된 브랜드 쌀의 경우 현미색이 제거되어 백미 상태이므로 가시광선 범위에서는 흡광도

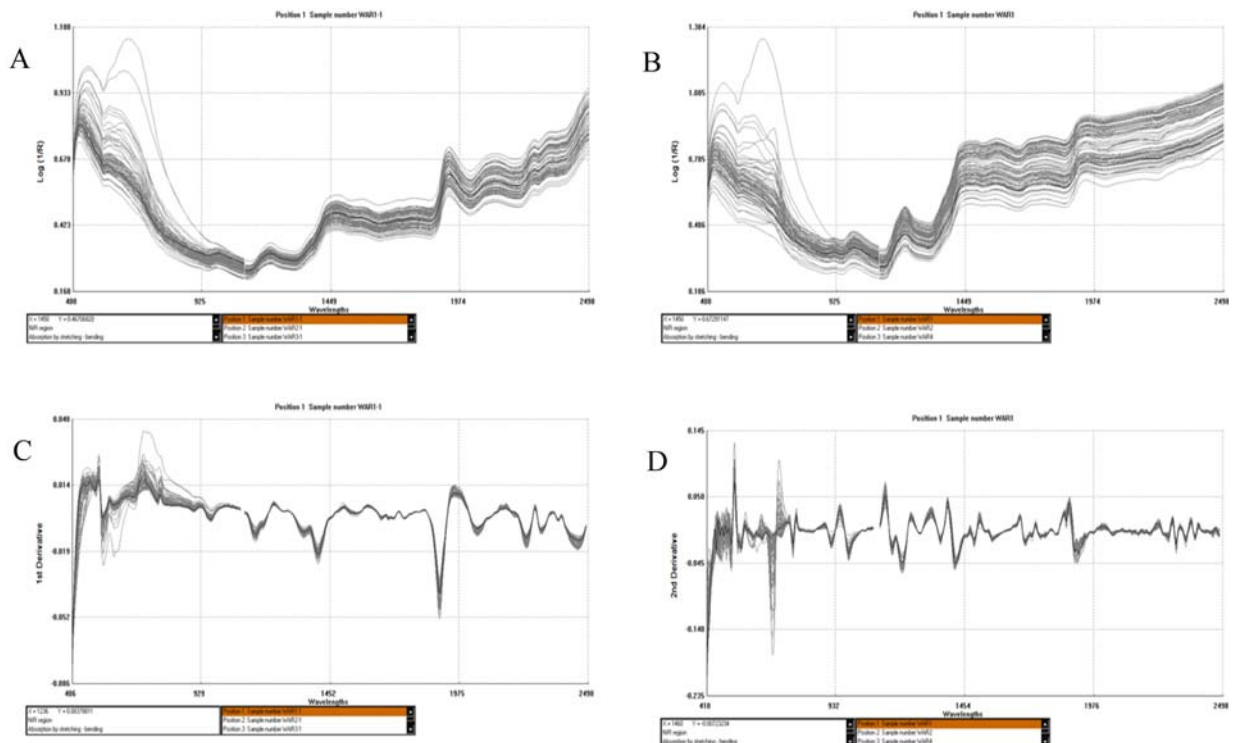


Fig. 1. The original spectra (un-hulled rice, A; brown rice, B) and derivative of the mean spectra (un-hulled rice, C; brown rice, D) of the NIR spectrums of 75 accessions of aroma rices by reflection method. The un-hulled and brown rice samples had shown an different patterns from 1,440 nm to 2,400 nm wavelength range in original NIR spectra.

