

근적외선 분광법에 의한 사초의 성분추정

이효원 · 김종덕* · 김원호** · 이종경**

Prediction on the Quality of Forage Crop by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Hyo-Won Lee, Jong Duk Kim*, Won Ho Kim** and Joung Kyong Lee**

ABSTRACT

This study was conducted to find out an alternative way of rapid and accurate analysis of forage quality. Near reflectance infrared spectroscopy (NIRS) was used to evaluate the possibility of forage analysis and collect 258 samples such as barley for whole crop silage, forage corn and sudangrass from 2002 to 2007. The samples were analyzed for CP (crude protein), CF (crude fiber), ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber) and IVTD (*in vitro* true digestibility), and also scanned using NIRSystem with wavelength from 400~2,400nm. Multiple linear regression was used with wet analysis data for developing the calibration model and validate unknown samples. The important index in this experiment was SEC and SEP. r^2 for CF, CP, NDF, ADF and IVTD in calibration set were 0.70, 0.86, 0.94, 0.94 and 0.89, also 0.47, 0.39, 0.89, 0.90 and 0.61 in validation sample, respectively. The results of this experiment indicates that NIRS was reliable analytical method to assess forage quality, specially in CF, ADF and IVTD, sample should be included for respective forage samples to get accurate result. More robust calibrations can be made to cover every forage samples if added representative sample set.

(Key words : Forage, NIRS, CP, ADF, R^2 , SEP, SEC)

I. 서 론

최근 기후변화에 대한 관심이 점점 높아지고 있는 가운데 농업분야도 이에 대한 대응책을 강구하고 있다. 전체 이산화탄소 배출에서 농업분야가 차지하는 비율은 2.2%에 지나지 않으나 00~05년도 평균으로 계산할 때 약 3.9%가 증가한 것으로 보고되었다(이, 2008).

이산화탄소 배출을 줄이면서 성장을 계속하자는 소위 저탄소 녹색성장 정책을 추진 중이

며 농업분야에서는 녹비 작물 확대, 축분 자원화 그리고 질소비료 감축 등을 그 정책으로 제시한 바 있다(조, 2008). 이것은 결국 수입되는 사료자원의 최소화, 이동거리의 근거리화 등과 같이 화석에너지의 소비를 가능하면 적게 하는 것이 필요하며, 이는 앞의 조(2008)가 제시한 방법을 구체화 시키는 것이다(이, 2008).

최근 사육두수의 증가와 함께 조사료의 수요량이 증가하고 있는 추세이며 07년의 조사료 공급량은 국내산이 361만톤이며 99만톤은 수입

한국방송통신대학교 자연과학대학 농학과 (Dept. of Agricultural Science, Korea National Open Univ. Jongro-ku, Seoul, 110-791 Korea)

* 천안연암대학(Cheonan Yonam College, Sunghwan-Eup, Cheonan City, Chungnam, 330-709, Korea)

** 농촌진흥청 국립축산과학원 (National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan, 330-801, Korea)

Corresponding author: Hyo-Won Lee, Dept. of Agricultural Science, Korea National Open Univ. Jongro-ku, Seoul, 110-791 Korea, Tel:+82-2-3668-4634, Fax:+82-2-3668-4187, E-mail: hyowon@mail.knou.ac.kr

산이 차지하고 있는 것으로 추정하고 있다. 그리고 2012년에는 FTA의 영향으로 국내 총조사료 수요량은 611만톤이 될 것이(농진청, 2008)며 이러한 목초의 수입과 각 농가로의 운송은 이산화탄소의 배출로 지구온난화에 기여하는 결과가 된다. 이를 위해서 국내 자급조사료를 합리적으로 이용하는 것이 필요하다.

국내 자급사료는 크게 벼짚, 총채 보리 그리고 각종 목초를 위시한 하계 사료작물로 대별할 수 있으며 청예사료작물은 성장단계나 종류 그리고 생산지에 따라 그 질의 변화가 커서 이의 분석 및 품질의 신속한 평가는 문제점으로 대두되고 있다.

