

근적외선 분광분석법(Near Infrared Reflectance System; NIRS)을 이용한 TMR의 사료가치 평가에 관한 연구

이효원* · 박형수* · 이남진**

(*한국방송통신대학교 · **퓨리나 코리아)

The Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy(NIRS) to Predict Feed value of Total Mixed Ration(TMR)

Lee, Hyo-Won* · Park, Hyung-Soo* · Lee, Nam-Jin**

*Dept. of Agricultural Science, Korea National Open University

** Agribbrands Purina Korea, Inc.

적 요

본 연구는 TMR의 화학적 구성분 및 사료가치를 신속 정확하고 비파괴적인 근적외 분광분석법으로 측정하여 시간과 경비가 많이 소요되는 기존의 화학적 방법을 대체할 수 있는 가능성을 타진함과 동시에 더욱 강력한 검량식을 작성하기 위하여 수행되었다.

TMR 시료는 경기도 일원에서 유통되고 있는 TMR 시료 250점을 수집하여 화학적방법에 의한 분석치와 근적외 분광분석에 의한 스펙트럼 자료를 중회귀분석을 행한 결과 검량식의 평가기준인 검량식 결정계수(R²)과 검량식 표준오차(SEC)는 CP, Crude fat, ADF, NDF 및 TDN에서 각각 0.84(SEC 0.28), 0.94(1.74), 0.91(0.74), 0.87(0.43) 및 0.95(0.14)로 나타났다. 유도된 검량식의 정확도를 평가하기 위하여 검량식 작성에 사용되지 않은 미지시료를 이용하여 검증을 실시한 결과 검정표준오차(SEP)는 각각 DM 0.33, NDF 1.79, ADF 0.70, ADL 0.41 및 CP 0.10%의 오차로 각 성분을 측정할 수 있음이 밝혀졌다.

이상의 결과를 종합해볼 때 근적외선 분광분석법을 이용한 TMR의 사료가치 평가는 특별한 시료의 전처리 없이 신속하고 동시에 다성분 측정이 가능한 것으로 판단된다. 반면 다소 부정확한 검량식은 모든 조건을 고려할 수 있는 시료의 선택 방법 및 정확한 화학적분석방법을 충분히 고려하여 검량식 재작성이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 직접 현장에서 이용 가능한 검량식을 작성하기 위해서는 시료의 선별, 시료의 상태에 따른 스펙트럼 수집방법, 정확한 습식분석, 중첩되어진 흡광스펙트럼의 해석 및 통계 알고리즘의 개발에 관한 연구가 병행되어야 할 것이다.

I. 서론

TMR(Total Mixed Ration)이 국내에 소개되어 이용되면서 '완전혼합사료'라는 명칭으로 통용되어오다, 최근 사료관리법의 개정을 통하여 TMR이 단미사료의 범주가 아닌 배합사료 범주에 포함되면서 그

명칭을 '반추가축용 섬유질배합사료'라고 불리게 되었다. 이는 TMR이 국내 낙농산업에 크나큰 비중을 차지하고 있다는 반증이기도 하다.

최근들어 낙농가들에게 TMR에 대한 인식이 확산되어 TMR 사료의 이용농가가 증가함에 따라 TMR 제조 회사 또한 날로 증가하고 있다. 현재 시판중인 TMR의 사료가치에 대한 올바른 평가가 이루어지지

못하고 있는 실정이다. 부적합한 TMR 이용시 조·농비율의 부적절함에 따른 과산증, 젖소의 경제수명 감소와 영양소 과잉에 의한 젖소의 번식을 저하가 문제시되고 있다.

