

# 근적외선 분광분석기를 이용한 국내외 재래종 벼 유전자원의 아밀로스 및 단백질에 관한 대량 평가 체계구축

오세종, 이명철, 최유미, 이수경, Muhammad Rauf, 채병수, 현도윤\*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터

## Fast Systemic Evaluation of Amylose and Protein Contents in Collected Rice Landraces Germplasm Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)

Sejong Oh, Myung Chul Lee, Yu Mi Choi, Sukyeung Lee, Muhammad Rauf, Byungsoo Chae and Do Yoon Hyun\*

National Agrobiodiversity Center, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Jeonju 54874, Korea

**Abstract** - This study was conducted to characterize the amylose and protein contents of 4,948 rice landrace germplasm using the NIRS model developed in the previous study. The average amylose content of the germplasm was 20.39% and ranged between 3.97 and 37.13%. The amylose contents in the standard rice were 4.99, 18.63 and 20.55% in Sinseonchal, Chucheong and Goami, respectively. The average protein content was 8.17% and ranged from 5.20 to 17.45%. Protein contents in Sinseonchal, Chucheong and Goami were 6.824, 6.869 and 7.839%, respectively. A total of 62% germplasm were distributed between 20.06% and 27.02% in amylose content. Germplasm of 81.60% represented protein content of 6.78-9.75%. The distinguishable ranges of amylose contents according to origin were 16.58-20.06% in Korea, 20.06-23.25% in Japan, 23.25-27.02% in North Korea, and 27.02-37.13% in China. In the protein content, approximately 30% of Chinese resources ranged from 9.75 to 17.45%, whereas less than 10% were detected in other origin accessions. Fifty resources were selected with low and high amylose ranging from 3.97-6.66% and 30.41-37.13%, respectively. Similarly, fifty resources were selected with low and high protein ranging from 5.20-6.09% and 13.21-17.45%, respectively. Landraces with higher protein could be adapted to practical utilization of food sources.

**Key words** - Amylose, NIRS, Protein, Rice landrace germplasm

### 서 언

세계적으로 벼는 중요한 식량작물 중의 하나이며 품질에 영향을 주는 주요 요인은 수분함량, 아밀로스 및 단백질함량 등으로 이루어져 있다(Juliano, 1985; Gomez, 1979; Choi *et al.*, 1997; Chikubu *et al.*, 1985; Shibuya, 1990; Son *et al.*, 2002; Oh *et al.*, 2017). 쌀의 구성성분은 전분 70%이상, 단백질 7~8%, 지방 1~3%, 기타 무기성분으로 조성되어있다(Son *et al.*, 1996). 벼 육종분야에서 품종육성의 경우 아밀로스 성분이 교배

종의 지표자료로 사용되기도 한다(Kim, 2004). 아밀로스와 단백질은 쌀의 미질을 결정하는 중요한 이화학적 특성으로 단백질과 아밀로스 성분은 중요한 품질매개변수이며 취반특성 뿐만 아니라 물리화학적인 것에도 영향을 준다(Son *et al.*, 2002; Champagne *et al.*, 1997). NIR Program을 이용한 쌀의 식미평가 자동화시스템개발(Kawamura *et al.*, 2003) 연구 및 벼 아밀로스와 단백질 성분의 대량평가를 위한 예측모델개발에 대한 접근이 시도되었다(Han *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2008; Moon *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 2008; Delwiche *et al.*, 1996; Shu *et al.*, 1999).

Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)는 근적외

\*교신저자: dyhyun@korea.kr

Tel. +82-63-238-4912

선이 시료에 조사될 때 시료 내 특정 작용기가 분자진동을 일으키고 특정 파장의 빛을 흡수하게 되는데 이러한 흡광정도는 시료 내 작용기 농도에 비례한다는 램버트 비어 법칙에 근거한 정량분석방법이다. 근적외선영역(700-2,500 nm 파장구간)에서는 주로 수소 결합에 관련된 O-H, C-H, N-H, S-H 및 C=O 관능기들이 중적외선 영역(2,500-25,000 nm 파장구간)의 특정 파장의 빛에너지를 흡수하여 나타나는 분자기준진동의 결합(combination, 1950-2500 nm) 진동, 배음(overtone, 700-1950 nm) 진동이 나타나게 된다. 농식품의 경우 주요구성 성분인 지방(C-H), 수분(O-H) 및 단백질(N-H, S-H)이 근적외선을 흡수하므로 근적외선 분광 분석법을 이용해 성분을 동시에 분석이 가능하다(Williams *et al.*, 1987; Abrams *et al.*, 1987; Clarke *et al.*, 1992). 근적외선 영역에서의 스펙트럼은 측정하는 시료 내의 다양한 성분들 간의 흡수파장대가 서로 중첩되거나 시료 입자 크기와 밀도 같은 물리적 요인들에 의해 바탕선의 변화가 일어나는데, 이러한 오차를 줄이고 겹쳐있는 파장들을 분리하기 위해 전용 프로그램을 사용하여 스펙트럼 산란현상을 보정하고 수학적 전처리를 수행하게 된다(Ahn and Kim, 2012).

