신속한 이탈리아라이그라스 사일리지의 품질평가를 위한 소형 근적외선분광기 (NIRS)의 현장 적용성 평가

박형수¹ · 이상훈¹ · 김종근¹ · 최기춘¹ · 서 성¹ · 김원호¹ · 이효원² · 임영철¹

Evaluation of Field Application of Portable Near Infrared Reflectance Spectrometer (NIRS) for Quality Evaluation of Italian Ryegrass Silages

Hyung Soo Park¹, Sang Hoon Lee¹, Jong Gun Kim¹, Ki Choon Choi¹, Sung Seo¹,
Won Ho Kim¹, Hyo Won Lee² and Young Chul Lim¹

ABSTRACT

This study evaluated the feasibility of using a portable near infrared reflectance spectrometer working in the 900~1,600 nm range for the measurement of quality-related parameters (moisture, pH, Acid detergent fiber (ADF), Neutral detergent fiber (NDF), Crude protein (CP), lactic acid) in intact silage. The calibration result for the Phazir (handheld, Polychromix) was compared with the result for the Spectrastar (Lab. based, Unity). A total of 67 Italian ryegrass silages were used to build calibration models using different spectral signal pre-treatments and the partial least squares regression (PLS) method. The good calibration statistics in two instruments was obtained for moisture content of Italian ryegrass silages with over $R^2=0.95$. The Phazir spectrometer was less accurate in measuring of ADF, NDF and CP contents. The Spectrastar instrument yielded greater precision for pH and lactic acid content; statistic values were over $R^2=0.82$ and the standard error of calibration (SEC)=0.21% and 0.24%. Thus, the NIR measurement of forage quality in the field by portable NIR analyzers was shown not to be feasible, but additional investigations are required to discern the key instrumental and operational parameters that may influence the portable NIR measurement.

(**Key words** : NIRS, Forage quality, Portable NIRS, Field application)

I. 서 론

초식가축의 사육두수 증가와 국제 곡물가격 상승으로 조사료의 수요량이 급격히 증가하고 있는 추세이며 조사료의 장기저장 기술개발·보급 등으로 국내산 조사료의 유통시장이 빠르게 성장하고 있으나 국내에 적합한 조사료 품

질평가체계 구축이 미흡하여 조사료의 유통활성화와 유통시장 확대에 가장 큰 걸림돌로 대두되고 있다. 현장에서 조사료의 품질평가는 주로 외관이나 경험 등 비과학적 방법으로 평가됨으로서 조사료의 유통시장에서 생산자와 소비자 서로가 품질에 대한 신뢰도가 낮아 국내산 조사료의 유통 활성화에 장애요인으로 나

¹ 국립축산과학원 (National Institute of Animal Science RDA, Cheonan 330-801, Korea)

² 한국방송통신대학교 (Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea)

Corresponding author : Hyung-Soo, Park, National Institute of Animal Science RDA, Cheonan 330-801, Korea.

Tel: +82-41-580-6753, Fax: +82-41-580-6779, E-mail: anpark69@korea.kr

타나고 있다. 따라서 국내산 조사료의 품질에 대한 신뢰도 회복을 위해서는 신속하고 정확한 조사료 품질평가체계 구축과 현장에서 직접 품질을 평가할 수 있는 평가 시스템 구축이 필요하다.

농산물의 품질평가는 주로 실험실에서 습식 분석을 통하여 이루어지고 있으나 분석을 위한 시간과 경비가 많이 소요되어 현장에서 분석결과를 활용하는데 많은 어려움을 겪고 있다. 최근 농업분야에서 신속하고 비파괴분석법으로 근적외선분광법 (Near Infrared Reflectance Spectroscopy, NIRS)이 농산물 품질평가에 많이 활용되고 있는데 근적외선 분광법을 활용한 국산 참기름과 외국산 참기름과의 혼입여부 판별(노 등, 2004), 벌꿀의 유사품 혼입 및 설탕 첨가 여부 판별(조 및 하, 2002) 등 신속하고 정확하게 농산물의 원산지 및 품질의 진위여부 판별을 위한 근적외선 분광법의 활용에 대한 많은 국내 연구가 보고되고 있다.