근적외선 분광분석법(Near Infrared Reflectance Spectroscopy : NIRS)의 이용은 1970년대초 미국 농무성의 Karl Norris 에 의해 조사료 성분분석에서 처음으로 실용화되었는데(Norris 등, 1976; Shenk 등, 1976), 이후 그 응용범위를 확대하여 농업, 식품 및 사료분야 뿐만 아니라 현재는 화학, 생화학, 화장품, 의학, 석유화학, 제약, 고분자, 제지 및 섬유분야에 널리 이용되고 있다(김과 Barton, 1994). 근적외선 분광법의 원리는 기지의 시료를 수집 선택하여 조사된 빛의 산란 효과를 보정한 근적외선 대역(700~2500nm)의 스펙트럼과 실험실 분석치와 회귀분석을 실시하여 검량식을 유도한 후 미지시료의 검증과정을 거친 후 적용하게 된다.

근적외선 분광법의 장점은 시료의 전처리가 필요 없고, 비파괴 분석이 가능하고, 분석소요시간이 짧고, 동시 다분석이 가능하다(Norris, 1989). 실제로 미국 위스컨신주의 조사료의 80%, 전 미국 조사료의 70%가 이 방법을 이용하여 분석되어지고 있다고 한다(Kurt, 1999).

국내에서 근적외선 분광분석법의 이용은 농산물의 선별(조 등, 1991; 권 등, 1998) 및 품질평가나 식품의 특정성분측정(배 등, 1996)에 이용되고 있으나 조사료 분야에서의 연구는 이(1996) 등의 근적외선 분광법을 이용한 목초의 사료가치에 관한 연구를 제외하고는 극히 미진한 실정이다.

본 연구의 목적은 근적외 분광분석법을 이용하여 국내 시판중인 TMR의 사료가치 평가 가능성 및 그 응용성을 검토하기 위해 수행되었다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 조제

시료조제는 현재 경기도 일원에서 유통되고 있는 TMR 시료 250점을 수집하여 65°C 순환식 열풍건조

기에서 168시간 동안 건조한 후 근적외선 흡광스펙트럼 측정시에 입자크기에 의한 영향을 최소화하기 위해 20mesh 크기의 체를 가진 분쇄기(Wiley mill)로 분쇄하여 밀폐된 용기에 보관하였다. 분쇄된 시료는 직경 55mm인 원형 시료컵에 약 5g 정도를 충전하였다.

2. 근적외선 스펙트럼 수집 및 시료의 화학적 분석

근적외 영역의 스펙트럼이 측정 가능한 근적외선 분광기(NIR-Systems, Silver Spring, MD, USA)를 이용하여, 400-2500nm의 범위에서 매 2nm의 간격으로 반사도를 측정 후 검량식 유도를 위해서 흡광도(log 1/R : absorbance)로 변환시켜 수집하였다. TMR 시료의 화학적분석은 조단백질(CP)은 AOAC(1990)에 의해서 분석하였고, neutral detergent fiber(NDF), acid detergent fiber(ADF), acid detergent lignin(ADL)은 Goering과 Van Soest(1970)법을 이용하여 분석하였다. 또한 Hemicellulose는 NDF와 ADF의 차이로서 계산하였고 TDN과 NEL값은 각각 $TDN = 88.96 + (CP \times 0.36) - (ADF \times 0.996)$, $NEL = ((TDN \times 0.0245) - 0.12) \times 0.454$ 의 산출식을 이용하여 산출하였다.

3. 검량식 작성 및 검증

총 시료는 250개였으나 각 시료의 spectrum을 scoring하여 global H가 3이상의 값을 갖는 시료를 1차적으로 제거시킨 다음 sample select 과정을 거쳐 neighborhood H값이 0.6의 범위에 있는 유사한 시료 중에 있는 시료만을 선발하여 선발된 176개 시료의 파장을 검량식 작성(calibration)에 이용하였다. 또한 미지의 36개 시료를 검정용(validation) 데이터로 사용하였다.

검량식 작성 algorithm은 시료의 스펙트럼에서 입자의 크기나 수분에 의한 물리적 성질에 의한 산란효과를 보정한(SNV and Detrend) 후 변형부분최소제곱법(Modified Partial Least Square)을 이용하여 분석하였다. 또한 모든 통계적 처리는 상업용 프로그램인 WINISI(Foss NIRsystem, USA) ver. 1.50을 이용하였다.

