

근적외선분광법을 이용한 수입건초의 이물질 혼입판정 가능성 평가

박형수¹ · 이효원^{2*} · 김지혜¹ · 이상훈¹ · 김종덕³

¹국립축산과학원, ²한국방송통신대학교, ³천안연암대학

Evaluation of the Potential for the Adulteration Screening of Imported Hay by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Hyung-Soo Park¹, Hyo-Won Lee^{2*}, Ji-Hye Kim¹, Sang-Hoon Lee¹, Jong-Duck Kim³

¹National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Korea,

²Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea,

³Cheonan Yonam College, Cheonan 330-709, Korea

ABSTRACT

Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was used to study the potential of adulteration of imported forage. Hay samples were prepared two set; calibration set and validation one. The former were mixed 12 sets from 100% to 50% with Yangcho (Chinese leymus, *leymus chinensis Trin.*) and the latter were adulterated with 6 set of 8% to 38% in 5% interval. Mixed materials with Yangcho were rice straw, reed and alfalfa. Stand error of prediction (SEP) in calibration equation for alfalfa, reed and rice straw were 0.97, 0.97 and 0.99 also 0.54, 0.86 and 1.26%. Multiple correlation coefficient (R^2) for alfalfa, reed and rice straw were 0.99, 0.97 and 0.99. SEP in the same samples were 1.88, 2.15 and 1.49, respectively.

(Key words : NIRS, Hay, Calibration equation, Standard error of prediction)

서 론

최근 초식가축의 사육두수 증가와 국제 곡물가 상승으로 조사료의 수요량이 증가하고 있는 추세이며 2012년 국내 총 조사료 소요량은 560만 톤으로 국내산이 450만 톤, 수입산이 110만 톤으로 국내산 조사료의 생산량 및 재배면적이 점진적으로 증가하고 있다 (MAFRA, 2013). 매년 해외로부터 수입되는 조사료의 물량은 2000년부터 소 사육두수의

증가와 함께 꾸준히 증가하다가 2009년 이후 소폭 감소 추세지만 국내 조사료 작황 부진, 환율변동 등 대내·외적인 환경변화에 따라 변동성이 매우 클 것으로 예상된다.

현재 국내에서 유통되고 있는 수입 조사료의 이용측면에서 가장 큰 문제점으로는 조사료의 품질로 Lee et al.(2001)은 충남지역에 유통되고 있는 8종의 수입 조사료에 대해서 품질을 평가한 결과 알팔파를 제외한 대부분의 수입 조사료가 질이 낮은 저질 조사료 수

*Corresponding author : Hyo Won Lee, Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea, Tel: +82-2-3668-4634, E-mail: hyowon@knou.ac.kr

2014년 10월 4일 투고, 2014년 10월 18일 심사완료, 2014년 10월 19일 게재확정

준이라고 보고한 바 있다. 또한 수입 조사료의 순도(purity)로, 일부 수입 조사료에 불순물이 혼입되었거나 다른 유사 초종이 혼입되어 수입 조사료의 품질 및 유통에 있어서 소비자의 불신을 야기하고 있다.

최근 농산물 유통시장에서 농산물의 품질 및 원산지 진위여부 등이 사회적 이슈로 대두되고 있는데, 근적외선 분광법을 활용한 국산 참기름과 외국산 참기름과의 혼입여부 판별(Noh et al., 2004), 벌꿀의 유사품 혼입 및 설탕 첨가 여부 판별(Cho and Ha, 2002) 등 신속하고 정확하게 농산물의 원산지 및 품질의 진위여부 판별을 위해 근적외선 분광법의 활용에 대한 많은 국내 연구가 보고되고 있다. 특히 축산업의 사료가공분야에서는 최근 광우병의 유발 물질인 콜분의 사료 내 혼입여부를 근적외선 분광법을 이용하여 판정하는 연구결과들이 보고되고 있다(Yang et al., 2008; De et. al. 2007).