외국의 경우 근적외선분광법의 현장 적용성을 확대하기 위해 다양한 형태의 휴대용 또는 소형 근적외선분광기가 개발되어 현장에서 직접 농산물의 품질 평가에 이용되고 있다

(Dolores et al., 2010). 국내의 경우 생산현장에서 각종 과실류의 당도를 근적외선분광법을 이용하여 비파괴적으로 측정하여 당도별로 선과할 수 있는 기술이 개발 보급되고 있다(손 등, 2008;최 등, 2000).

조사료 분야에서는 조사료의 사료가치를 평가할 수 있는 근적외선분광법의 검량식 개발에 대한 연구결과들은 많이 보고되고 있으나 현장에서 직접 품질을 평가할 수 있는 현장 적용성 확대를 위한 기반연구는 아직 미진한 실정이다.

따라서 본 연구는 조사료의 품질을 생산현장에서 직접 측정할 수 있는 근적외선분광기의 개발을 위한 소형 근적외선분광기의 현장 적용성을 평가하기 위하여 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 근적외선분광기의 특성

국내산 조사료의 생산현장에서 신속한 품질 평가 방법으로 소형 근적외선분광기의 활용성을 검토하기 위하여 실험실용 근적외선분광기와 휴대용 소형근적외선분광기의 특성은 Table 1에

Table 1. Specification of Spectrastar (Lab. based) and Phazir (Handheld) near infrared instrument

Product model	Spectrastar (Lab. based)	Phazir (Portable handheld)

Company	Unity (USA)	Polychromix (USA)
Light source	Tungsten Halogen	Tungsten bulb
Detector	InGaAs	InGaAs
Wavelength range	680~2,500nm	900~1,600nm
Measuring time	0.8 sec	1~2 sec
Analysis time	10~60 sec	5 sec
Dimension	330 * 368 * 381mm	254 * 292 * 152mm
Weight	13.6kg	1.8kg

서 보는바와 같다.

2. 시료 및 NIR 스펙트럼 수집

본 실험의 공시시료는 2010년 봄철에 수확되어 조제된 이탈리아 라이그라스 사일리지로 전라남도 조사료 생산 지역에서 67점의 시료를 수집하였다. 수집된 시료는 밀봉하여 -20°C 냉동고에 보관하였다. 시료는 근적외선 스펙트럼 수집을 위해 5°C 냉장고에서 해동하여 식물체를 가위로 5~7 cm 정도로 절단하여 직경 15 cm인 원형 시료컵에 약 100 g 정도를 충전하여 실험실용 근적외선분광기(Spectrastar RTW 2,500, Unity, USA)를 이용하여 680~2,500 nm의 파장 범위에서 매 1 nm의 간격으로 반사도를 측정한 후 검량식 유도를 위해서 흡광도($\log 1/R$: absorbance)로 변환시켜 수집하였다. 휴대용 근적외선분광기(Phazir, Polychromix, USA)의 스펙트럼 수집은 실험실용 근적외선분광기에 사용된 동일한 시료를 900~1,600 nm 파장 범위에서 스펙트럼을 수집하였다.

3. 이탈리아 라이그라스의 사료가치 분석

이탈리안 라이그라스의 조단백질 함량은 AOAC (1990)법에 의거하여 Kjeldahl법(KjeltecTM 2400 Autosampler System)을 이용하여 분석하였고 NDF 및 ADF 함량은 Goering 및 Van Soest (1970)법에서 사용되어지는 시약을 이용하여 Ankom fiber analyzer (Ankom technology, 2005a; 2005b)로 분석하였다.