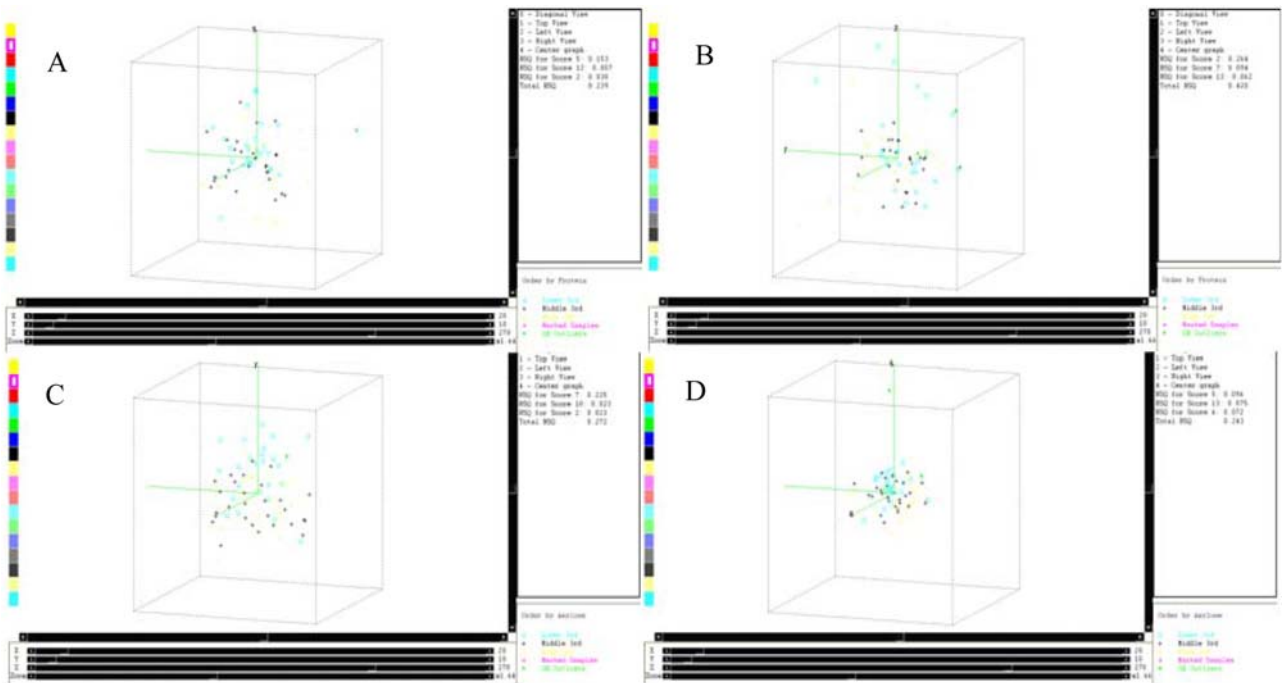


Fig. 2. Three dimensional display of 3 major principal component analysis of the protein content (un-hulled rice, A; brown rice, B) and the amylose content (un-hulled rice, C; brown rice, D) axis on 75 accessions of aroma rices and widely cultivated indigenous rice in RDA Genebank.

의 차이가 적다고 보고하였다.

Fig. 1의 A와 B는 벼 상태 및 현미상태로부터 획득한 원시 spectrum으로 가시광선범위와는 달리 700 nm에서 2,500 nm 사이의 근적외선 범위에서는 특정 파장대별로 큰 흡광도 차이를 나

타내었고, Fig. 1의 C와 D는 전처리된 스펙트럼의 피크는 아래로 돌출될수록 강한 흡광도(27)를 의미하는데 C와 D 특정 파장중, 1,440 nm를 정점으로 근적외선범위 쪽으로 갈수록 흡광도의 중첩 현상이 나타났다. 1,900 nm와 1,420 nm 부근에서 강한 흡광

Table 3. Optimum calibration parameters according to three different regression analysis and four mathematical treatments for protein and amylose content in un-hulled rice¹⁾

Regression analysis	Math treatment	Amylose (%)			Protein (%)		
		R ²	Mean	SEC	R ²	Mean	SEC
Modified partial least squares	1,4,4,1	0.871	20.7	1.37	0.815	6.9	0.29
	1,10,10,1	0.596	20.7	2.39	0.815	6.9	0.29
	2,4,4,1	0.863	20.7	1.40	0.662	6.9	0.63
	2,10,10,1	0.849	20.7	1.51	0.616	6.9	0.62
Partial least squares	1,4,4,1	0.451	20.7	2.72	0.511	6.9	0.48
	1,10,10,1	0.430	20.7	2.77	0.635	6.9	0.53
	2,4,4,1	0.475	20.7	2.67	0.427	6.9	0.58
	2,10,10,1	0.653	20.7	2.16	0.466	6.9	0.55
Principal component regression	1,4,4,1	0.440	20.7	2.97	0.615	6.9	0.54
	1,10,10,1	0.474	20.7	3.02	0.637	6.9	0.66
	2,4,4,1	0.326	20.7	2.66	0.112	6.9	0.53
	2,10,10,1	0.351	20.7	2.75	0.490	6.9	0.53

¹⁾R²: coefficient of determination in calibration. SEC: standard error calibration.