작성된 검량식의 평가에는 상관계수(correlation coefficient, r) 또는 결정계수(determination coefficient, R), 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 36개의 미지시료를 이용하여 검량식을 검증하였다. 예측된 값들에 대한 정확도는 SEP(standard error of prediction)로 나타내었다. 본 실험의 추진과정을 그림으로 나타내면 Fig. 1과 같다.

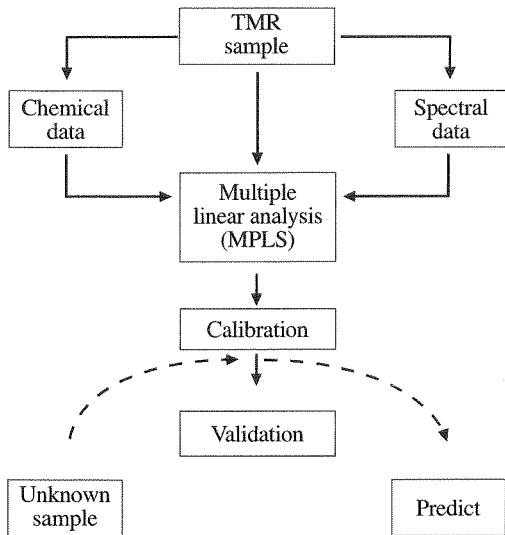


Fig. 1. Process of calibration development for determining the content of chemical composition in total mixed ration

III. 결과 및 고찰

1. NIR 스펙트럼의 특성

경기도 일원의 농가에서 수집된 TMR 시료의 근적외선 영역에서의 평균과 표준편차 스펙트럼과 2차 미분 스펙트럼은 Fig. 2와 3과 같다. 근적외선 흡광 스펙트럼 해석은 주로 미분법을 적용하는데 이것은 바탕선의 변동 및 흡광도의 방해요인인 시료의 입자 크기, 온도와 밀도 등으로 인한 오차를 극소화하여

보다 정확한 스펙트럼 정보를 얻기 위한 방법으로 이용되어진다. TMR 시료의 가시광선 배역대에서의 흡수 스펙트럼은 550과 670nm 근처에서 흡수가 이루어지고 있는데 이는 조사료의 Chlorophyll a와 b의 흡수에 기인하는 것으로 여겨진다(Penuelas 등, 1998; Jacquemoud 등, 1990). 근적외선 배역대에서의 흡수 스펙트럼을 살펴보면 사료 가치 평가시 가장 중요한 C-H 결합의 흡수는 1204, 1726, 2112와 2344nm 근처에서 흡수가 주로 이루어지고 시료의 수분함량과 관련이 있는 O-H 결합의 흡수는 1472와 1932nm 근처에서 흡수가 주로 일어난다. 또한 조단백질의 평가에서 2150nm의 파장이 가장 근접한 파장대역이라고 하였고(Murray, 1986), 연구자들에 따라 파장대역의 적용범위가 ±20nm의 차이를 가진다고 보고를 하였다(Garcia-Ciudad 등, 1993). 이처럼 근적외 스펙트럼은 여러 성분에 대한 정보가 겹쳐져서 나타나므로 각각의 성분에 대한 파장별 귀속은 어려우나 동시에 다 분석을 측정할 수 있는 특징을 가지고 있다.