사일리지의 pH 측정은 시료 25g에 증류수 255 ml을 첨가하여 잘 혼합하여 electrometric pH meter (HI 9024; HANNA Instrument Inc., UK)를 이용하여 측정하였다. 질산 분석은 사일리지 추출액을 gas chromatography (6890N, Agilent Co., USA)를 이용하여 Fussell 및 McCalley (1987)가 제시한 80/120 mesh Carbowax, B-DA/4% Carbowax (Supelco Inc., Bellefonte, PA,

Catalog No. 1-1889) 컬럼을 이용하여 분석하였다.

4. NIR 검량식 작성

검량식 작성 알고리즘은 시료의 스펙트럼에서 입자의 크기, 수분, 밀도 등 물리적 성질에 의한 산란효과에 대한 오차를 줄이기 위해 원시스펙트럼을 Standard Normal Variate and Detrending (SNV-D) 전처리 기법과 수처리(Math treatment) 기법을 이용하여 보정하고 회귀분석은 변형부분최소제곱법(Modified Partial Least Square)을 이용하여 검량식을 유도하였다. 통계적 처리는 실험실용 근적외선분광기는 상업용 프로그램인 Unistar Ucal (Unity, USA)를 이용하였고 휴대용 소형 근적외선 분광기는 상업용 프로그램인 Phazir MG (ver. 1.60, Polychromix, USA)를 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 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. NIR 스펙트럼의 특성

수집된 시료에 조사된 근적외선이 반사·투과되어 기계적 과정을 거쳐 나타난 것이 스펙트럼인데 내용적으로는 원자의 기준진동과 배음 및 결합음 진동의 결과가 표출된 것이다. 수집된 이탈리아 라이그라스의 시료에 대한 실험실용 근적외선분광기와 소형 근적외선분광기의 원시 스펙트럼은 Fig. 1에서 보는바와 같다.

근적외선분광법은 흡수되는 빛의 파장과 흡수강도를 이용하여 분석하는 방법으로 근적외선분광기는 650~2,500 nm 파장영역까지 측정이 가능하고 소형 근적외선분광기는 900~1,600 nm 파장영역까지 측정이 가능한 것으로 나타났다.

Fig. 1. Original spectrum of Lab. use NIR spectrometer (a) and portable NIR spectrometer (b) for Italian ryegrass silages.

이탈리안 라이그라스의 시료는 사일리지 형태로 수분함량이 높은 시료로 실험실용 근적외선 분광기의 원시 스펙트럼에서는 1,460 nm 대역 1차 배음 및 1,940 nm 결합대역에서 수분특성 피크가 가장 크게 나타났으며 소형 근적외선 분광기는 970 nm 대역과 1,400 nm 대역에서 가장 큰 수분특성 피크를 나타냈다. 또한 조사료에서 중요한 성분인 조섬유는 C-H 결합으로 1,400, 2,336, 2,352 nm에서 피크가 나타나며, 조단백질은 2,180 nm 대역에서 피크를 보인다고 하였다 (Osborne, 1986). 그러나 근적외선 스펙트럼은 각각 성분별에 대한 정보가 중첩되어 나타나므로 수학적 처리 즉 스펙트럼의 미분법을 통하여 유용한 정보를 얻을 수 있다고 하였다 (이 등, 2001).

2. 시료의 특성

검량식 유도를 위해 이용되어진 이탈리안 라이그라스 사일리지의 시료집단에 대한 발효품질과 사료가치에 대한 통계치는 Table 2에서 보는바와 같다. 사일리지의 발효품질의 평가지표인 수분, pH 및 젖산함량의 평균값은 각각 61.3%, 4.78 및 1.23%로 나타났으며 수분함량의 평균값이 61.3%로 일반 사일리지의 수분함량과 비슷한 경향을 보였으나 표준편차가 12.89%로 다소 크게 나타나 수집된 시료집단의 변이가 큰 것으로 나타났다. 이 등 (2009)은 전국 33개 농가에서 수집한 청보리 사일리지의 발효품질과 사료가치를 평가 하였는데 젖산함량을 제외하고는 본 연구 시료집단의 성분분포와 비슷한 결과를 나타내었다.

