

적외선 곡류품질분석기(GQA)의 단백질 정량에 미치는 측정시료의 Particle Size 및 충전밀도의 영향

신 현 국 · 유 인 수
농촌진흥청 맥류연구소
(1979년 1월 29일 수리)

Effect of Particle Size and Packing Density on the Determination of Grain Protein by the Infrared Grain Quality Analyzer

H. K. Shin and I. S. Ryu

Wheat and Barley Research Institute, Office of Rural Development, Suwon,

(Received January 29, 1979)

Abstract

A Neotec infrared instrument was evaluated for determination of protein contents of wheat and barley. Correlation coefficients between protein content determined on the instrument and by the Kjeldahl method were highly significant (0.97 to 0.98). Accuracy of analyses, measured by the standard error of a single test was 0.07 to 0.16, giving a coefficient of variability of 0.6 to 1.1%.

Method of grinding samples affected particle size and type. Particle size did not directly influence protein values; however, greater accuracy and reproducibility were achieved with smaller particle sizes. Packing density inside the loading cell also influenced the analytical results.

서 론

1964년 Norris^(1,2)는 적외선 scanning을 통한 곡류의 수분 측정이 가능함을 시사하였다. 이후 Norris의 이론을 바탕으로 곡류 및 두류의 수분, 단백질, 지질등을 직접 측정할 수 있는 전자기기가 Neotec과 Dicky-John 2개사에서 생산되어 전자는 Grain Quality Analyzer (GQA), 후자는 InfraAlyzer란 이름으로 시판되고 있다. (3-5)

Grain Quality Analyzer 및 Infra Alyzer의 원리는 일정 범위에 속하는 적외선(GQA: 1867~2297 nm, InfraAlyzer: 1680~2310 nm)에 filter system을 도입 6개 파장(GQA: 1867, 1920, 2118, 2167, 2250, 2297 nm, InfraAlyzer: 1680, 1940, 2100, 2180, 2230, 2310 nm)을 연속적으로 scanning하는 것으로 각 파장

의 reflectance 차이를 이용하여 수분, 단백질 및 지질 함량을 구하게 된다. 따라서 이들 기기를 사용하는 경우 기존 화학방법과는 달리 시약 및 분해 조작이 필요하지 않으며 시료만 넣으면 수초내에 그 결과를 직접 측정할 수 있는 잇점이 있다.

Watson⁽⁶⁾ 및 Williams^(7,8)는 Grain Quality Analyzer 및 InfraAlyzer의 정확도를 켈달과 비교한바 고도의 상관성이 인정된다고 하였다.

본 실험에서는 Grain Quality Analyzer에 의한 단백질 정량의 정확도 및 오차를 곡종간(밀 및 보리) 상호 비교함과 아울러 측정시료의 입자 크기 및 충전밀도가 측정에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 밀(경질, 연질) 50품종,

보리(겉보리, 쌀보리) 30품종이었다. Kjeldahl법은 AACCB⁽⁹⁾에 준하였고 Grain Quality Analyzer는 Neotec의 GQA-31EL^(10,11)을 사용하였다. Grain Quality Analyzer는 밀, 보리를 각각 25개 시료로부터 따로 보정하였다. Grain Quality Analyzer의 측정에서 각 측정치는 6개 적외선 파장에서 얻어진 absorbance에 적정상수를 곱하여 연산한 값이다. 즉 GQA단백질(%) = $K_0 + K_1C_1 + K_2C_2 + K_3C_3$, K는 상수, C₁은 파장 2297 nm와 2250 nm의 흡광도 차이(ΔA), C₂는 ΔA 2167~2118 nm, C₃는 ΔA 1920~1867 nm이다. 여기서 C₂가 주로 단백질과 관련된 파장이다. 다중 적외선 회귀에 의해 밀, 보리의 적정 K값을 산출한 결과 밀에 대한 K값은 K₀=10.5, K₁=-45.6, K₂=-45.4, K₃=-6.3이었고 보리에 대한 K값은 K₀=14.9, K₁=-27.0, K₂=-38.1, K₃=-5.0이었다. 한편 반복간의 오차 및 재현성은 표준오차 및 변이계수로 표시하였다. (7,12,13)