Math treatment a, b, c, d: a, derivative function; b, gap; c, smooth; d, second smooth.

Table 4. Optimum calibration parameters according to three different regression analysis and four mathematical treatments for protein and amylose content in brown rice¹⁾

Regression analysis	Math treatment	Amylose (%)			Protein (%)		
		R ²	Mean	SEC	R ²	Mean	SEC
Modified partial least squares	1,4,4,1	0.860	20.9	1.40	0.856	7.1	0.35
	1,10,10,1	0.779	20.9	1.80	0.849	7.1	0.36
	2,4,4,1	0.943	20.9	0.90	0.859	7.1	0.37
	2,10,10,1	0.570	20.9	0.45	0.854	7.1	0.35
Partial least squares	1,4,4,1	0.774	20.9	1.79	0.681	7.1	0.56
	1,10,10,1	0.779	21.0	1.77	0.455	7.1	0.69
	2,4,4,1	0.844	20.9	1.49	0.135	7.1	0.87
	2,10,10,1	0.618	20.9	2.32	0.441	7.1	0.74
Principal component regression	1,4,4,1	0.359	20.9	3.00	0.310	7.1	0.77
	1,10,10,1	0.359	20.9	3.00	0.398	7.1	0.73
	2,4,4,1	0.400	20.9	3.09	0.062	7.1	0.90
	2,10,10,1	0.360	20.9	2.99	0.293	7.1	0.83

¹⁾R²: coefficient of determination in calibration. SEC: standard error calibration.

Math treatment a, b, c, d: a, derivative function; b, gap; c, smooth; d, second smooth.

도를 나타내었고 이는 근적외선 범위가 일반 화학성분의 범위보다도 입도 및 물성의 변위에 기인하는 기준선의 변동이 심하고 흡광도가 커질수록 다중산란현상에 의해 흡광도가 증가하기 때문인 것으로 벼(20,21) 및 강낭콩 종실(24)의 NIR분석결과가 보고되어 있다. 또한 Kim과 Kim(28)의 보고에 의하면 starch와 cellulose의 spectrum은 유사하며, cellulose의 peak는 1,450 nm 부근과 2,100 nm 부근에서 나타난다고 하였다. 특히 Song 등(21) 등의 보고에 의하면 1,460 nm 부근은 O-H 2차 배음대, 1,570 nm 부근은 단백질과 관련된 N-H 영역 그리고 1,780 nm 부근은 C-H 기를 갖는 영역에서 차이를 나타낸다고 하였다. 본 실험에서도 유사한 spectrum의 양상을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과들은 Abrams 등(28)과 Clarke 등(29)이 보고한 O-H, C-H, N-H, C=O 등의 관능기는 다양한 화학결합을 나타내며 이를 응용함으로써 근적외선분광법을 이용한 수분, 단백질, 전분, 지방 등의 복수의 성분을 동시에 신속하게 측정할 수 있다고 하였다.

Fig. 2는 1차미분한 spectrum을 대상으로 WINISI II software

(Ver 1.50)의 Score center-select 기능을 이용하여 주성분분석(principal component analysis)을 수행한 후 center sample로부터의 각 시료간 거리(mehalanobis distance)를 구해 중복되는 샘플들을 순차적으로 제거하여 75자원의 모집단을 분석한 결과 Fig. 2과 같은 3차원 도식을 얻을 수 있었다. 벼 상태로부터 얻은 spectrum(Fig. 2, A와 C)은 비교적 넓은 범위에 고루 분포하였으나 현미상태로부터 얻은 spectrum(Fig. 2, B와 D)은 비교적 좁은 범위에 고루 분포하였다. 단백질 함량에 대한 spectrum보다 아밀로스 함량의 spectrum이 공간적으로 고르게 분포하였지만 모두 정규분포의 양상을 보였으며, 이는 자연계에서 흔하게 나타나는 대표적인 시료군의 형태로서 실험치 분포(Table 1)과 비교할 때 거의 일치함을 알 수 있었다.