2. TMR 시료의 이화학적 특성

검량식 작성에 이용되어지는 TMR 시료의 화학적 성분 범위, 평균 및 표준편차는 Table 1에서 보는 바와 같다. TMR 시료의 화학적 성분을 보면 표준편차는 TDN, ADF와 NDF가 각각 5.4, 4.9 및 4.8%로 분석항목 중 표준편차가 높은 것으로 나타났고 CP, Crude Fat 및 Ash은 각각 1.9, 0.9 및 0.83%로 표준편차가 낮은 것으로 나타났다. 이는 섬유소 함량의 표준편차가 높은 것으로 보아 TMR 제조에 사용된 조사료원이 매우 다양한 것으로 판단되고 반면 단백질과 지방의 원료시료는 대체적으로 함량이 균일한 것으로 판단된다. 한편 Marten 등(1989)은 검량식 작성을 위해 일반적으로 변이가 적은 집단인 검량식 작성을 위해서는 100개미만의 시료를 사용해도 충분하나 변이가 큰 집단은 150개 이상의 시료가 필요하다고 하였다. 강력한 검량식을 유도하기 위해 다양한 환경조건을 충분히 보정할 수 있는 많은 수의 시료 선택과 정확한 습식분석치가 충분히 고려되어야 한다고 한다.

3. 근적외 분광법에 의한 검량식 유도 및 작성

TMR 시료의 검량식 작성용 근적외의 스펙트럼을 측정하여 얻은 흡광도 데이터와 습식분석치간에 중회귀 분석(MPLS)을 행한 결과는 Table 2와 같다. 유도된 검량식의 평가에는 검량식 결정계수(R²)와 SEC(standard error of calibration)가 주로 이용되는데, Ash와 NEL은 0.37(R² 0.76), 0.03(R² 0.76)로 다소 낮은 것을 제외하고는 CP, Crude fat, ADF 그리고

NDF는 각각 0.58(R² 0.90), 0.18(R² 0.96), 1.34(R² 0.91)와 1.47(R² 0.90)로 양호한 결과를 나타냈다. 이런 결과들은 사료의 다른 연구자의 결과와 비슷한 경향을 보였다(Jocelyne Aufrere 등, 1996; J.L. De Boever 등, 1995).

조단백질과 조지방의 예측정확도가 상당히 우수한 결과를 보였는데 이는 Lubbersted 등(1997)과 Albanell 등(1995)의 연구결과와 비슷한 경향으로 근적외 분광분석법을 이용한 TMR의 사료가치 분석에

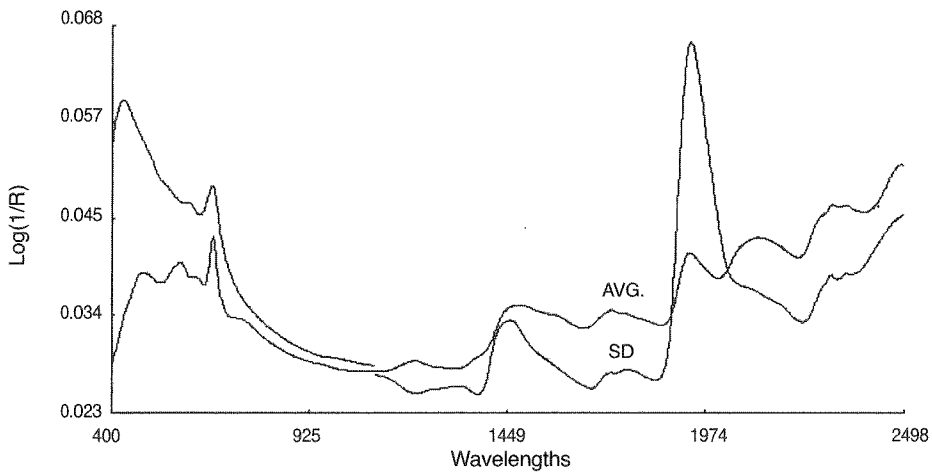


Fig. 2. Visible and near-infrared mean spectrum of TMR(upper line) and SD(lower line). Wavelength in nm