NIRS는 빠른 시간 내 많은 시료분석이 가능하다는 장점이 있어 다양한 농작물 품질평가방법에 적용되고 있다(Kim *et al.*, 2008; Song *et al.*, 2006; Han *et al.*, 1996; Hwang *et al.*, 1994; Moon *et al.*, 1994; Kwon *et al.*, 2005, 2006; Kim *et al.*, 2004). 벼 아밀로스 및 단백질에 대한 습식분석결과와 근적외선 스펙트럼간의 상관관계를 회귀분석을 통해 예측모델을 개발하였다(Oh *et al.*, 2017). NIRS를 이용한 지리적 원산지 콩판별(Ahn and Kim, 2012), 보리의 품질효율분석 및 화학적 성분분석(Kim *et al.*, 1996), 옥수수 알곡의 단백질, 전분 및 유지함량 측정(Jiang *et al.*, 2007), 녹차의 카테킨 함량 측정(Chun, 2010), 약초의 일종인 황금의 약효성분분석(Kim *et al.*, 2014) 등의 연구결과가 보고되었다.

벼 유전자원에 대하여 근적외선 분광분석법(NIRS)을 이용한 예측모델개발에 관한 선행연구(Oh *et al.*, 2017)를 기반으로 농업유전자원센터에 보존되어있는 재래종 벼 자원에 대한 아밀로스 및 단백질에 대한 분석을 실시하여 자원의 분포도와 지리적 특성 등에 대한 정확한 정보를 제공하고자 하였으며, 벼 자원에 대한 대량평가 체계를 구축하고자 이 연구를 수행하게 되었다.

## 재료 및 방법

### 재료준비

본 실험에 사용한 국내외 재래종 벼 유전자원은 농업유전자

원센터 GMS 프로그램을 이용하여 한·중·일 등 41개국에서 수집된 자원을 대상으로 IT Number 기준으로 정렬하여 총 4,948자원을 선발하였다(Table 1). 선발자원 각각의 종자 50립을 실험실용 현미기로 탈영시킨 후 사미, 피해립을 제거하여 현미립을 준비하였다. 이후 분쇄기로 약 2분간 분쇄하여 균일한 현미가루 상태로 만든 후 NIRS를 이용하여 현미시료의 아밀로스함량과 단백질함량을 측정하였다. 종자와 준비된 현미시료들은 13°C 저온저장고에 보관하여 수분함량 14% 이하 상태를 유지하였다. 수분함량 분석은 곡류 및 곡류제품-수분함량측정(산업통상자원부 국가기술표준원, 표준번호: KS H ISO 712)을 참조하여 수분측정기(Shimadzu, Japan)를 사용하여 130°C 온도조건에서 측정하였다.

### 근적외선 분광분석기(NIRS) 예측모델 개발 및 검증

벼 유전자원의 이화학적 성분 분석용 NIRS 예측모델을 선행연구에서 개발하고 미지시료 적용가능성을 검증하였다(Oh *et al.*, 2017). 개발된 예측모델 중 벼 유전자원의 단백질 및 아밀로스 습식분석값을 가장 잘 예측할 수 있는 예측모델을 RSQ, Standard error of calibration (SEC), Standard error of prediction (SEP), Slope, Bias, Standard error of cross-validation (SECV) 및 One minus the ratio of unexplained variance to total variance (1-VR) 등의 통계치를 고려하여 선별하였다(Table 2, Oh *et al.*, 2017). 선별된 NIRS 예측모델의 미지시료 적용가능성을 검증하기 위해, 예측모델 개발에 이용되지 않은 자원들의 아밀로스 및 단백질 함량을 NIRS를 이용하

Table 1. Origin distribution of landrace germplasm used in this study

Origin	Number of accessions	Ratio of accessions (%)
Korea	1,232	24.90
North Korea	1,073	21.69
Japan	942	19.04
China	581	11.74
Philippines	177	3.58
Taiwan	169	3.42
Sierra Leone	116	2.34
Unknown	353	7.13
The others	305	6.16
Total	4,948	100