결과 및 고찰

1. 곡종간 Kjeldahl과의 상관 및 오차

표 1은 Grain Quality Analyzer로 측정된 단백질과 Kjeldahl치와의 상관을 조사한 것으로서 상관계수(r)는 0.97~0.98이었으며, root mean square도 의미있는 차이를 보이지 않았다. 밀, 보리 곡종간을 비교하면 밀의 연질과 경질 및 보리의 겉보리와 쌀보리간에 다소 차이는 있으나 모두 고도의 상관을 나타내고 있다.

Table 1. Relationships between protein contents as determined by the Kjeldahl and infrared instrument (GQA)

Materials	No. of varieties	Kjeldahl protein (%)		GQA protein (%)		Correlation coefficient (r)	Root mean square difference
		Range	Mean	Range	Mean		
Soft wheat	25	6.5~11.1	8.81	7.1~11.4	8.85	0.974	0.369
Hard wheat	25	11.1~15.6	13.13	11.2~15.8	13.09	0.981	0.305
Covered barley	15	10.9~16.2	13.28	10.9~16.8	13.36	0.968	0.395
Naked barley	15	10.3~15.0	12.15	9.9~15.7	12.19	0.972	0.383

Table 2. Reproducibility and accuracy of GQA method

Materials	Kjeldahl protein (%)	GQA protein (%)			Standard error of a single test	Coefficient of variability (%)
		Test 1	Test 2	Test 3		
Soft wheat (Weongwang)	9.0	8.8	8.7	8.8	0.07	0.80
Hard wheat (Suweon #210)	12.2	12.1	12.1	12.2	0.07	0.58
Covered barley (Bunong)	14.6	14.8	14.5	14.6	0.16	1.10
Naked barley (Baegdong)	12.8	12.4	12.4	12.5	0.07	0.56

표 2는 Grain Quality Analyzer의 반복간 오차 및 재현성을 표시한 것으로 반복간 오차도 곡종간 다소 차이는 있으나 전반적으로 표준오차 0.07, 변이계수 0.6%로 오차가 적고 재현성이 극히 우수함을 알 수 있다. 여기서 보리의 경우 겉보리가 쌀보리보다 표준오차 및 변이계수가 큰것은 겉보리의 경우 겨의 함량이 많으므로 시료 준비시 시료의 물리적 혼합이 일정치 않음에 기인하는 것 같다.

2. 입자 크기의 영향

표 3은 분쇄기의 종류에 따라 분쇄되는 분말의 입자 크기와 그 결과 얻어진 GQA 단백질을 비교한 것이다. Coffee grinder는 소형분쇄기로서 분쇄되는 입자가 상당히 거친 편이며 나머지 3종류는 비교적 입자가 작고 입자크기도 고른편이다. 입자크기가 큰 coffee grinder의 경우 반복간 차이가 심하며 입자가 작은 나머지 3종류는 표준오차 및 변이계수가 낮았다. Ball mill의 경우 입자크기는 Krups 및 Cyclone grinder와 비슷하면서도 Kjeldahl 및 GQA 단백질 측정치가 낮은 것은 분쇄과정에서 피부분은 대부분 내부에 축적되고 주로 가루부분만 용출되기 때문에 얻어진 결과라 생각된다.

표 4는 Krups 분쇄기에서 분쇄시간에 따른 시료의 입자분포와 GQA 단백질을 비교한 것이다. 분쇄시간이 길수록 분쇄되는 입자의 입자크기는 작았으며 입자가 작아질수록 표준오차와 변이계수가 작아짐을 볼 수 있다. 표 3 및 4의 결과를 요약하면 그림 1과 같다.