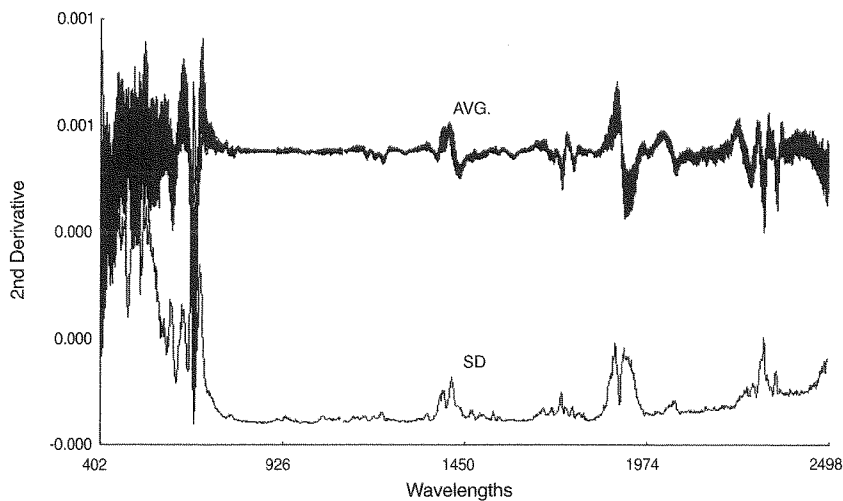


Fig. 3. Second derivative of visible and near-infrared mean spectrum of TMR(upper line) and SD(lower line). Wavelength in nm

있어서도 유효한 것으로 생각된다.

또한 근래에 들어 유도된 검량식의 평가지표로 SD/SECV 비율이 이용되어지는데 그 비율이 > 2.5이면 quality 분석에 유용하고 > 3.0이면 quantitative 분석에 유용하다(Sinnaeve 등, 1994)고 보고하였다. 본 연구 결과는 Ash(1.82)을 제외하고는 위 조건에 모두 충족하는 유용한 검량식이라고 사료된다.

4. 작성된 검량식의 검증

작성된 검량식의 예측정확도를 판단하기 위해 검

Table 1. Chemical composition, calculated energy and protein value of TMR

	n	Mean	Min.	Max.	SD
	----- % -----				
Moisture	176	7.2	3.4	13.5	1.9
Crude protein	176	15.6	8.8	19.8	1.9
Crude fat	176	4.8	2.1	6.9	0.9
Crude fiber	176	21.9	14.4	37.8	4.1
ADF	176	27.4	18.1	46.3	4.9
NDF	176	47.6	38.1	63.0	4.8
Hemicellulose	176	20.2	14.9	28.7	2.5
Ash	176	7.6	5.2	9.3	0.8
TDN	176	67.3	46.2	77.0	5.4
NEL	176	0.7	0.5	0.8	0.07

Table 2. NIRS calibration statistics for TMR

	n	R ²	SEC	SECV	SD/SECV
	----- % -----				
Moisture	172	0.96	0.39	0.45	4.2
Crude protein	171	0.90	0.58	0.67	2.8
Crude fat	168	0.96	0.18	0.24	3.8
Crude fiber	170	0.93	1.07	1.27	3.2
ADF	168	0.91	1.34	1.56	3.1
NDF	169	0.90	1.47	1.70	2.8
Hemicellulose	171	0.89	0.80	1.02	2.5
Ash	171	0.76	0.37	0.45	1.8
TDN	167	0.92	1.45	1.67	3.2
NEL	173	0.76	0.03	0.03	2.3

SEC = Standard error of calibration.

SECV = Standard error of cross validation.