일부 외국으로부터 수입되는 조사료 중에 불순물이나 타 초종이 혼입되어 반입되는 사례가 빈번하여 조사료 유통시장의 혼란을 야기하고 있다. 따라서 본 연구의 목적은 수입 조사료 중 불순물이나 타 초종의 혼입 여부 판정을 위해 근적외선 분광법의 활용 가능성을 검토하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

1. 시료수집

국내에 수입되고 있는 조사료는 대부분 건초형태로 특히 중국으로부터 수입량이 증가

하고 있는 조사료 중 양초(Chinese leymus, leymus chinensis Trin.)에 벼짚이나 갈대 등을 혼입하여 유통하는 사례가 많아지고 있다. 따라서 근적외선 분광법을 이용하여 수입산 조사료에서 타 초종의 혼입여부를 판별하기 위하여 국내 유통시장과 농가에서 양초, 갈대, 벼짚 및 알팔파 시료를 수집하였다.

2. NIR 스펙트럼 수집

시료는 근적외선 스펙트럼 수집을 위해 65℃ 순환식 열풍건조기에서 72시간 동안 건조한 후 근적외선 흡광스펙트럼 측정시에 입자크기에 의한 영향을 최소화하기 위해 1mm 체를 가진 Cyclotec sample mill(Tecator, Rodgau, Germany)로 분쇄하여 밀폐된 플라스틱 용기에 보관하였다. 시료는 근적외선 스펙트럼 수집을 위해 직경 55mm인 원형 시료컵에 약 5g 정도를 충전하여 근적외 영역의 스펙트럼이 측정 가능한 근적외선 분광기(NIRSystems 6,500, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여 400~2,500nm의 범위에서 매 2nm의 간격으로 반사도를 측정한 후 검량식 유도를 위해서 흡광도(log 1/R: absorbance)로 변환시켜 수집하였다.

분쇄된 시료는 검량식 작성과 작성된 검량식의 검증을 위해 두 그룹으로 나누었으며 검량식 작성 및 검증을 위한 시료의 조합은 Table 1에서 보는바와 같다.

양초에 타 초종의 혼입여부를 판별하기 위한 검량식 작성으로 위하여 양초:타 초종 비율을 100:0~50%:50%로 5% 차이로 달리 하여 인위적으로 시료를 혼합하여 조제하였

Table 1. Design for Calibration and validation development set.

| Mixed ratio (%) | | Calibration set (n = 36) | Validation set (n = 6) |
|-------------------------------|------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Chinese leymus (‘Yangcho’) | Rice straw | 100~50% (5% difference) | 8,13,18,23,33,38 (rice straw) |
| | Reed | 100~50% (5% difference) | 8,13,18,23,33,38 (reed) |
| | Alfalfa | 100~50% (5% difference) | 8,13,18,23,33,38 (alfalfa) |

으며 검증그룹은 양초와 타 초종 비율을 각각 92:8, 87:13, 82:18, 77:23, 67:33 그리고 62:38 %를 혼합 조제하여 근적외선 스펙트럼을 수집하였다.

3. NIR 검량식 작성 및 검증

검량식 작성을 위해 양초와 벚짚, 갈대, 알팔파의 혼합시료 36개를 이용하여 각각 타 초종별로 검량식을 유도하였으며 작성된 검량식의 정확성을 검증하기 위하여 인위적으로 혼합한 6개의 미지시료를 이용하여 검량식을 검증하였다.

검량식 작성 알고리즘은 시료의 스펙트럼에서 입자의 크기나 수분에 의한 물리적 성질에 의한 산란효과를 Standard Normal Variate and Detrending (SNV-D) 전처리 기법을 이용하여 보정한 후 변형부분최소제곱법 (Modified Partial Least Square)을 이용하여 분석하였다. 또한 모든 통계적 처리는 상업용 프로그램인 WinISI II (V. 1.50, NIRSystem, USA)을 이용하였다. 작성된 검량식의 예측 정확성에 대한 평가에는 검량식 결정계수 (Determination Coefficient, R^2), SEC (Standard Error of Calibration), SECV (Standard Error of Cross Validation)를 이용하였으며 최적의 검량식은 SECV가 가장 낮은 값을 갖는 것을 선택하였다. 또한 작성된 검량식의 검증을 위해 검량식 작성에 이용되지 않은 미지시료를 이용하여 검량식을 검증하였다. 예측된 값들에 대한 정확도는 SEP (Standard Error of Prediction)로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 수입 조사료의 이화학적 특성