노력을 절약하고 신속하게 시료를 분석할 수 있는 방법이 근적외선분광법(NIRS, near infrared reflectance spectroscopy)의 이용이다. 미국의 경우 위스컨신주 사초시료의 80%, 전 미국 사초 분석의 70%가 이 방법에 의해 분석된다고 한다(Gutknecht, 1999). 이것은 유기물의 판능기인 O-H, N-H, C-H 등의 기준하여 신축진동, 변각진동 등 광에너지 흡수에 따른 각 분자간의 진동에너지 변화에 근거를 스펙트럼을 고찰하여 유기물질의 성분을 분석하는 것이 그 원리이다(김, 1996). 근적외선 분광법은 1960년대부터 컴퓨터 산업의 발전과 더불어 근적외선 스펙트럼의 해석이 가능해지면서 발전하기 시작 현재는 농산물뿐만 아니라 식품, 제약, 섬유와 화학 등에서 널리 이용되고 있다(김과 Barton, 1994). Norris(1976)은 NIRS는 북방형 및 남방형 다년생 사초의 사료가치 평가를 신속, 정확, 정밀하며 그리고 비파괴적인 방법으로 이용할 수 있다고 하였다. 이 방법으로 화이트 클로버의 화학적 조성분석이 수행된 바 있다(Berardo, 1997).

우리나라에서 사초성분추정에 근적외선 분광법은 이 등(1996)에 이탈리아 라이그라스를 재료로 실험하였으며 ADF와 NDF의 RSQ는 0.97로 이 방법에 의하여 성공적으로 성분추정이 가능하였음을 입증한 바 있다. 그 후 이와 박

(2001)는 벼짚의 CP, CF, NDF 그리고 ADF에 대한 검량식을 작성하고 이의 실용성 여부를 보고한 바 있다. 그 후에 사일리지용 옥수수에서 근적외 분광법의 이용의 가능성을 타진하여 사일리지용 옥수수 196점을 이용하여 DM, NDF, ADF, ADL 및 CP에서 RSQ의 값이 0.84, 0.94, 0.91, 0.87 그리고 0.95가 되었다고 발표하였다(박 등, 2006). TMR 사료분석에서도 이 방법을 이 방법의 유용성이 검증되었는데 RSQ는 조단백 0.84, 조지방 0.94, TDN 0.94이라고 하였다(이 등, 2003). 기타 퇴비(고 등, 2001). 음식물 쓰레기 퇴비(이와 길, 2005) 등에 대한 연구결과도 보고된 바 있다. 그러나 근적외선 분광법을 이용한 청예사초의 사료가치 평가에 대한 연구는 거의 없다.

따라서 본 연구는 우리나라에서 청예용으로 이용되는 각종 사초를 수집하여 이를 분석, 근적외선 분광법에 의한 사료가치 추정의 가능성을 검토하고자 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 청예사초의 수집 · 조제

본 실험에 사용된 총 청예사료 시료수는 258점이었으며 2003년과 2007년에 걸쳐 생산된 수단그라스 93점, 답리작에서 생산된 총채보리용으로 각종 두과와 혼파된 것 50점, 이탈리아 라이그라스와 완두 혼파목초 22점, 청예 옥수수 21점, 춘파 귀리 24점 그리고 추파 귀리 28점, 호밀 23점으로 구성되었다. 이 중 검량식 작성에 사용된 것은 84점 그리고 검증용 시료는 청예 호밀 15, 귀리 15점을 합하여 총 30점이 사용되었다.

시료는 대형오븐에 넣어 65℃에서 168시간 건조한 후 건물을 구하고 이를 분쇄하여 화학분석의 재료로 이용하였다. 시료를 건조한 후에 냉각시킨 후 1mm 체에 걸러질 수 있도록 사이클론 분쇄기에 분쇄하였다. 회분은 550℃

에서 6시간동안 회화하여 구하였다. 수분, CF, CP, NDF, ADF는 AOAC (1995) 방법에 의해 분석했고 IVTD는 약 500 kg 홀스타인 반추위에서 섬유질이 함유된 위액 400 ml를 채취하여, 1,600 ml의 Buffer Solution에 혼합하여 DAISY II Incubator (ANKOM Technology)에서 24시간 소화 시킨후 분석하였다.