량식 작성에 이용되지 않은 미지의 시료를 이용하여 검증한 결과는 Table 3과 같다. 일반적으로 예측된 값들에 대한 정확도는 화학분석치와 근적외 분석치 간의 검정 표준오차(standard error of prediction)와 상관계수(R²)로 나타내는데, 이는 독립된 시료에 대해 검량식을 적용함으로써 실제로 예측정확도에 대한 판단 지표로 이용될 수 있다. 습식분석치와 근적외 분석치간의 상관관계(R²)를 보면 Ash(0.64)와 NEL(0.75)을 제외하고는 비교적 높게 나타났다. J.L. De Boever 등(1995)의 연구에서 근적외 분광분석법을 이용한 유우사료의 사료가치 추정의 실험에서도 Ash의 정확도가 가장 낮게 나타났다. Ash의 정확도가 낮은 이유는 근적외선 파장에서 무기물의 흡수는 이루어지지 않는 것으로 알려져 있기 때문에 그 정확도가 떨어진다고 보고하였다.

검정표준오차(SEP)는 CP와 Crude fat가 0.6과 0.26%로 나타났고 또한 ADF, NDF, Ash는 각각 1.63, 1.54, 0.43%로 나타났다. 일반적으로 검정표준오차(SEP)는 화학분석치에 직접적으로 영향을 받는데 검량식 작성에 이용된 시료의 화학적성분 범위의 크기가 크기 때문에 상대적으로 검정표준오차가 높게 나타난 것으로 여겨진다.

화학분석치와 NIRS 분석치에 관련된 Regression line의 기울기(Slope)는 1에 가까울수록 우수한 검량식이라 할 수 있는데 화학분석치와 NIRS 분석치와의

Table 3. Validation statistics for NIRS of DM, NDF, ADL and CP

	R ²	실험치 평균	예측치 평균	SEP
	----- % -----			
Moisture	0.95	6.85	6.97	0.49
Crude protein	0.90	15.96	15.99	0.60
Crude fat	0.90	4.76	4.79	0.26
Crude fiber	0.93	22.23	21.63	1.24
ADF	0.90	27.96	27.34	1.63
NDF	0.94	48.28	47.46	1.54
Hemicellulose	0.85	20.31	20.28	0.88
Ash	0.64	7.73	7.72	0.43
TDN	0.90	66.85	67.49	1.76
NEL	0.75	0.69	0.70	0.03

SEP = Standard error of prediction.

기울기는 Fig. 4와 같다. 본 연구에서는 CP, Crude fat의 기울기가 1.05, 1.0으로 우수한 검량식으로 나타났으며 Ash가 0.96으로 나타났다.