국내에 수입되어 조사료로 이용되어지고 있는 양초, 벚짚, 갈대 및 알팔파의 이화학적 특성은 Table 2에서 보는바와 같다. 조섬유 함량은 알팔파가 27.0%로 가장 낮게 나타났으며 벚짚이 33.7%로 가장 높게 나타났다. 조사료의 소화율과 상관관계가 높은 ADF 함량은 벚짚과 갈대가 각각 49.8 및 43.7%로 높게 나타났으며 건물섭취량과 상관관계가 높은 NDF 함량은 알팔파를 제외하고 72~73%로 높게 나타났다. 한편 조단백질 함량은 알팔파가 가장 높았으며 벚짚이 4.5%로 가장 낮게 나타났다. 수입된 조사료의 사료가치는 알팔파를 제외하고는 대부분 양질의 조사료가 아니라는 것을 나타냈으며 그 중 양초의 사료가치가 갈대나 벚짚보다 다소 양호한 것으로 나타났다.

2. NIR 스펙트럼의 특성

분쇄된 시료에 조사된 근적외선이 반사되어 기계적 과정을 거쳐 나타난 것이 스펙트럼인데 내용적으로는 원자의 기준진동과 배음 결합음 진동의 결과가 표출된 것이다. 양초와 벚짚, 갈대 그리고 알팔파가 비율별로 혼합된 시료의 근적외선 분광기에 의해 얻은 원시 스펙트럼은 Fig. 1, 2, 3에서 보는바와 같다. 수입 조사료의 가시광선 영역에서의

Table 2. The chemical composition of the imported roughages.

| Chemical composition | Chinese leymus ('Yangcho') | Rice straw | Reed | Alfalfa |
|----------------------|----------------------------|------------|------|---------|
| Crude fiber (%) | 32.2 | 33.7 | 32.1 | 27 |
| ADF (%) [†] | 33.7 | 49.8 | 43.7 | 31.9 |
| NDF (%) [‡] | 72.9 | 73.2 | 74.5 | 41.9 |
| Crude protein (%) | 8.3 | 4.5 | 7.1 | 15.5 |
| Crude Ash (%) | 5.1 | 12.1 | 8.3 | 6.4 |

[†] ADF : Acid detergent fiber, [‡] NDF : Neutral detergent fiber.

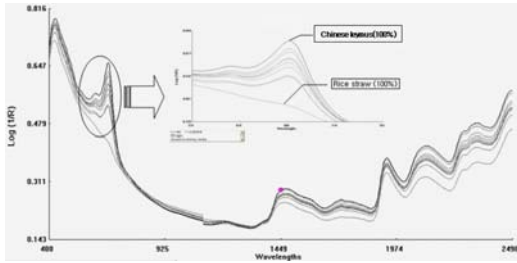


Fig. 1. Visible near infrared spectrum of chinese leymus (upper line) and rice straw (lower line) (wavelength in nm).

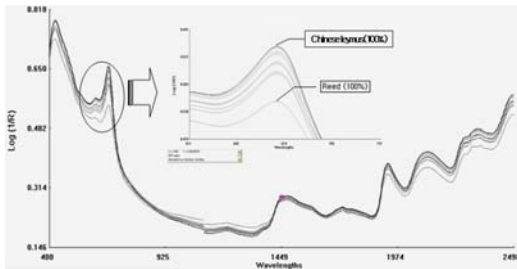


Fig. 2. Visible near infrared spectrum of chinese leymus (upper line) and reed (lower line) (wavelength in nm).

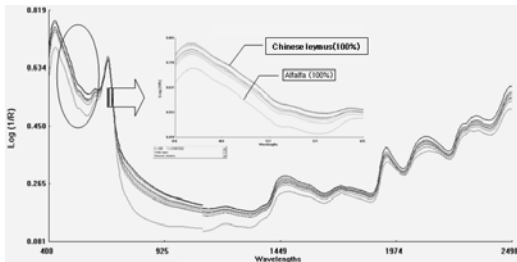


Fig. 3. Visible near infrared spectrum of chinese leymus (upper line) and alfalfa (lower line) (wavelength in nm).