이상의 결과를 요약하면 측정시료의 입자크기는 GQA 단백질 측정시 그 자체가 직접 영향을 주지는 않

Table 3. Particle sizes and GQA protein values of a hard wheat ground on four different grinders

Grinder	Particle size (%)				Kjeldahl protein (%)	GQA protein (%) ¹			Standard error of a single test	Coefficient of variability (%)
	>840 μ	840~297 μ	297~74 μ	<74 μ		Test 1	Test 2	Test 3		
Coffee grinder	47.2	29.2	18.9	4.7	14.5	13.9	14.5	14.2	0.30	2.11
Ball mill	15.9	21.0	41.6	21.5	13.7	13.3	13.2	13.3	0.07	0.53
Krups grinder ²	4.8	29.8	36.5	28.9	14.3	14.4	14.6	14.3	0.16	1.11
Cyclone grinder	0.9	19.8	51.5	27.8	14.4	14.8	14.5	14.6	0.16	1.10

¹ Protein determination made on a mixture of all particle sizes

² Ground for 30 seconds, taken from Table 4.

Table 4. Effect of grinding time on particle sizes and GQA protein values of a hard wheat

Grinding time (Seconds) ¹	Particle sizes (%)				Kjeldahl Protein (%)	GQA protein (%) ²			Standard error of a single test	Coefficient of variability (%)
	>840 μ	840~297 μ	297~74 μ	<74 μ		Test 1	Test 2	Test 3		
0	100	0	0	0	15.9	16.6	15.6	16.2	0.51	3.17
10	65.7	17.2	11.1	6.0	14.5	15.3	14.4	14.8	0.45	3.04
30	4.8	29.8	36.5	28.9	14.3	14.4	14.6	14.3	0.16	1.11
60	1.1	15.9	53.8	29.2	14.3	14.4	14.4	14.3	0.07	0.49
90	0.5	12.0	58.4	29.1	14.3	14.3	14.4	14.3	0.07	0.49

¹ With Krups grinder

² Protein determination made on a mixture of all particle size

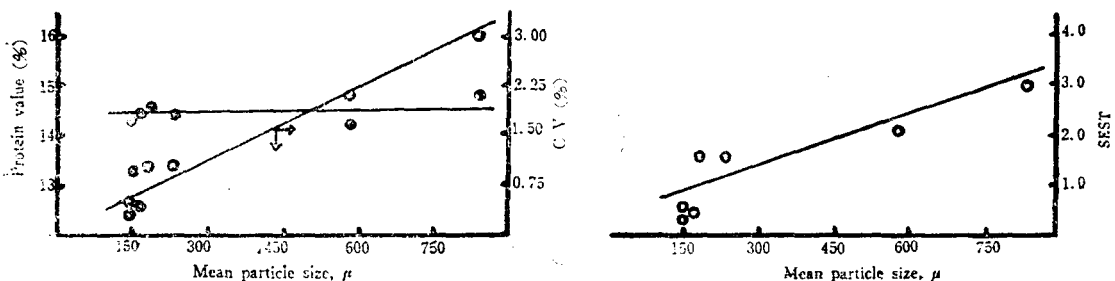


Fig. 1. Effect of mean particle size of ground samples on mean GQA protein values (●—●), standard error of a single test and coefficient of variability

는 것 같으며 다만 입자크기가 큰 경우 측정 cell에 노출되는 시료가 일정하지 않아 반복간 차이가 심한 것으로 생각된다. Watson⁽⁶⁾ 및 Williams⁽⁷⁾는 시료의 입자의 크기 및 그 형태는 분쇄기의 종류에 따라서 다르며 그 결과 Grain Quality Analyzer 및 Infra Alyzer의 분석치가 다르다고 하였다. 곡류 및 두류의 경우 예외없이 표피층일수록 단백질함량은 많으며 내부일수록 적으므로 분쇄방법에 따라 단백질 측정치가 다를 가능성은 충분히 있다. 그러나 표3 및 4 그리고 그림 1에서 보는 바와 같이 시료를 충분히 혼합해 주는 경우 입자크기가 다르더라도 여러번 반복 측정시 그들의 평균치는 비슷한 결과를 나타내었다. 다만 입자크기가 큰 경우 앞서 설명한 바와같이 시료의 분포가 균일하

지 않으므로 반복간 오차가 컸었다. 이 결과는 Watson⁽⁶⁾과 Williams⁽⁷⁾의 입자의 크기가 GQA 단백질 측정에 미치는 영향을 구체화한 것이나 본 실험에서는 입자의 유형 및 크기를 grinder종류 및 분쇄시간에 의해 조정했으므로 추후 시료 입자의 유형을 동일하게 하는 조건에서 검토가 요구된다.