IV. 결론

본 연구를 통해 근적외 분광분석법을 이용하여

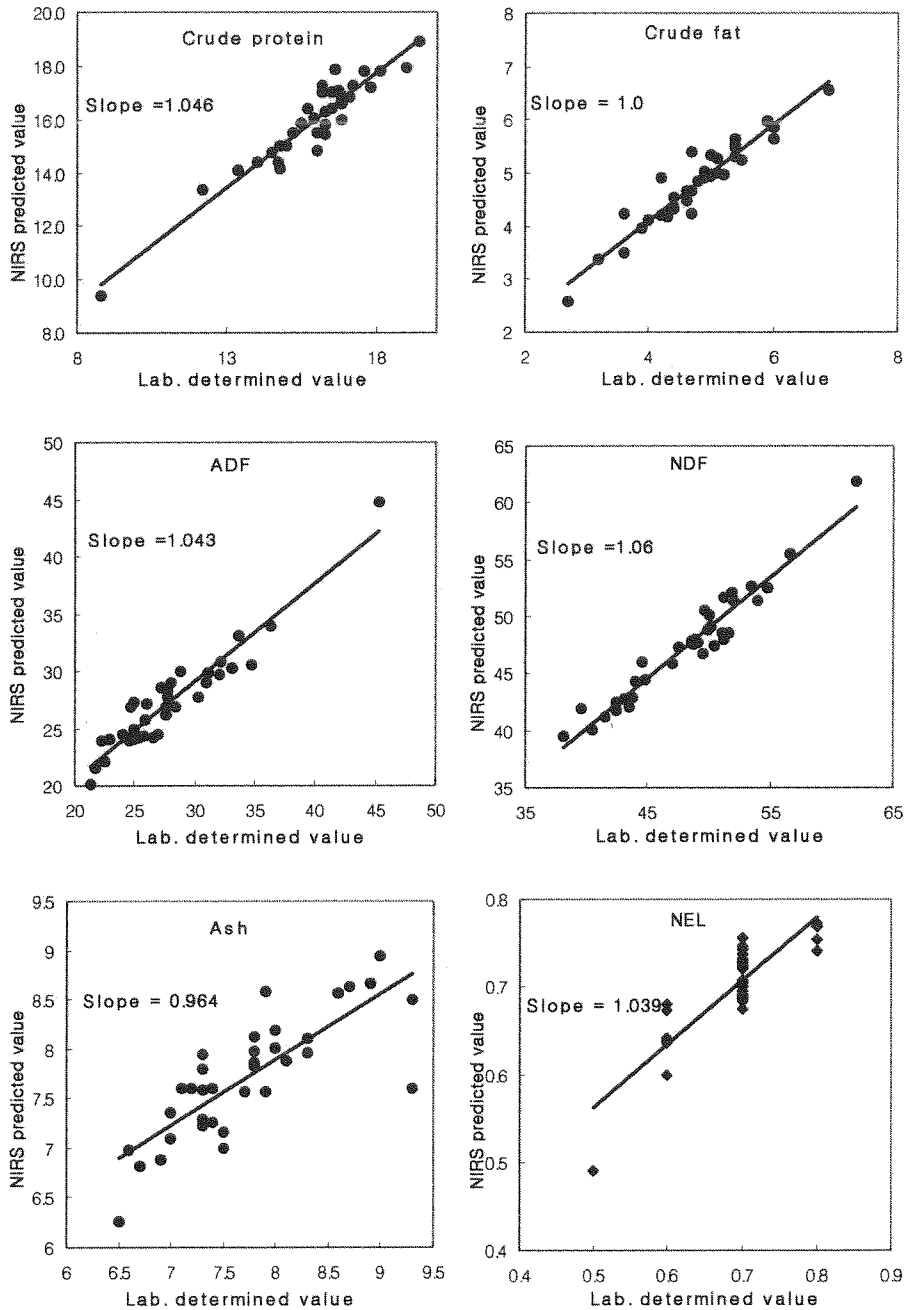


Fig. 4 Relationships between laboratory determined and NIRS predicted values for DM, ADF, NDF and CP using thirty-six samples for validation

TMR의 화학적 조성분 및 사료가치를 적은 오차범위 내에서 신속하고 정확한 분석이 가능하며 또한 동시에 여러 성분의 측정가능성을 확인하였다. 하지만 Ash 및 NEL 함량의 측정 정확도가 낮게 나타났다. 이는 기기의 특성상의 한계성도 있지만 시료의 선별, 정확한 화학적 분석치의 확보 및 적절한 검량식 작성 알고리즘의 선택이 미비한 것으로 생각된다. 따라서 보다 강력하고 우수한 검량식을 작성하기 위해서는 모든 사항을 충분히 고려할 수 있는 적절한 시료의 선택과 문제시료의 정확한 화학적 재분석에 따른 검량식 재작성이 필요하다고 생각된다.

한편 근적외선 분광분석법의 이용을 더욱 극대화하기 위해서는 TMR의 조·농비율 평가 및 원료사료의 영양가치의 평가와 같은 연구가 진행되어야 한다고 생각한다.