2. 검량식 작성 및 검증을 위한 파장의 수집

분쇄된 시료는 직경 55 mm인 원형 시료 컵에 약 5g 정도를 충전하여 근적외선 영역의 스펙트럼의 측정이 가능한 근적외선 분광기 (near infrared spectroscopy, NIRSystems 6,500)을 이용하여 400~2500 nm의 파장을 2 nm 간격으로 반사도를 측정하여 수집한 것을 이용하였다.

총 258점의 시료 중 스펙트럼을 통계적 방법으로 같은 성질의 파장은 제외하고 성질이 다른 파장 84개를 선별하여 검량식에 이용하였다. 30개의 시료는 작성된 시료의 정확도를 판정할 검증시료로 사용하였다.

유도된 검량식의 정확도는 다중상관계수 (multiple correlation coefficient, R^2), 검량식 표준오차 (standard error of calibration, SEC), 예측 표준오차 (standard error of prediction, SEP) 등으로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

Fig. 1은 근적외선 분광기를 이용하여 시료에 근적외선을 조사한 후 흡광도로 변화시켜 (log I/R : absorbance) 258개의 시료의 평균 스펙트럼과 표준편차를 나타낸 것이다. 앞의 재료 및 방법에서 설명한 바와 같이 식물체의 특성이 다른 수단, 두과와 총채보리와의 혼파, 이탈리아 안 라이그라스와 완두 혼파, 그리고 청예용 옥수수 등을 시료로 했고 이들의 화학적 구조가 다름에 따라 이들의 파장도 그 특성이 그대로 반영된 것으로 보인다. 이들은 이 등(2003)의

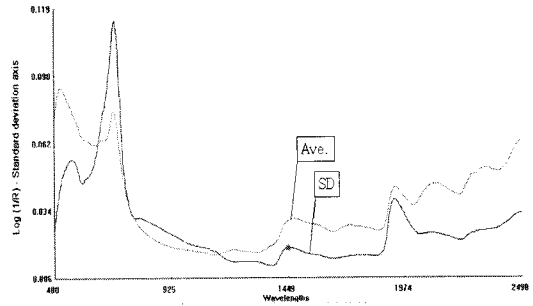


Fig. 1. Average NIR spectrum of all samples (upper) and standard deviation (lower line) (nm).

결과와 유사한 것이었다. 다만 본 실험의 결과는 특히 1,449~2,498 nm 사이에서 그 편차가 특히 큰 것으로 나타났으며 이는 성분의 변이와 관련이 있는 것으로 생각된다. 본 실험의 결과는 음식물 쓰레기 퇴비와 같은 변이가 큰 시료에서도 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타냈다(이 등, 2005).

근적외선 배역대 내에서의 흡수 스펙트럼을 보면 사료가치 평가시 가장 중요한 C-H 결합의 유기물의 흡수는 1,204, 1,726, 2,112 및 2,344 nm 근처에서 흡수가 이루어지고 시료의 수분함량과 관련이 있는 O-H결합의 흡수는 1,427과 1,932 근처에서 주로 흡수되며 단백질은 2,150 nm 영역이 가장 근접한 파장대역이라고 한다(Murray, 1986).

Table 1은 검량식 및 검증식에 사용된 시료의 화학성분을 나타낸 것이다. 조섬유는 23~42% 사이의 성분함량과 표준편차는 4.22%였다. 한편 검량식에 사용된 시료는 같은 조섬유에서 21~33% 사이의 성분함량과 표준편차는 3.1%였다. 기타 조단백질, NDF와 ADF의 성분 범위 및 표준편차도 제시되었는데 NDF의 표준편차가 컸고 또 진정인비트로소화율(IVTD)도 32~63%의 소화율을 나타내어 시료의 변이가 특히 심하다는 것을 보여준다.