3. 측정시료의 충전밀도 및 혼합의 효과

이상에서 검토한 바와같이 GQA의 경우 시료의 준비 방법이 문제가 되고 있으며 반복간 오차를 줄이기 위해서는 시료의 충전정도 및 혼합이 중요한 것으로 생각된다. 표5는 GQA 측정용기(cell)에 충전하는 시료량의 영향을 본 것이다. 분쇄시료를 자연스럽게 넣는 경우 약 12g 정도가 들어가는데 시료를 많이 넣을수

Table 5. Effect of packing amount inside the GQA loading cell on protein values, standard error of a single test and coefficient of variability

Amount of packing(gr) ¹	GQA protein(%)			Standard error of a single test	Coefficient of variability(%)
	Test 1	Test 2	Test 3		
8	13.8	14.0	14.1	0.16	1.14
10	14.2	14.1	14.2	0.07	0.49
12	14.4	14.4	14.3	0.07	0.49
14	14.4	14.5	14.5	0.07	0.48

¹ A hard wheat having protein content of 14.3%; grinding time 60 sec with Krups grinder

록, 즉 시료의 밀도가 증가할수록 전반적으로 GQA 단백질은 높게 나오고 있으며 시료를 적게 넣는 경우 GQA 단백질은 낮았다. 반복간의 오차는 시료량이 10~14g 사이에서는 전반적으로 큰 차이가 없었으나 8gr 이하로 하는 경우 반복간의 오차가 심하였다. 이것은 시료가 너무 적은 경우 측정용기의 측정부위에 노출되는 부분이 고르지 못함에 기인한 것 같으며 시료량을 많이 할수록 GQA 단백질이 높음은 시료를 많이 넣을수록 시료의 밀도가 증가하여 그 결과 적외선 reflectance가 많아짐에 기인하는 것 같다. 한편 시료의 입자 크기에 따라 시료 충전효과는 어떻게 달라지는가를 조사해 보고자 시료의 입자크기가 각각 다른 3가지 종류(74, 150, 580 μ)의 시료로부터 조사한 바 그림 2에서 볼 수 있는 바와같이 시료의 입자크기에 관계없이 측정 cell에 충전되는 시료의 양이 증가될수록 GQA 측정치는 거의 비슷한 경향으로 증가하고 있음을 볼 수 있다. 이것은 시료량이 증가되는 경우 전술한바와같이

적외선 reflectance가 증가하여 나타난 결과이며 그 증가 정도는 시료의 입자크기에는 무관한 것으로 보인다.

그림 3은 측정시료의 혼합정도에 따라 반복간 deviation이 얼마나 큰가를 조사한 것으로 반복간 deviation은 반복간 표준편차로 표시하였다. 여기서 혼합회수는 시료를 측정cell에 넣고 스파츄라로 한번 좌우 이동시킨 것을 1회로 하여 표시하였다. 그림에서 볼수 있듯이 입자크기가 모두 74 μ 이하인 밀가루의 경우 혼합회수에 관계없이 반복간 편차가 0.07이하였는데 반해 입자크기가 전반적으로 크고 입자 크기가 고르지 못한 coffee grinder의 경우는 혼합회수를 늘일수록 편차는 적어졌으며 대강 스파츄라로 10회정도 혼합해두면 평형에 도달하였고 cyclone grinder도 비슷한 경향을 보였다.

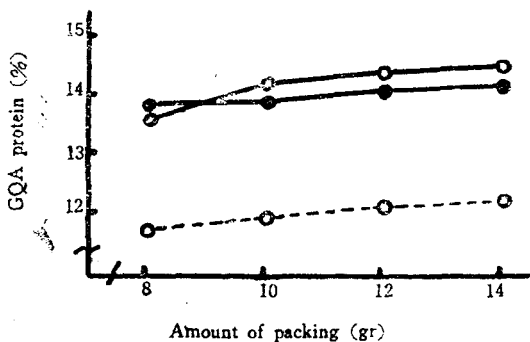


Fig. 2. Effect of packing amount inside the GQA loading cell on protein determination: wheat ground with coffee grinder to a mean particle size of 580 μ (●—●), wheat ground with cyclone grinder to a mean particle size of 150 μ (○---○), wheat flour milled with Buhler test mill to a mean particle size of 74 μ (○-----○).