Table 2. Statistical value on moisture, pH, lactic acid, ADF, NDF and crude protein value for collected Italian ryegrass

Component	N	Minimum	Maximum	Average	Standard deviation
Moisture (%)	66	33.45	79.59	61.31	12.89
pH (1:5)	67	3.81	5.79	4.78	0.49
Lactic Acid (%)	59	0.31	2.34	1.23	0.59
ADF (%)	66	34.78	47.57	41.03	2.95
NDF (%)	66	53.14	71.97	62.95	3.94
Crude protein (%)	66	4.6	11.37	7.28	1.56

* ADF : Acid detergent fiber, NDF : Neutral detergent fiber.

이탈리안 라이그라스의 사료가치의 평가지표인 ADF, NDF 및 조단백질 함량의 평균값은 각각 41.03, 62.95 및 7.28%로 나타났으며 조단백질 함량의 경우 4.6~11.7%로 변이 폭이 상당히 큰 것으로 나타났다.

3. 검량식 유도 및 예측 정확성 평가

이탈리안 라이그라스 사일리지 시료 (n=68)의 근적외선 스펙트럼과 실험실 습식분석 결과를 이용하여 회귀분석을 통해 검량식을 유도한 결과는 Table 3에서 보는바와 같다.

개발된 검량식의 이탈리안 라이그라스 사일리지의 수분함량에 대한 예측정확성은 실험실용 근적외선분광기와 소형 근적외선분광기에서 각각 $SEC = 2.50\%$ ($R^2=0.96$), $SEC = 2.83\%$ ($R^2 = 0.95$)로 매우 신뢰성이 우수한 결과를 나타내었다 (Fig. 2). Cozzolino 등 (2000)은 근적외선분광법을 이용하여 옥수수 전 식물체의 건물함량 측정된 결과를 $SEC = 9.1\text{kg}^{-1}$, $R^2 = 0.95$ 로 본 연구결과와 비슷한 결과를 보고하였다. 근적외선 분광법을 이용한 조사료의 수분/건물함량 측정을 위한 검량식 작성 결과는 연구자들에 따라 매우 다양하게 나타나는데 이는 조사료 내 수분함량을 측정하기 위한 방법이 연구자들마다 다르고 또한 시료의 전처리 과정 동안 수

분함량의 불분명한 변화들 때문이라고 하였다 (Windham, 1987; Williams, 1987).

사일리지의 발효품질의 주요 평가항목인 pH와 젖산함량은 실험실용 근적외선분광기의 결과가 $SEC = 0.21$ ($R^2 = 0.82$), $SEC = 0.24\%$ ($R^2 = 0.83$)로 소형 근적외선분광기의 $SEC = 0.37$ ($R^2 = 0.42$), $SEC = 0.39\%$ ($R^2 = 0.54$) 보다 우수한 결과를 나타내었다 (Fig. 3). Park 등 (1998)은 화본과 목초 사일리지의 생시료에 대한 pH 측정은 $SECV = 0.14$ $R^2 = 0.85$ 로 본 연구결과와 비슷한 결과를 보였으나 Sinnaeve 등 (1994)은 혼파 목초 사일리지의 pH를 $R^2 = 0.90$ 으로 본 연구결과 보다 우수한 신뢰성을 나타내었다.

조사료에서 ADF와 NDF 함량은 조사료의 사료 가치를 평가하는 주요한 지표로서 실험실용 근적외선분광기의 예측 정확성이 각각 $SEC = 0.59\%$ ($R^2 = 0.96$), $SEC = 0.74\%$ ($R^2 = 0.97$)로 높게 나타났으며 조단백질 함량도 실험실용 근적외선분광기의 예측정확성이 높게 나타났다 (Fig. 4). Cozzolino 등 (2000)은 근적외선분광법을 이용하여 사일리지용 옥수수 전 식물체 (whole plant)의 NDF 함량을 측정된 결과 $SECV = 3.4\%$ ($R^2=0.96$)로 본 시험의 결과와 비슷한 결과를 보였으나 박 등 (2006)은 옥수수 사일리지를 건조 분쇄하지 않고 생시료의 ADF와 NDF 함량을 직접 측정한 결과 각각 $SEC = 1.80\%$