검증시료에서도 시료의 함량범위가 넓고 특히 조단백질이 검량식 시료보다 더 높은 단백질 함량을 나타내어 평균 15.36%였다. 또 NDF

Table 1. Chemical composition of various sample for calibration and validation

| | Calibration Set | | | Validation Set | | |
|------|-----------------|-------|------|----------------|-------|------|
| | Range | Mean | SD | Range | Mean | SD |
| CF | 23.99~42.62 | 33.55 | 4.22 | 21.78~33.96 | 28.83 | 3.10 |
| CP | 4.72~18.12 | 10.31 | 2.37 | 11.56~20.29 | 15.36 | 2.25 |
| NDF | 49.92~74.82 | 61.04 | 6.52 | 39.31~68.86 | 55.26 | 8.77 |
| ADF | 30.12~51.74 | 39.14 | 5.45 | 27.08~44.40 | 36.00 | 4.73 |
| IVTD | 32.36~63.63 | 49.43 | 6.89 | 41.42~63.00 | 51.95 | 5.56 |

CF = crude fiber, CP = crude protein, NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber, IVTD = *in vitro* true digestibility.

의 편차가 큰 것은 시료중의 불소화물질의 변이가 상당하다는 것을 말해주며, 이와 함께 진정인비트로 소화율(IVTD)의 표준편차가 5.56으로서 시료가 가소화물의 차이가 많은 시료가 사용되었음을 반증하고 있다. 위의 성분은 이 등(미발표)에 사용된 수입조사료 및 볏짚(NDF, 73.2%) 보다는 더 질이 월등하다는 것을 말해준다.

Table 2는 검량식과 검증식의 검량식 표준오차(SEC)와 다중상관계수(r^2) 그리고 예측표준오차(SEP)를 나타낸 것이다. 표준오차는 그 수치가 적을수록 그리고 다중상관계수는 1에 가까울수록 검량식이 정확함을 나타낸다(Marten 등, 1989). 본 실험의 결과는 조섬유, NDF 및 진정소화율에 있어서 표준편차가 비교적 크며(1.71, 1.23 및 1.93) r^2 은 조섬유에서 가장 낮았고 조단백질과 진정소화율(0.70, 0.86 및 0.89)이 낮았으나 NDF와 ADF는 만족할만한 수준

(0.9 이상)이었다. 또한 검증시료에 이 검량식을 적용시켰을 때 NDF와 ADF에서만 0.89 및 0.90를 나타냈을 뿐 조섬유, 조단백 그리고 진정인비트로 소화율(IVTD)에서는 낮은 결과를 나타내어 이러한 검량식을 적용하여 미지의 시료를 측정하는 데는 적합하지 않다는 것을 암시하고 있다.

한편 고(2004)는 퇴비분석시 질소의 r^2 값이 0.93을 나타내었고, 이 등(2006)에서는 0.94를 또 다른 연구에서는 질소에서 0.93을 나타내어 본 실험보다 월등이 높은 값을 제시하고 있다. 또 소화율인 경우 박 등(2006)은 0.89를 나타내어 본 실험은 0.61 보다 높은 값을 발표한 바 있다. 본 실험과 다른 연구자들과의 차이는 시료의 차이나 검량식 작성에 사용된 회귀식(MPLS, PLS, PCA)을 재적용하거나 또는 보다 많은 검량시료를 사용하여 그 정확도를 높여야 할 것으로 사료된다. 검량시료를 이용하여 만

Table 2. The calibration and validation statistics for the prediction value of various sample

| | Calibration | | | | Validation | |
|------|-------------|-------|------|------|------------|-------|
| | SEC | r^2 | SECV | 1-VR | SEP | r^2 |
| CF | 1.71 | 0.70 | 1.97 | 0.70 | 2.44 | 0.47 |
| CP | 0.56 | 0.86 | 0.73 | 0.85 | 1.76 | 0.39 |
| NDF | 1.23 | 0.94 | 1.39 | 0.95 | 1.36 | 0.89 |
| ADF | 0.84 | 0.94 | 1.16 | 0.94 | 1.49 | 0.90 |
| IVTD | 1.93 | 0.89 | 2.25 | 0.87 | 4.18 | 0.61 |