Table 2. Calibration equation and cross validation results for the amylose and protein content in the milled brown rice

Constituent	N	Lab. Data			NIRS Data			RSQ	SEC	SECV	1-VR
		Min	Max	Mean	Min	Max	Mean				
Amylose	504	6.15	32.25	19.10	1.94	36.08	19.01	0.970	1.010	1.048	0.967
Protein	511	4.72	14.81	7.77	4.06	11.35	7.70	0.983	0.158	0.163	0.982

Table 3. External validation results of NIRS equation model for the amylose and protein content in the milled brown rice

Constituent	External validation				NIRS equation model			
	N	RSQ	SEP	Slope	N	RSQ	SEC	Slope
Amylose	132	0.962	2.349	0.811	465	0.970	1.010	1.000
Protein	124	0.986	0.415	1.038	473	0.983	0.158	0.998

여 측정된 후 각 성분들의 함량을 저함량, 중간함량, 고함량 구간으로 나누고 각 구간별 함량을 대표하는 자원을 선정하여 최종 아밀로스함량 검증용 132자원과 단백질함량 검증용 124자원을 선별하였다. 이후, NIR 스펙트럼 측정과 이화학적 성분분석을 수행하여 validation file을 작성하였다. 작성된 validation file을 대상으로 WINISI III project manager (FOSS, ver. 1.50e)의 monitor result 기능을 사용하여 계산된 Slope, RSQ, SEP, SEC 등의 통계치를 바탕으로 개발된 NIRS 예측모델의 미시자료 적용가능성을 검증하였다(Table 3, Oh *et al.*, 2017).

**NIRS 예측모델 정확성 평가**

개발된 NIRS 예측모델의 분석정확성을 평가하기 위해 국립식량과학원 남부작물부에서 벼 이화학적 성분분석 기준으로 사용하고 있는 벼 표준품을 이용하였다. 선행연구에서 개발된 예측모델이 입력된 NIRS를 이용하여 표준품 시료의 단백질 및 아밀로스 함량을 측정하고 습식분석값과 비교 평가하였다. 표준품으로 신선찰(아밀로스: 6.881%, 단백질: 6.890%), 백진주(아밀로스: 11.490%, 단백질: 6.260%), 추청(아밀로스: 19.731%, 단백질: 6.350%), 고아미(아밀로스: 23.246%, 단백질: 6.777%)를 사용하였다(Table 4, Table 5).

**NIR 스펙트럼 특성분석**

NIRS (FOSS, XRD near-infrared)에 의해 얻어진 NIR 스펙트럼 해석과 특성파악을 위해 WINISI III project manager (FOSS, ver. 1.50e) 프로그램을 사용하였다.

적외선은 적색선의 끝보다 더 바깥쪽에 있는 전자기파이며, 가시광선이나 자외선에 비해 강한 열선작용을 가지고 있다. 전체 적외선 영역은 700 nm에서 25,000 nm에 해당하며 그 중 근적

Table 4. Comparison of amylose content (%) in standard brown rice varieties by different methods

Methods	Brown rice varieties			
	Sinseon-chal	Baegjinju	Chu-cheong	Goami
Iodine <sup>z</sup>	6.881	11.490	19.731	23.246
NIRS <sup>y</sup>	4.994 (±0.649)	13.094 (±0.623)	18.633 (±0.687)	20.548 (±0.739)
Difference <sup>x</sup>	1.887	-1.604	1.098	2.698

<sup>z</sup>Mean iodine method for amylose content.

<sup>y</sup>Mean near-infrared reflectance spectroscopy for amylose content.

<sup>x</sup>Mean calculated value by subtracting NIRS amylose content from iodine amylose content.

Table 5. Comparison of protein content (%) in standard brown rice varieties by different methods

Methods	Brown rice varieties			
	Sinseon-chal	Baegjinju	Chu-cheong	Goami
Micro Kjeldahl <sup>z</sup>	6.890	6.260	6.350	6.777
NIRS <sup>y</sup>	6.824 (±0.097)	6.671 (±0.110)	6.869 (±0.097)	7.389 (±0.108)
Difference <sup>x</sup>	0.066	-0.411	-0.519	-0.612

<sup>z</sup>Mean micro Kjeldahl method for protein content.

<sup>y</sup>Mean near-infrared reflectance spectroscopy for protein content.