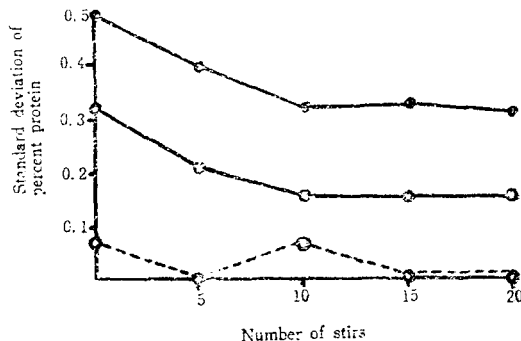


Fig. 3. Influence of the amount of stirring on the standard deviation of the percent protein among triplicate readings on GQA: wheat ground with coffee grinder to a mean particle size of 580 μ (●—●), wheat ground with cyclone grinder to a mean particle size of 150 μ (○---○), wheat flour milled with Buhler test meal to a mean particle size of 74 μ (○-----○).

요 약

1. Grain Quality Analyzer로 측정된 단백질과 Kjel-

dahl치와는 곡종에 관계없이 고도의 상관(상관계수 0.97~0.98)을 나타내었으며 반복 측정시 의미있는 차이를 보이지 않았다.

2. 밀의 경우 경연질별로 큰 차이가 없었으나 보리의 경우 겉보리가 쌀보리보다 상관계수가 약간 낮았고 반복간 오차도 컸다.

3. 측정시료의 입자크기는 단백질 측정치에 직접 영향은 없었으나 입자크기가 작을수록 측정오차가 작았다.

4. 측정 cell에 충전하는 시료는 12 g 정도가 적합하였으며 시료를 많이 넣는 경우 적외선 reflectance가 많아 단백질 측정치는 다소 증가하였으며, 8 g 이하로 넣는 경우 오차가 컸다.

참 고 문 헌

- 1) Norris, K. H.: *Agr. Eng.*, 45(7), 370 (1964).
- 2) Bengara, I. and Norris, K. H.: *Israel J. Agr. Res.*, 18, 125 (1968).
- 3) Trevis, J. E.: *Cereal Sci. Today*, 19, 182 (1974).
- 4) Rosenthal, R. D.: *The Grain Quality Analyzer*. Annual Meeting. Kans. Ass. Wheat Growers, Hutchinson, Kans. (1971).
- 5) Rosenthal, R. D.: *The Grain Quality Analyzer. A rapid and accurate means of determining the percent moisture, oil and protein in grain and grain products*. Annual meeting, Milling and Baking Division, AACC, Denver, Colo. (1973).
- 6) Watson, C. A., Carville, D., Dikeman, E., Daigger, G. and Booth, G. D.: *Cereal Chem.*, 53, 214 (1976).
- 7) Williams, P. C.: *Cereal Chem.*, 52, 561 (1975).
- 8) Williams, P. C.: *Cereal Sci. Today*, 19, 280 (1974).
- 9) American Association of Cereal Chemists: *AACC Approved Methods*. The Association: St. Paul, Minn. (1962).
- 10) Williams, P. C.: *Performance Study of the Grain Quality Analyzer*. User's manual. Grain quality analyzer-Model 41. Neotec Instruments, Inc., Rockville, Md. (1973).
- 11) Stermer, R. A., Pomeranz, Y. and McGinty, R. J.: *Cereal Chem.*, 54, 345 (1977).
- 12) Steel, R. G. D. and Torrie, J. H.: *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill, New York (1960).
- 13) Snedecor, G. W. and Cochran, W. G.: *Statistical Methods* (6th ed.). Iowa State University Press, Iowa (1967).