인용 문헌

1. Albanell, E., Plaixats, J., Ferret, A., Bosch, L. and Casanas, F., 1995. Evaluation of near infrared reflectance spectroscopy for predicting stover quality trait in semi exotic population of maize. *J. Sci. Food Agric.* 69:263~273.
2. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
3. Garcia-Ciudad, A., Garcia Criada, B., Perez-Corona, M. E., Vazquez de Aldana, B. R., Ruano-Ramos, A. M., 1993. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *J. Sci. Food Agric.* 63, 419~426.
4. Goering, H. K. and Van Soest, P. J., 1970. Forage Fiber Analysis. *Agriculture Handbook* 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.
5. Jacquemoud, S. and Baret, F., 1990. Prospect: A model of leaf optical properties spectra. *Remote Sensing Environ.* 34:75~91.
6. Kurt, Gutknecht. 1999. Doubts persist about NIR forage tests. *Wisconsin Agriculturist*, May, pp.12~16
7. Lubbersted, T., Melchinger, A. E., Klein D., Degenhardt, H and Paul Ch. 1997. QTL mapping in testcrosses of European flint lines of maize: II. Composition of different testers for forage quality traits. *Crop Sci.* 37:1913~1922.
8. Marten, G. C., Shenk, J. S. and Barton II, F. E., 1989. Near infrared reflectance analysis of forage quality. *USDA Agriculture Handbook No. 643(revised)*, US Govt. Print. Office, Washington DC, USA.
9. Murray, I., 1986. The NIR spectra of homologous series of organic compounds. *Proc NIR/NIT Conf, Budapest*, pp.13~28.
10. Norris, K. H., 1989. Definition of NIRS analysis. In: Martin, G. C., Shenk, J. S., Barton II, F. E.(Eds.), *Near Infrared Reflectance Spectroscopy(NIRS): Analysis of forage Quality*. *Agricultural Handbook No. 643*. US Department of Agriculture, pp.20.
11. Norris, K. H., Barnes, R. F., Moore, J. E., and Shenk, J. S., 1976. Predicting forage quality by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43:889~897
12. Penuelas, J. and Filella, I., 1998. Visible and near infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in plant science.* 3:151~156.
13. Roth, G., Undersander, D., Allen, M., Ford, S., Harrison, J., Hunt, C., Lauer, J., Muck, R., and S. Soderlund, 1995. Corn silage production, management, and feeding. *American Society of Agronomy*. South Segoe, U.S.A, Appendix Table 4, pp.42.
14. Shenk, J. S., Westerhaus, M. O. and Hoover, M. R., 1976. Analysis of forages by infrared

- reflectance. *J. Dairy Sci.* 62:807~812
15. Sinnaeve, G., Dardenne, P., Agneessens, R., Biston, R., 1994. The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2, 79~84.
 16. Van waes, J., Carlier L., Van waes C and Van bockstaele E., 1997. Evaluation of quality characteristics in official traits with silage maize varieties in Belgium. *Neth. J. Agric. Sci.* 45:277~289.
 17. Windham, W. R., 1987. Influence of grind and gravimetric technique on dry matter determination of forages intended for analysis by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 27:773~776.
 18. Zimmer, E., Gurrath P. A., Paul Ch, Dhillon B. S., Pollmer, W. G. and Klein, D., 1990. Near infrared reflectance spectroscopy analysis of digestibility traits of maize stover. *Euphytica* 48:73~80.
 19. 권영길, 조래광. 1998. 근적외 분석법에 의한 참깨의 원산지 판별. *한국농화학회지.* 41(3):240~246.
 20. 김용욱, F. E. Barton, 1994. 근적외선 분광법을 이용한 제품 담배 판별연구. *한국연초학회지.* 16(3):163~170.
 21. 배영민, 조성인, 전재근. 1996. 근적외선 분광분석법에 의한 감자칩의 지방함량 측정. *한국식품과학회지.* 28(5):916~921.
 22. 이효원, 김진동, 한건준, 김동암. 1996. NIRS를 이용한 목초의 품질평가 — 1. 근적외선분광법을 이용한 이탈리아라이그래스의 ADF 및 NDF 검량식 작성과정. *한국방송통신대학교 제22논문집.* pp.375~385.
 23. 조래광, 손미령, 안재진. 1991. 근적외 분광분석법에 의한 분말고추종의 씨앗 및 꼭지혼입량의 신속한 측정. *한국식품과학회지.* 23(4):447~451.