<sup>x</sup>Mean calculated value by subtracting NIRS protein content from micro Kjeldahl protein content.

200 nm	400	700	2,500	25,000	5,000,000 nm
UV	Visible	Near-Infrared	Mid-Infrared	Far-Infrared	
50,000 cm <sup>-1</sup>	25,000	14,286	4,000	400	2 cm <sup>-1</sup>

Region	Characteristic transitions	Wavelength range (nm)
Near infrared (NIR)	Combinations, Overtones	700-2,500
Middle infrared (MIR)	Fundamental vibrations	2,500-25,000
Far infrared (FIR)	Rotations	25,000-5,000,000

Fig. 1. Division of the infrared region by wavelength and wavenumber.

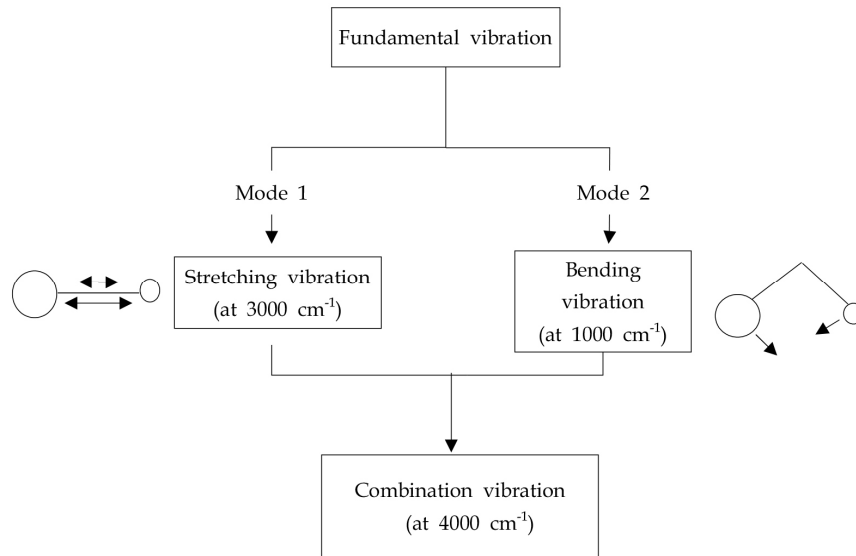


Fig. 2. Schematic of relationship between stretching and bending mode in fundamental vibration.

외선 영역은 700–2,500 nm에 속하고 중적외선 영역은 2,500–25,000 nm로 구분된다(Fig. 1). 적외선의 열선효과는 물질구성 분자의 고유진동수와 상호반응을 일으키기 때문에, 물질에 적외선이 부딪히게 되면 전자기적 공진현상을 일으켜서 에너지가 효과적으로 물질에 흡수될 수 있다(Davies, 2005). 액체나 기체 상태의 물질은 각각의 특유 파장의 적외선을 강하게 흡수하며, 이 흡수 스펙트럼을 분석하여 물질의 화학조성, 반응과정 및 분자구조를 정밀히 추정하는 수단으로 사용한다. 물질을 구성하고 있는 분자들 간의 결합은 고유한 진동수를 가지고 있으며, 이 운동을 분석하면 길이변화에 의한 신축진동(stretching)과 각의 변화에 의한 좌우진동(bending) 또는 변각진동으로 구분될 수 있다. 이러한 신축진동과 변각진동을 기준분자진동 또는 기준진동이라고 한다(Fig. 2). 적외선 영역에서 기준진동과 일치하는 파장이 생기면 1차로 강한 에너지가 분자운동에 흡수된다. 또한 2차로 근적외선 영역에서 2개 이상의 기준진동에 의한 에

너지 흡수가 일어나며 이를 결합진동이라고 한다(Fig. 2). 파수로 해석하면 기준진동의 정수배에 해당하는 파수에서도 배수진동에 의한 에너지 흡수가 일어나며, 이를 1차 배음진동 2차 배음진동 3차 배음진동이라고 한다. 근적외선 스펙트럼에는 결합진동과 배음진동 같은 여러 물질성분 정보가 포함되어 다변량 분석 등의 통계적 방법을 써서 각각의 물질에 대한 정보가 추출되고 해석되어 분자들 간의 화학조성과 반응 및 구조 등의 성분분석을 하게 된다(Fig. 3).