Table 3. Calibration results for fermentation quality and chemical contents of Italian ryegrass silages using spectral data measured with Spectrastar (Lab. based) and Phazir (Handheld)

Component	n	Spectrastar (Lab. based)			Phazir (Handheld)	
		SEC*	R^{2**}	SECV**	SEC	R^2
Moisture (%)	65	2.50	0.96	2.66	2.83	0.95
pH (1:5)	67	0.21	0.82	0.31	0.37	0.42
Lactic Acid (%)	59	0.24	0.83	0.66	0.39	0.54
ADF (%)	66	0.59	0.96	2.34	1.89	0.58
NDF (%)	66	0.74	0.97	3.14	2.58	0.56
Crude protein (%)	66	0.67	0.82	0.98	1.31	0.28

* SEC : Standard error of calibration.

** R^2 : Multiple correlation coefficients of calibration.

*** SECV : Standard error of cross validation.

Fig. 2. Relationships between NIR predicted and reference values for moisture (%), using two NIRS instruments tested.

Fig. 3. Relationships between NIR predicted and reference values for lactic acid (%), using two NIRS instruments tested.

Fig. 4. Relationships between NIR predicted and reference values for ADF (%), using two NIRS instruments tested.

($R^2=0.80$), $SEC=3.21\%$ ($R^2=0.72$)로 본 연구결과보다 다소 낮은 예측 정확성을 보고하였다.

본 연구결과를 종합해보면 이탈리아인 라이그

라스 사일리지의 발효품질 및 사료가치의 평가를 위해 서로 다른 근적외선 분광기의 예측 정확성을 비교한 결과 수분함량을 제외하고는 나

머지 품질평가 항목에서 소형 근적외선분광기의 예측 정확성이 낮은 것으로 나타났다. 이는 휴대용 소형 근적외선분광기의 스펙트럼 수집에 대한 파장범위가 실험실용 근적외선분광기보다 좁고 시료의 정보를 측정할 수 있는 시료의 측정 면적, 스캔 방식 등 측정방법에 대한 차이에 의해서 발생된 것으로 판단된다. 실험실용 근적외선 분광기의 경우 측정 시료를 20~30회를 회전시키면서 측정시료의 모든 범위의 정보를 스캔하는 방식인 반면 소형 근적외선분광기는 특정부위에 대해서만 스캔이 이루어져 품질의 변이가 상대적으로 큰 조사료의 경우 측정부위에 따라서도 측정 오차가 크게 발생할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 소형 근적외선분광기가 조사료 생산 현장 및 유통시장에서 신속한 조사료 품질평가 방법으로 활용되기 위해서는 식물체 전체의 성분을 측정할 수 있는 시료의 전처리방법 및 스캔 방법 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

IV. 요약

본 연구는 최근 조사료의 신속한 품질평가 방법으로 근적외선 분광법의 이용성이 확대되고 있는 시점에 근적외선 분광기의 현장 적용성을 평가하기 위하여 수행되었다. 실험실용 근적외선분광기와 소형 근적외선분광기의 조사료 품질평가의 예측 정확성을 평가하기 위하여 전남지역에서 이탈리아 라이그라스 사일리지 67점을 수집하여 각각의 근적외선 분광기를 이용하여 스펙트럼을 측정한 후 사료가치의 실험실 분석값과 다변량회귀분석을 통하여 검량식을 유도하여 예측 정확성을 평가하였다. 이탈리아 라이그라스 사일리지의 수분함량에 대한 예측정확성은 실험실용 근적외선분광기와 소형 근적외선분광기에서 각각 $SEC = 2.50\%$ ($R^2=0.96$), $SEC = 2.83\%$ ($R^2=0.95$)로 매우 신뢰성이 우수한 결과를 나타내었으나 사일리지의 발효품질의 주요 평가항목인 pH와 젖산함량은 실험실용

근적외선분광기의 결과가 $SEC = 0.21\%$ ($R^2=0.82$), $SEC = 0.24\%$ ($R^2=0.83$)로 소형 근적외선분광기보다 우수한 결과를 나타내었다. 또한 ADF, NDF 및 조단백질 함량은 실험실용 근적외선분광기의 예측 정확성이 각각 $SEC = 0.59\%$ ($R^2=0.96$), $SEC = 0.74\%$ ($R^2=0.97$), $SEC = 0.67\%$ ($R^2=0.82$)로 높게 나타났다.