NIR spectrum 분석을 위한 검량식 작성

Table 3과 Table 4는 벼와 현미 상태로부터 획득한 NIRS spectrum으로부터 protein과 amylose 함량을 예측하기 위한 최적의 검

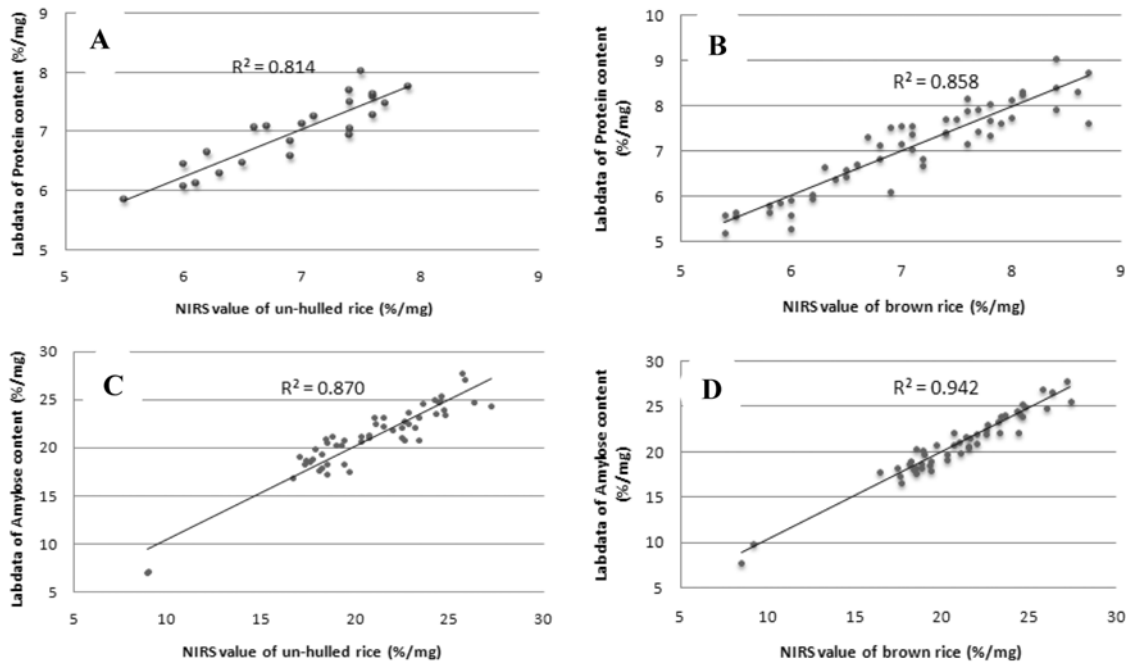


Fig. 3. Correlations between near-infrared reflectance spectroscopy predicted data and experimental data of protein content (un-hulled rice, A; brown rice B) and amylose content (un-hulled rice, C; brown rice D).

Table 5. Calibration and validation results for the protein and the amylose content of un-hulled and brown rice (unit: %/mg)

Constituent	N	Experimental data			Prediction data			RSQ	
		Min	Max	Mean	Min	Max	Mean		
Protein	Un-hulled	74	4.4	9.3	7.1	3.25	10.82	7.04	0.84
	Brown	75	4.4	9.3	7.1	4.02	10.42	7.22	0.94
Amylose	Un-hulled	70	8.5	27.4	20.3	7.36	33.90	20.63	0.86
	Brown	75	8.5	27.4	20.3	6.95	34.38	20.67	0.95

¹⁾N, number of samples in calibration; RSQ (R^2), coefficient of determination in calibration ; Min, Minimum value; Max, Maximum value.

량 식 작성을 위한 회귀분석(regression analysis)과 수 처리(math treatment)방법에 따른 상관계수(R^2)값과 SEC(standard error calibration)값의 차이를 비교하였다.

Table 3에서 벼 상태로부터 얻은 NIRS spectrum을 분석하였을 경우, 다중선형회귀분석법(MPLS)에 의한 미분방식 중에서 1,4,4,1 수 처리방법에 의한 1차 미분 식을 적용시 protein은 R^2 값이 0.871이며 SEC 값이 1.37이었고, amylose는 R^2 값이 0.815이며 SEC 값이 0.29로 가장 유의한 값을 나타내었다.