근적외선 영역에서는 특정 작용기의 결합진동(combination)과 배음진동(overtone)이 일어나며 이러한 현상은 1905년 William W. Coblentz에 의해 최초 발견되었고, 이후 여러 연구자들에 의해 이들 결합과 배음진동들이 중적외선영역에서 일어나는 기준진동과 밀접한 관련을 가지고 있다는 사실이 알려졌다(Davies, 2005). 파장과 파수는 서로 역의 관계이며 파수 (cm<sup>-1</sup>)=10<sup>7</sup>/파장(nm)으로 정의된 식을 사용하여 상호 변환된다.

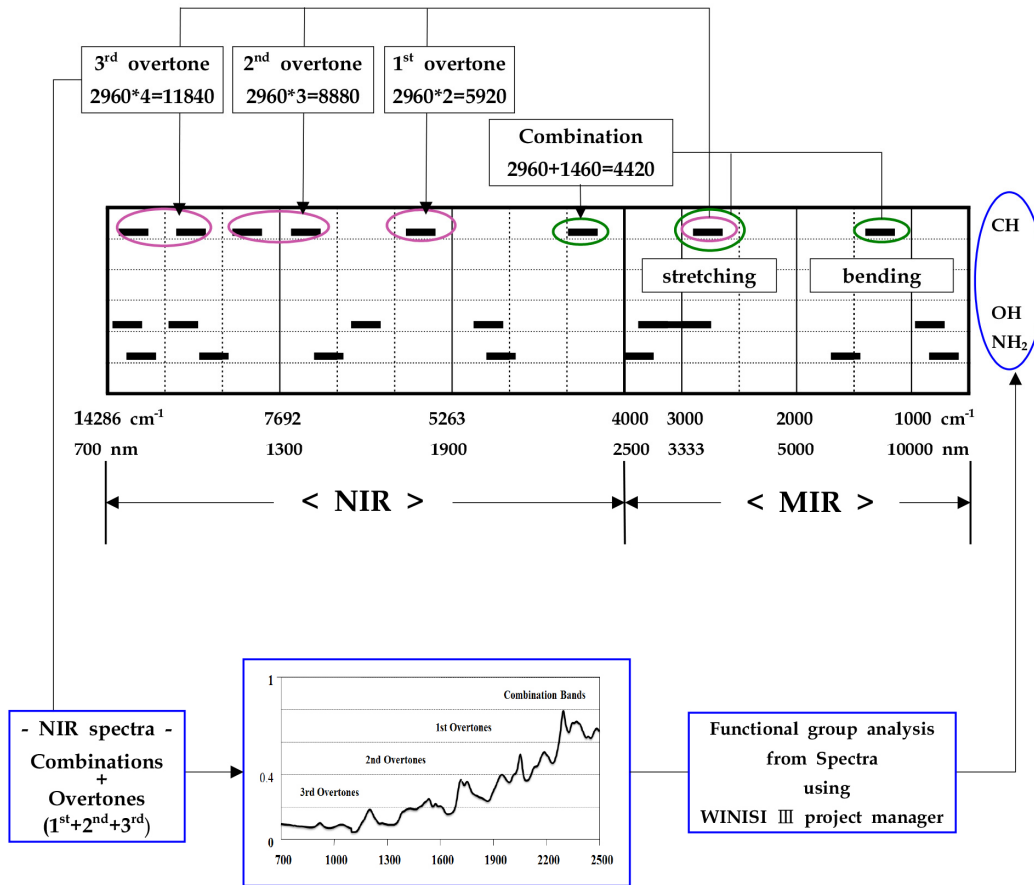


Fig. 3. Procedure of analyzing the data from NIR spectra with functional group absorption bands ranging NIR from MIR region.

파장의 경우 수치가 작을수록 파수의 경우 수치가 클수록 빛 에너지가 크다고 표현한다. 1,900–2,500 nm 파장대에서는 서로 다른 두 종류 작용기의 기준진동을 동시에 일어나게 하는 진동이 나타나며, 이를 결합진동으로 정의하였다(Davies, 2005; McShame, 1989). 중적외선 파장대의 1/2, 1/3, 1/4이 되는 근적외선 영역 700–1,900 nm에서 배음진동이 작용기에 에너지 흡수가 일부 일어나며 이를 각각 1차, 2차, 3차 배음진동으로 정의하였다. Fig. 4의 A는 중적외선영역의 기준진동과 근적외선영역의 배음진동과의 관계를 나타낸 것이다. 어떤 특정 작용기의 stretching이 3,000 cm<sup>-1</sup> 파수에서 일어난다고 가정하면 두 배가 되는 6,000 cm<sup>-1</sup>에서는 1차 배음진동이, 세 배가 되는 9,000 cm<sup>-1</sup>에서는 2차 배음진동이, 네 배가 되는 12,000 cm<sup>-1</sup>에서는 3차 배음진동이 일어난다. 또한 기준진동의 흡광도를 기준으로 배음진동의 차수가 커질수록 흡광도가 점차 감소하는데, 그 이유는 작용기 분자가 근적외선을 흡수하여 배음진동이 일어날 수 있는 확률이 점차 감소하기 때문이다. 근적외선영역에서의 흡광도는 중적외선영역에서 보다 대략 10–100배 정도 낮다. 이와