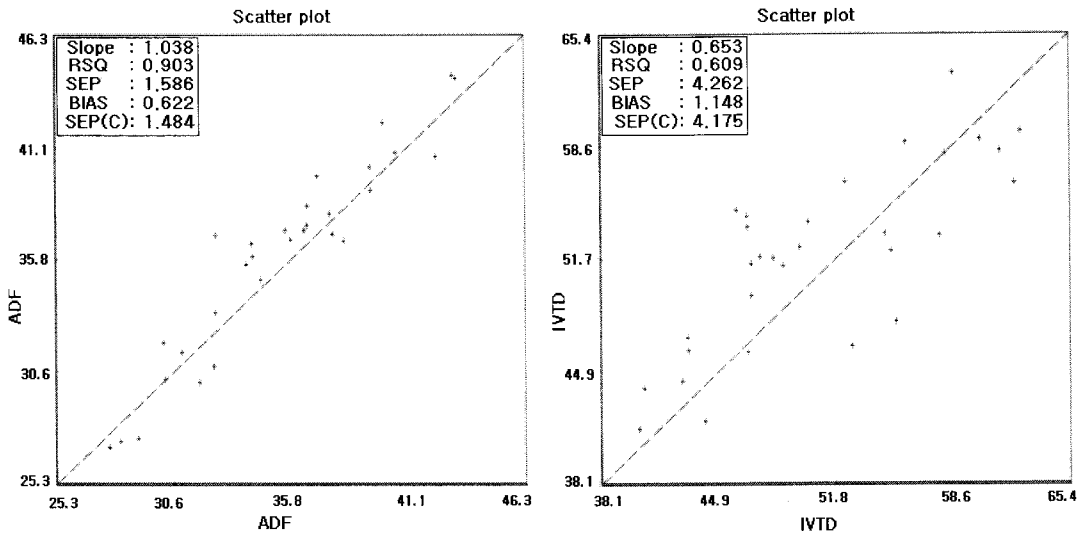


Fig. 2. Relationships between laboratory values and NIR predicted value for ADF and IVTD.

든 회귀식을 검증사료에 적용시켰을 때의 두 변수간의 관계를 그림으로 나타낸 것이 Fig. 2이다. ADF 및 IVTD에 대한 습식분석치와 NIR 분석치 사이의 상관관계가 제시되어 있다.

다섯 성분에 대한 r^2 값이 고도의 상관관계를 나타내지 않은 것은 크게 두 가지로 첫째는 모든 청예사료를 대표할 수 있는 검량사료의 수집과 둘째는 이의 정확한 화학분석이며 이와 같은 문제는 이미 이(2005)에서 제시된 바 있다.

IV. 요약

본 연구는 청예용 사초의 질을 신속하고 정확하게 측정할 수 있는 대안을 모색하기 위하여 수행하였다. 근적외선분광분석법을 이용한 사초의 분석가능성을 타진하기 위해 2002년부터 2007년에 걸쳐 생산된 각종 사초 258점을 시료로 사용하였다. 즉 시료는 조단백질, 조섬유, NDF, ADF 그리고 건물소화율을 분석하였으며, 또한 NIR System으로 400~2,400nm 사이의 파장을 얻었다. 그리고 파장과 습식분석치를 이용하여 중회귀식을 만들고 이것을 사용하여 미지의 시료를 분석할 수 있는가를 검증하

였다. 근적외선 분석법의 중요한 지표인 결정계수 r^2 와 표준오차이며 본 실험의 결과 검증식의 r^2 는 CP (crude protein), CF (crude fiber), ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber) 그리고 IVTD (*in vitro* true digestibility)에서 각각 0.70, 0.86, 0.94, 0.94 그리고 0.89였다. 검량식은 그 값이 0.47, 0.39, 0.89, 0.90 그리고 0.61이었다. 본 실험 결과 근적외선분광법에 의한 청예사료 질평가가 가능하며 특히 조섬유, ADF 그리고 진정한비트로 소화율 (IVTD)에서 유효할 것으로 나타났다. 그러나 보다 정확한 결과를 얻기 위해서는 시료는 한국사초의 대표성을 갖는 것을 수집하여 사용해야 할 것이다. 앞으로 더 많은 시료를 추가하면 모든 사초를 분석할 강고한 검량식이 작성될 수 있을 것으로 기대된다.