또한 Table 4에서 현미상태로부터 얻은 NIRS spectrum을 분석하였을 경우, 다중선형회귀분석법에 의한 2,4,4,1 수 처리방법에 의한 2차 미분을 적용 시 protein의 R^2 값이 0.943이며, SEC값은 0.90이었고, amylose의 R^2 값은 0.859이며, SEC 값은 0.37로 높은 유의성을 나타내었다.

최근에는 이러한 NIR분석의 수 처리 방법에 대한 많은 연구가 이루어져 다 중선형회귀 법(multiple linear regression), 주성분 분석법(principal component regression), 부분최소제곱법(partial least square) 등의 통계방법들이 개발되어 물질의 정성뿐만 아니라 정량분석에도 널리 이용되고 있다(30-32).

Fig. 3은 화학적 분석에 의한 단백질과 아밀로스의 함량을 조사한 lab data와 벼 상태 및 현미상태의 NIRS 검량 식에서 얻은 calibration data와의 상관관계를 나타낸 것으로, 단백질의 경우 Fig. 3의 A(un-hulled rice), B(brown rice)에서와 같이 벼나 현미 상태

에 상관없이 한쪽에 치우치지 않고 고르게 분포되어 있었다. 벼 상태의 경우 R^2 가 0.814이었고 현미상태의 경우 R^2 가 0.858로 높은 유의성을 나타내었다. 아밀로스의 경우도 Fig. 3의 C(un-hulled rice), D(brown rice)에서와 같이 저 아밀로스 자원과 고아밀로스 자원이 구분되지만 벼나 현미 상태에 상관없이 한쪽에 치우치지 않고 고르게 분포되어 있으며, 벼 상태의 경우 R^2 가 0.870이었고 현미상태의 경우 R^2 가 0.942로 높은 유의성을 나타내었다.

Table 5은 향미자원으로부터 얻은 단백질과 아밀로스 함량의 실측 데이터(experimental data)와 NIR분석에 의한 예측 데이터(prediction data)에 대한 차이를 나타내었다. 습식분석 데이터와 예측 data의 평균 단백질 함량의 차이는 벼 상태의 경우 0.06이었고 현미상태의 경우 0.12 정도로 근소한 차이를 보였고 평균 아밀로스 함량 차이도 벼 상태의 경우 0.33이었고 현미상태의 경우 0.37로 근소한 차이를 보였다. 그러나 습식분석 데이터와 NIR 분석에 의한 예측데이터의 최소값과 최대값의 변이 폭을 비교하였을 경우, 현미로부터 얻은 단백질의 습식분석 데이터는 4.4-9.3%의 나타내었으나, NIR 분석에 의한 벼 상태에서는 3.3-10.8%, 현미상태에서는 4.0-10.4%로 습식분석 데이터에 비해 넓은 변이 폭을 나타내었다. 아밀로스의 경우도 습식분석 데이터는 8.5-27.4%의 나타내었으나, 벼 상태에서는 7.4-33.9%, 현미상태에서는 6.9-33.4%로 습식분석 데이터에 비해 넓은 변이 폭을 나타내었다.

NIR의 분석방법은 시료의 추출, 여과, 회석 등의 일련의 과정 없이 측정된 시료를 비 파괴적으로 회수가 가능한 장점이 있지만, 습식분석 데이터의 정확성에 의존하여 분석하는 2차적인 분석방법이기 때문에 정확도가 무엇보다 중요하다(33-35). 따라서 본 실험에서는 탈영하지 않은 벼 상태로부터 얻은 NIR spectrum과 습식분석에 이용한 현미로부터 얻은 NIR spectrum을 비교분석하여 시료의 상태에 따른 예측데이터의 변화를 비교분석한 것으로 근적외선스펙트럼을 이용한 벼 유전자원의 화학적 특성을 평가하는데 보다 효율적으로 이용될 수 있을 것으로 판단되며, 품질 평가시스템을 구성하기 쉽고, 분석 시 숙련된 기술을 요하지 않으며, 결과의 해석이 용이할 뿐만 아니라 저비용으로 평가 시스템을 구성할 수 있는 장점을 가지고 있는 것 같다.