같은 이유로 분자 간 진동이 잘 일어날 수 있는, 가장 작은 질량을 갖는 수소와 비교적 큰 질량을 갖는 탄소, 질소, 산소, 황 등의 분자들이 관여하는 결합이 주로 근적외선영역에서 배음진동을 나타낸다(Pasquini, 2003). Fig. 4의 B는 중적외선영역의 기준진동과 근적외선영역의 결합진동과의 관계를 나타낸 것이다. 어떤 작용기의 stretching이 3,000 cm<sup>-1</sup> 파수에서 일어나고 bending이 1,000 cm<sup>-1</sup> 파수에서 일어난다고 가정하면 이들 파수의 합인 4,000 cm<sup>-1</sup>에서 결합진동이 일어나게 된다. 즉, 4,000 cm<sup>-1</sup> 파수에 해당되는 에너지는 3,000 cm<sup>-1</sup>, 1,000 cm<sup>-1</sup> 파수의 에너지를 작용기의 stretching과 bending 각각에 줄 수 있어서 작용기의 기준진동을 일으키게 된다. 결합진동은 배음진동보다는 일어날 수 있는 확률이 비교적 높기 때문에 상대적으로 높은 흡광도를 보인다(Pasquini, 2003). 700–2,500 nm의 비교적 좁은 범위의 근적외선영역에 하나의 작용기가 결합진동과 1, 2, 3차 배음진동의 파장대를 가지고 있기 때문에 여러 작용기들의 결합진동과 배음진동에 의한 스펙트럼은 상호 중첩된다(Fig. 5). 이러한 특성 때문에 정량 및 정성 분석에 적용하기가 매우 어려워

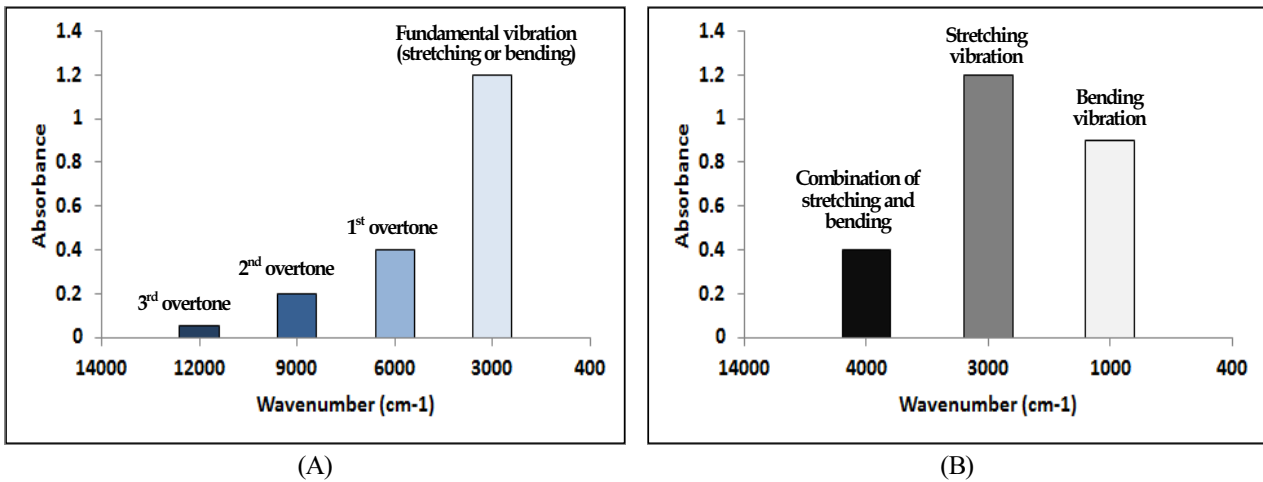


Fig. 4. Relationship of wavenumbers among the fundamental, combination and overtone vibration. A: Correlation between fundamental vibration in mid-infrared (MIR) and overtone vibration. B: Synthesis of combination vibration from two fundamental vibration.