V. 사 사

본 논문은 2008년도 한국방송통신대학교 학술연구비의 지원을 받아 작성된 것이며, 이의 지원에 감사드립니다.

VI. 인 용 문 헌

1. 고한중, 최홍림, 이효원. 2001. 근적외선 분광분석법을 이용한 비파괴적인 퇴비의 성분 측정. 한국동물자원과학회지. 43(6) 989-996.
2. 고한중. 2004. 축분퇴비 품질평가를 위한 NIRS 분석법의 적용 및 액비유래 악취, 질산태 질소의 오염원 구명에 관한 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문.
3. 김용옥, F.E. Barton. 1994. 근적외선 분광법을 이용한 제품 담배 판별연구. J. Korean Society of Tobacco Science. Vol. 16. No 3:163-170.
4. 김영봉. 1996. 근적외선 분광분석(NIR)에 의한 식육 및 육제품의 성분 측정에 관한 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문.
5. 농촌진흥청. 2008. 사료비 절감을 위한 조사료 생산 및 이용. 농촌진흥청.
6. 박형수, 이종경, 이효원, 김수곤, 하종규. 2006. 근적외선분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 소화율 및 에너지 평가. 한초지. 26(1):45-52.
7. 이명규. 2008. 한국의 기후변화 국가전략. 농업부 분 기후변화 대응전략에 관한 심포지움. 농촌진흥청.
8. 이효원, 길동용. 2005. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)에 의한 음식물쓰레기 퇴비 분석에 관한 연구. 한국유기농업학회 13(3):281-289.
9. 이효원, 김진동, 한건준, 김동암. 1996. NIRS를 이용한 목초의 품질평가. 1. 근적외선방법을 이용한 이탈리아 라이그래스의 ADF 및 NDF의 검량식 작성과정. 한국방송통신대학교 논문집. 22: 375-385.
10. 이효원, 박형수. 2001. 사료가치 추정을 위한 근적외선 분광법의 이용 연구. 한국방송통신대학교 논문집 32:205-213.
11. 이효원, 박형수, 김종덕. 2001. 사일리지용 옥수수의 근적외 분석에 관한 연구. 동물자원학회지. 43(6):981-988.
12. 이효원, 박형수, 이남진. 2003. 근적외선 분광법 분석법 (near infrared reflectance spectroscopy)을 이용한 TMR의 사료가치 평가에 관한 연구. 대산논총 11집: 177-183.
13. 이종기. 2008. 녹색성장을 위한 농식품부 연구개발과제. 농촌경제연구원.
14. 조백희. 2008. 농업분야 기후변화 대응전략. 기후변화 대응 농업정책과 기술. 농촌진흥청.
15. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (16th Ed). Association of Official Analytical Chemist. Washington, DC, USA.
16. ANKOM Technology. http://ankom.com/00_products/product_daisy.shtml.
17. Bernado, N. 1997. Measuring Italian ryegrass quality by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). In: Murray I. and Cowe I. A. (eds). Making Light Work : Advances in near infrared spectroscopy. pp. 272~276. Weinheim, VCH.
18. Kurt. Gutknecht. 1999. Doubts persist about NIR forage tests. Wisconsin Agriculturist. May. pp. 12-16.
19. Marten, G.C., J.S. Shenk and F.E. Barton. 1989. Near infrared reflectance analysis of forage quality. USDA Agriculture Handbook. No 643 (revised), US Govt. Print. Office, Washington DC, USA.
20. Murray. L. 1986. The NIR spectra of homologous series of organic compounds. Proc. NIR/NIT Conf. Budapest. pp. 13-28.
21. Norris, K.H., R.E.F. Barnes., J.E. Moore and J.S. Shenk. 1976. Predicting forages quality by infrared reflectance spectroscopy. J. Anim. Sci. 43:889-897. (접수일: 2009년 2월 17일, 수정일 1차: 2009년 2월 23일, 수정일 2차: 2009년 3월 12일, 게재확정일: 2009년 3월 16일)