흡수 스펙트럼은 608과 660 nm 근처에서 흡광도의 차이가 있는 것으로 나타났는데 이는 시료 고유의 색택에 의한 것으로 특히 엽록소 a와 b의 흡수에 기인하는 것으로 보고되고 있다 (Jacquemoud and Baret, 1990; Penuelas and Fileela, 1998). 특히 이 파장대역에서는 양초 이외의 타 초종의 혼입율이 높을수록 흡광도의 차이가 뚜렷하게 나타나는데 이는

타 초종이 혼입되었을 경우 혼입 정도를 쉽게 판단할 수 있는 대역으로 판단된다.

또한 조사료에서 중요한 성분은 섬유소와 조단백질이며 조섬유는 C-H결합 1400 nm 2336, 2352 nm에서 피크가 나타나며, 조단백질은 2180 nm 파장이 피크를 보인다고 하였다 (Osborne and Fearn, 1986). 그러나 근적외선 스펙트럼은 각각 성분에 대한 정보가 중첩되어 나타나므로 수학적 처리에 의해서 유용한 정보를 얻을 수 있다고 하였다 (Lee et al., 2001).

3. 검량식 작성 및 검증

양초에 벧짚, 갈대와 알팔파를 각각 일정 비율로 인위적으로 혼입하여 얻은 스펙트럼을 이용하여 검량식을 유도한 결과는 Table 3과 같다. 비록 검량식 작성에 사용된 시료의 수가 적긴 하였으나 그 기준으로 많이 이용되는 다중상관계 (R^2)가 0.97 이상으로 두 변량 간에 고도의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 또한 검량식 작성의 표준오차 (SEC)는 양초에 알팔파가 혼입된 시료에서 0.54%로 가장 낮게 나타났으며 검량식의 상호검증 오차 (SECV)는 갈대가 혼입된 시료에서 2.44%로 가장 높게 나타났다.

최근 근적외선분광법을 이용한 농산물의 순도 및 원산지 판별에 관한 연구 결과가 많이 보고되고 있는데 Kim et. al. (2007)은 근적외선분광법을 이용한 참기름 중 이종식용유지의 판별 가능성을 검토한 결과 참기름에 혼입된 각 식용유지는 들기름 약 2%, 옥수수기름 및 콩기름 약 15~20%, 채종유 약 10% 수준에서 정성 판별 및 정량 분석이 가능한 것으로 보고하였다. 또한 외국에서는 광우병 파동으로 사료내에 골분 및 육분사료의 혼입이 문제시 되었는데 근적외선분광법을 이용하여 사료내에 혼입되어 있는 골분 함량을 SECV 27.89 g/kg으로 정량이 가능하다고 보

Table 3. NIRS calibration statistics for alfalfa, reed and rice straw.

| | Calibration (n = 36) | | | Validation (n = 6) | |
|-----------------------------|----------------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| | R ² | SEC [‡] | SECV [‡] | R ² | SEP [‡] |
| | | % | | | ... % ... |
| Chinese leymus + Rice straw | 0.99 | 1.26 | 1.73 | 0.99 | 1.49 |
| Chinese leymus + Reed | 0.97 | 0.86 | 2.44 | 0.97 | 2.15 |
| Chinese leymus + Alfalfa | 0.97 | 0.54 | 1.55 | 0.99 | 1.88 |

[‡]SEC : Standard error of calibration, [‡]SECV : Standard error of cross prediction, [‡]SEP : Standard error of prediction.

고하였다 (Yang et. al., 2008).

작성된 검량식의 예측 정확성을 평가하기 위하여 미지의 시료를 이용하여 검증한 결과 벗짚이 SEP (예측표준오차) 1.49%, R² 0.99로 가장 우수한 결과를 보였으며 갈대시료가 SEP 2.15%, R² 0.97로 다른 초종에 비해 다소 높게 나타났으나 대체적으로 예측 정확성이 양호한 결과를 보였다.