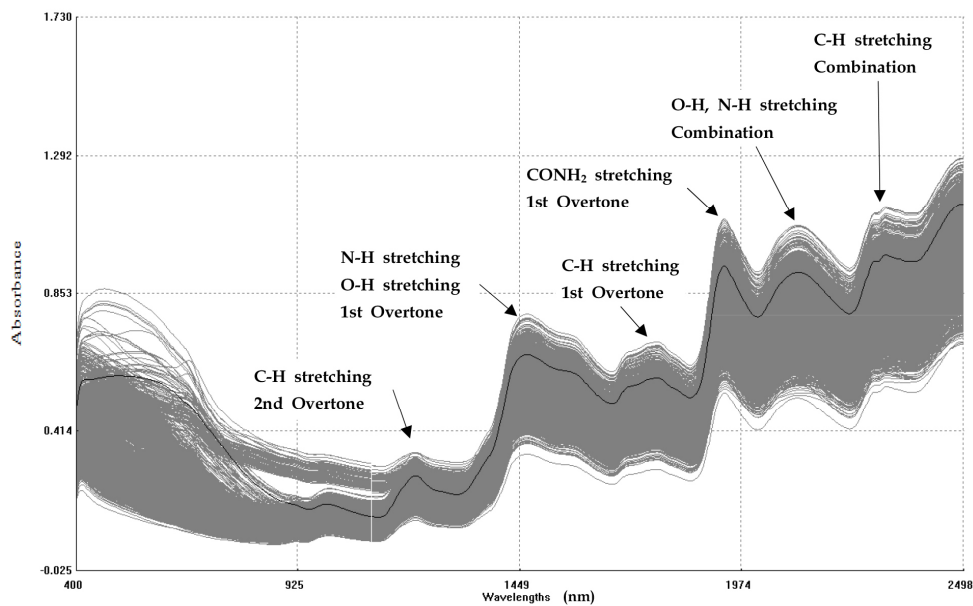


Fig. 5. The NIR spectra from landrace germplasm using NIRS in condition of the milled brown rice.

근적외선에 관한 연구가 활발하지는 않았다. 그러나 1980년대 이후 chemometrics 검량기법과 컴퓨터의 발달로 인해 중첩된 스펙트럼을 분리해내고 해석할 수 있게 되어 다양한 성분 분석에 적용될 수 있었다. Chemometrics는 기존의 일반적인 회귀분석으로는 상관관계를 찾기 어려울 경우, 알고 있는 output (시료의 성분분석결과)을 이용하여 input (시료의 스펙트럼 정보)과의 상관관계를 만드는 방법이며 이에는 다변량분석 등 실험 통계적 기법이 활용된다(Chung *et al.*, 2000; Kim, 1996).

### NIRS를 이용한 아밀로스 및 단백질 함량 측정

현미가루시료 약 600 mg을 micro insert ring을 끼운 mini sample cup에 채운 후 sample cup backs를 이용하여 시료 내 공극을 없애준 후 실온조건 가시광선 및 근적외선 대역(400–2500 nm)에서 한 자원 당 2반복하여 스펙트럼을 측정하였다. 스펙트럼 측정은 NIRS (FOSS, XRD near-infrared)를 사용하였고, 아밀로스 및 단백질 함량 계산은 개발된 NIRS 예측모델이 입력된 NIRS 구동 전용프로그램인 ISI scan (FOSS, ver. 4.2.0)

을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 벼 NIRS분석 검량식에 대한 고찰

선행연구에서 벼 유전자원의 이화학적 성분 분석용 NIRS 예측모델을 개발하고 external validation 과정을 거쳐 미지시료 적용가능성을 검증하였다(Oh *et al.*, 2017). 최종 개발된 예측모델의 RSQ는 아밀로스 함량의 경우 0.970이었고, 단백질함량의 경우 0.983이었다. SEC는 아밀로스 함량의 경우 1.010이었고, 단백질 함량의 경우 0.158이었다. 작성된 검량식의 정확도를 검증하기 위해 검량식 작성에 사용된 벼 유전자원을 사용하여 교차검증한 결과, 1-VR은 아밀로스 함량의 경우 0.967이었고, 단백질 함량의 경우 0.982이었다(Table 2, Oh *et al.*, 2017). 개발된 NIRS 예측모델의 external validation 결과 아밀로스과 단백질의 RSQ값은 각각 0.962, 0.986이었다. SEP 값은 각각 2.349, 0.415였다(Table 3, Oh *et al.*, 2017). 단백질 SEP 값이 아밀로스 SEP 값보다 작으므로 단백질 측정 정확도가 아밀로스 에 비해 높았다. 이는 Hwang *et al.* (1994)이 보고한 결과와 일치하는 경향이었다(아밀로스 SEP 0.882, 단백질 SEP 0.280, Hwang *et al.*, 1994). SEP 값이 아밀로스 함량의 경우 단백질 함량에 비해 높게 나타나는 것은 현미의 경우 미강의 혼입 등 아밀로스과 관련이 적은 성분이 많이 존재하여 시료 분산 상태가 백미에 비해 다르기 때문인 것으로 생각된다(Moon *et al.*, 1994).