요 약

본 연구는 향미 및 다면적 재래 벼 유전자원에 대하여 근적외선 분광분석법을 이용하여, 현미 및 벼 상태의 향미자원으로부터 spectrum을 획득 후, 아밀로스함량과 단백질함량분석을 하고자 실시하였다. 75점의 향미 및 다면적 재래 유전자원의 현미로부터 측정된 단백질함량의 범위는 3.8-9.3%였으며, 평균 단백질함량은 7.1%이고 아밀로스함량의 범위는 8.5-27.4%였으며, 평균 아밀로스함량은 20.3%이었다. 79점의 향미 및 다면적 재래 유전자원에 대한 벼 상태 및 현미상태에서의 NIR 원시 spectrum을 나타낸 것으로 1,490 nm 이상의 파장범위에서 큰 차이를 보였다. NIR 원시 spectrum을 MPLS방법에 의해서 벼 상태로부터 얻은 spectrum은 1,4,4,1수 처리 방법, 현미상태로부터 얻은 spectrum은 2,4,4,1수 처리 방법의 결과가 유의성이 높았다. 벼 상태에 대한 MPLS(1,4,4,1)방법에 의한 R² 및 SEC 값은 protein은 R² 값이 0.871, SEC 값이 1.37이었고, amylose는 R² 값이 0.815, SEC 값이 0.29이었으며, 현미상태의 경우 MPLS(2,4,4,1)방법에 의한 R² 및 SEC 값은 protein은 R² 값이 0.943, SEC 값이 0.90이며 amylose는 R² 값이 0.859, SEC 값이 0.37로 높은 유의성을 나타내었다. 습식분석 데이터와 NIR 예측 data에 대한 차이를 살펴보았더니, 평균 단백질 함량의 차이는 벼 상태는 0.06, 현미상태는 0.12 였고, 평균 아밀로스 함량 차이도 벼 상태는 0.33이었고 현미상태는 0.37로 근소한 차이를 보였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 산학연과정의 도움을 받아 수행하였다.

문 헌

- Choi JS, Ahn HH, Nam HJ. Comparison of nutritional composition in Korea rices. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31:885-892 (2002)
- Gomez KA. Effect of environment on protein and amylose content of rice, chemical spectra of rice grain quality. *IRRI.* 59-68 (1979)
- Choi HC, Hong HC, Nahm BH. Physicochemical and structural characteristics of grain associated with Palatability in Japonica rice. *Korean J. Breeding.* 29: 15-27 (1997)
- Juliano BO. Criteria and tests for rice grain qualities In: *Rice Chemistry and technology.* American Association of Cereal Chemists. pp. 443-524 St. Paul, MN, USA (1985)
- Choi SJ, Choi BY. A study on rice quality-especially, the amylose content of rice. A thesis of graduate schools of Chungnam National University (1974)
- Son JR, Kim JH, Lee JI, Youn YH, Kim JK, Hwang HG, Moon