V. 인용문헌

1. 노미정, 정진일, 민승식, 박유신, 김수정. 2004. 근적외선 (NIR) 분광분도계에 의한 참기름의 진위판별에 관한 연구. 한국식품과학회지. 36(4): 527-530.
2. 박형수, 이종경, 이효원, 황경준, 정하연, 고문석. 2006. 시료 전처리 방법이 근적외선분광법을 이용한 옥수수 사일리지의 화학적 조성분 평가에 미치는 영향. 한국초지학회지. 26(1):53-62.
3. 손재룡, 이강진, 강석원, 최완규. 2008. 근적외선 분광특성을 이용한 포도의 당도판정. 한국산업식품공학회지. 12(4):263-268.
4. 이종경, 김종덕, 이현진, 전경협, 김종근, 서 성, 정민웅, 최진혁, 조남철, 박형수, 김원호, 임영철. 2009. 2008년도 사일리지 품질경연대회에 출품한 청보리의 품질 평가. 한국초지조사료학회지. 29(4):345-354.
5. 이효원, 박형수, 김종덕. 2001. 사일리지용 옥수수의 근적외 분석에 관한 연구. 동물자원학회지. 43(6):981-988.
6. 조현종, 하영래. 2002. 근적외선 분광법을 이용한 벌꿀의 품질평가. 한국식품과학회지. 34(3):356-360.
7. 최규홍, 한영수, 이강진, 최동수, 윤진하. 2000. 근적외선 및 영상처리를 이용한 사과선별기 개발. 한국농업기계학회. 2000년 동계학술대회논문집. P 436-444.
8. ANKOM Technology. 2005a. Method for determining neutral detergent fiber. ANKOM Technology, Fairport, NY. http://www.ankom.com/09_procedures/procedures2.shtml. Accessed May 8, 2005.
9. ANKOM Technology. 2005b. Method for determining acid detergent fiber. ANKOM Technology, Fairport, NY. <http://www.ankom.com/>

- 09_procedures/procedures1.shtml. Accessed May 8, 2005.
 10. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
 11. 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.
 12. Dolores Perez-Marin, Patricia Paz, Jose-Emilio Guerrero, Ana Garrido-Varo, and Maria-Teresa Sanchez. 2010. Miniature handheld NIR sensor for the on-site non-destructive assessment of post-harvest quality and refrigerated storage behavior in plums. *Journal of Food Engineering.* 99:294-302.
 13. Fussel, R.J., D.V. McCalley. 1987. Determination of volatile fatty acids (C2-C5) and lactic acid in silage by gas chromatography. *Analyst.* 112:1213-1216.
 14. Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analysis. *Agric. Handb.* 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.
 15. Osborne, B.G. and T. Fearn. 1986. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis. Longman Scientific & Technical. U.K.
 16. Park, R.S., F.J. Gordon, R.E. Agnew, 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.
 17. Sinnaeve, G., P. Dardenne, R. Agneessens, and R. Biston. 1994. The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2:79-84.
 18. 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: American Association of Cereal Chemists Inc. pp.143-167.
 19. Windham, W.R., J.A. Robertsons and R.G. Leffler. 1987. A comparison of methods for moisture determination of forages for near infrared reflectance spectroscopy calibration and validation. *Crop Sci.* 27: 777-783.
- (접수일: 2011년 9월 21일, 수정일 1차: 2011년 10월 7일, 수정일 2차: 2011년 10월 31일, 게재확정일: 2011년 12월 13일)