본 연구의 결과 비록 검량식에 이용된 시료집단의 크기가 작지만 근적외선 분광법을 이용하여 수입 조사료에 타 초종 또는 이물질의 혼입 여부 및 순도를 1~2분 내에 신속하게 판단할 수 있는 가능성이 제시되었다. 향후 추가적인 시료 확보를 통해 더욱더 완성도 높은 검량식을 개발이 필요할 뿐만 아니라 조사료 유통 시장에서 신속한 조사료 품질평가방법으로 인정받기 위해서는 혼입된 타 초종의 종류 식별, 순도의 정확성을 높일 수 있는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

근적외선분광법을 이용하여 수입 조사료 중 불순물 혼입판별의 가능성을 타진하기 위하여 실험이 수행되었다. 주로 중국에서 수입되는 양초에 양초 이외의 이물질로 인위적으로 벗짚, 갈대 그리고 알팔파를 100에서 50%까지 혼합하여 근적외선 스펙트럼을 얻어 실제 혼입비율과 중회귀분석 (MPLS)을 통

하여 검량식을 유도하고 미지의 검증시료를 이용하여 혼입비율의 판별 정확성을 바탕으로 판별여부를 검증하였다. 양초에 벗짚, 갈대 및 알팔파의 각기 다른 혼입비율 따라 작성된 검량식의 결정계수 (r²)와 검량식 표준오차 (SEC)는 0.99, 1.26%, 0.97, 0.86% 및 0.97, 0.54%로 나타났으며 미지의 시료를 이용한 작성된 검량식의 검증 결과의 예측 표준오차 (SEP)는 1.49% (벗짚), 2.15% (갈대) 및 1.88% (알팔파)로 나타났다. 이상의 결과로 근적외선분광법을 이용하여 수입조사료에 혼입된 불순조사료를 판별할 수 있는 가능성을 보여주었다. 보다 정확한 검량식 개발을 위해 다양한 수입조사료와 불순혼입 조사료의 시료확보를 통하여 개발된 검량식의 현장 적용성을 높이기 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구사업 (과제명: 근적외선분광법을 이용한 옥수수, 수수류, 생벼질 사일리지의 품질평가기술 개발, 과제번호: PJ009369012014)의 지원에 의해 연구되었다.

인 용 문 헌

1. Kim, J.K., Kim, J.C., Ko, H.U., Lee, J.B., Kim, Y.S., Park, Y.B., Lee, M.J., Kim, M.G., Kim, K.A., Park, E.M., 2007.

- Quantitative analysis of contents of vegetable oils in sesame oils by NIRS. *J. Fd Hyg. Safety.* 22(4), 257-267.
2. Noh, M.J., Min, S.S., Park, Y.S., Kim, S.J., 2004. A study on the determination of adulteration of sesame oil by near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36(4), 527-530.
 3. MAFRA., 2013, The measure for revitalization of forage production and utilization.
 4. Lee, H.S., Lee, Y.D., Park, D.S., Park, Y.J., Kim, S.K., Keum J.S., 2001. A study on the nutritive value of distributed roughage in domestic market. *Korean Grassl. Sci.* 21(3), 109-114.
 5. Lee, H.W., Park, H.S., Kim J.D., 2001. Studies on near infrared reflectance spectroscopy(NIRS) analysis of corn for silage. *J. Anim. Sci. and Technol.* 43(6), 981-988.
 6. Cho, H.J, Ha, Y.L., 2002. Determination of honey quality by near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34(3), 356-360.
 7. De, M.J., Fernandez P.J.A., Fumiere, O., Garrido-Varo, A., Guerrero, J.E., Petez-Marin, D.C., Dardenne, P., Baeten, V., 2007. Discrimination of fish bones from other animal bones in the sedimented fraction of compound feeds by near infrared microscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 15, 81-88.
 8. Jacquemoud, S., Baret, F., 1990. Prospect : A model of leaf optical properties spectra. *Remote Sensing Environ.* 34, 75-91.
 9. Osborne. B. G., Fearn, T., 1986. *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis.* Longman Scientific & Technical, U.K.
 10. Penuelas, J., Fileela, I., 1998. Visible and near infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in Plant Science.* 3, 151-156.
 11. Yang, Z., Han, L., Liu, X., Li, Q., 2008. Detecting and quantifying meat meal or meat and bone meal contamination in fishmeal by visible and near infrared reflectance spectra. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 147, 357-367.