- HP. Trend and further research of rice quality evaluation. *Korean J. Crop Sci.* 47: 33-54 (2002)
- Natsuga M, Kawamura S, Itoh K. Precision and accuracy of near-infrared reflectance spectroscopy in determining constituent content of grain. *J. Jpn Soc. Agr. Mach.* 54: 89-64 (in Japanese with English abstract)(1992)
- Kawamura, S, Natsuga M, Takekura K, Itoh K. Development of an automatic rice-quality inspection system. *Comput. Elect. Agr.* 40: 115-126 (2003)
- Velasco L, Fernandez-Martinez J, Haro AD. Screening Ethiopian mustard for erucic acid by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 36: 1068-1071 (1996)
- Daun JK, Clear M, Williams P. Comparison of three whole seed near-infrared analyzers for measuring quality components of canola seed. *JAOCS.* 71: 1063-1068 (1994)
- Williams PC, Corderiro HM, Harnden MFT. Analysis of oat bran products by near infrared reflectance spectroscopy. *Cereal Food World* 35: 571-574 (1991)
- Kim YH, Ahn HK, Lee ES, Kim HD. Development of prediction model by NIRS for anthocyanin contents in black colored soybean. *Korean J. Crop Sci.* 53:15-20 (2008)
- Kim KS, Park SH, Chung MG, Jung YS. Use of near infrared spectroscopy for estimating fatty acid composition in intact seeds of rapeseed. *J. Crop Sci. Biot.* 10: 15-20 (2007)
- Lee JC, Yoon YH, Kim SM, Pyo BS, Eun JB. Development of prediction model for total dietary fiber content in brown rice by fourier transform-near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 165-168 (2006)
- Noh MJ, Jeong JI, Min SS, Park YS, Kim SJ. A study on the determination of adulteration of sesame oil by near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 527-530 (2004)
- Kim JM, Choi CH, Min BK, Kim JH. Development of prediction model for moisture and protein content of single kernel rice using spectroscopy. *J. Korean Soc. Agr. Mach.* 23: 49-56 (1998)
- Han CS, Natsuga MY. Development of a constituent prediction model of domestic rice using near infrared reflectance analyzer (I)-Constituent prediction model of brown and milled rice. *J. Korean Soc. Agr. Mech.* 21: 198-210 (1996)
- Han CS, Yon KS, Warashina JR. Development of a constituent prediction model of domestic rice using near infrared reflectance analyzer (II)-Prediction of brown and milled rice protein content and brown rice yield from undried paddy. *J. Korean Soc. Agr. Mach.* 23: 253-258 (1998)
- Kim JS, Cho YH, Gwag JG, Ma KH, Choi YM, Kim JB, Lee JH, Kim TS, Cho JK, Lee SY. Quantitative analysis of amylose and protein content of rice germplasm in RDA-Genebank by near infrared reflectance spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 53: 217-223 (2008)
- Moon SS, Lee KH, Cho RK. Application of near-infrared reflectance spectroscopy in quality evaluation of domestic rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 718-725 (1994)
- Song YJ, Song YE, OH NK, Choi YG, Cho KC. Relationship between near infrared reflectance spectra and mechanical sensory score of commercial brand rice produced in Jeonbuk. *Korean J. Crop Sci.* 51: 42-46 (2006)
- Kwon, YR, Cho SH, Song YE, Lee JH, Cho CH. Nondestructive measurement of chemical compositions in polished rice and brown rice using NIR spectra of hulled rice acquired in transmittance and reflectance modes. *Korean J. Crop Sci.* 51: 451-457 (2006)
- Kwon, YR, Baek MH, Choi DC, Choi JS, Choi YG. Determination of calibration curve for total nitrogen contents analysis in fresh rice leaves using visible and near infrared spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 50: 394-399 (2005)
- Lee HB, Choi BR, Kang CS, Kim YH, Choi YJ. Determination of seed protein and oil concentration in Kidney bean by near infrared spectroscopic analysis. *Korean J. Crop Sci.* 46: 248-252 (2001)
- Juliano BO. A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Sci. Today* 16: 334-340 (1971)
- Cho HJ, Ha HL. Determination of honey quality by near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 576-584 (2002)

27. Kim SS, Kim DC. Quality of rice marketed in Korea. *Food Sci. Biotechnol.* 7: 255-228 (1998)
28. Abrams SM, Shenk JS, Westerhaus MO, Barton FE. Determination of forage quality by near infrared reflectance spectroscopy: Efficiency of broad based calibration equations. *J. Dairy Sci.* 70: 806-813 (1987)
29. Clarke MA, Arias ER, McDonald-Lewis C. Near infra-red analysis in the sugarcane factory. In: Abstracts: Proceeding XXI Congress of ISSCT. March 5-14, Bangkok, Thailand (1992)
30. Chikubu S, Watanabe S, Sugimoto T, Manabe N, Sakai F, Taniguchi Y. Relation between palatability evaluation of cooked rice and physicochemical properties of rice (part2) establishment of palatability estimation formula of rice by multiple regression analysis. *J. Jpn Soc. Starch Sci.* 31: 51-60 (1985)
31. Cho KC. Application of near infra Red spectroscopy in the field of agriculture. *J. Korean Soc. Agric. Mach.* 23: 195-205 (1998)
32. Chung HI, Kim HJ. Near-infrared spectroscopy: Principles. *Anal. Sci. Technol.* 13: 1A-14A (2000)
33. Murray I, Williams PC. Chemica principals of near infrared technology. pp. 17-34. In: *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. P. C. Wiliams K. H. Norris, eds. American Association of Cereal Chemistries: St. Paul, MN, USA (1987)
34. Stephen RD, Mckenzie KS, Webb B. Quality characteristics in rice by near infrared reflectance analysis of whole grain milled samples. *Cereal Chem.* 73: 257-263 (1996)
35. Williams PC, Norris KH. Qualitative applications on near-infrared reflectance spectroscopy. vol. 15. pp. 241-243. In: *Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Williams P, Norris K (eds). AACC, St. Paul, MN, USA (1990)