### NIR을 이용한 표준품 함량평가

NIRS 분석의 정확성 평가하기 위해 국립식량과학원 남부작물부에서 벼 이화학적 성분분석 기준으로 사용하고 있는 벼 표준품을 이용하였다. 표준품 4자원(신선찰, 백진주, 추청, 고아미)의 NIRS 측정값과 단백질 및 아밀로스 습식분석값을 비교 평가하였다. 아밀로스 함량의 경우 신선찰(6.881%)은 NIRS 측정값 4.994%, 백진주(11.490%)는 NIRS 측정값 13.094%, 추청(19.731%)은 NIRS 측정값 18.633%, 고아미(23.246%)는 NIRS 측정값 20.548%였다. 백진주 NIRS 측정값은 성분분석값 대비 1.6%포인트 높았고, 나머지 표준품들의 NIRS 측정값은 1.1~2.7%포인트 낮았다(Table 4).

단백질 함량의 경우 신선찰(6.890%)은 NIRS 측정값 6.824%, 백진주(6.260%)는 NIRS 측정 값 6.671%, 추청(6.350%)은 NIRS 측정값 6.869%, 고아미(6.777%)는 NIRS 측정값 7.389%

였다. 신선찰 NIRS 측정값은 표준품 성분분석값 대비 0.1%포인트 낮았고, 나머지 표준품들의 NIRS 측정값은 0.4~0.6%포인트 높았다(Table 5). 이상의 결과들을 볼 때 개발된 NIRS 예측모델은 습식분석에 소요되는 시간과 경비를 절감하여 대량의 벼 유전자원에 대한 신속한 이화학적 성분 분석에 적용 가능할 것으로 판단되어 국내외 재래종 벼 유전자원의 대량 분석에 이용하였다.

### 재래종 벼 유전자원의 NIR 스펙트럼 특성

NIRS (FOSS, XRD near-infrared)를 이용한 국내외 재래종 벼 4,948자원의 NIR 스펙트럼 측정결과는 Fig. 5와 같다. 가시광선 영역인 400~800 nm 파장영역에서 흡광도는 550 nm 근처에서 최대치를 나타낸 후 점차 감소하였다. 1,300 nm 근처에서는 시료들 간의 흡광도 차이가 크지 않아 좁은 흡광도 범위에서 스펙트럼들이 중첩되는 현상이 나타났다. 이는 작용기(functional group)의 2차 배음진동이 일어나지 않는 파장 영역과 일치하였다(Stuart, 2004). 1,300 nm 이후 2,500 nm까지 시료별 흡광도 차이가 커지게 되는데 이는 여러 작용기들의 배음 및 결합진동이 일어나는 흡수파장대들이 다수 존재하고, 시료 내 작용기 함량 차이가 반영된 결과이다(Bagchi *et al.*, 2016). 800~2,500 nm NIR 영역에서 작용기들의 흡수파장대 중첩 현상으로 인하여 흡광도 피크들이 뚜렷하게 분리되지 않았고, 6개 주요 피크들을 확인할 수 있었다(Bagchi *et al.*, 2016). 1,200 nm 근처에 나타나는 피크는 C-H stretching 2차 배음진동(overtone), 1,500 nm 근처 피크는 N-H stretching 1차 배음진동과 O-H stretching 1차 배음진동, 1,700~1,800 nm 근처 피크는 C-H stretching 1차 배음진동, 1,900 nm 근처 피크는 CONH<sub>2</sub> stretching 1차 배음진동, 2,100 nm 근처 피크는 N-H stretching 결합진동(combination)과 O-H stretching 결합진동, 2,300 nm 근처 피크는 C-H stretching 결합진동으로 인한 것이다(Stuart, 2004).

WINISI III project manager (FOSS, ver. 1.50e) 프로그램의 find peaks 기능을 이용하여 재래종 벼 1자원의 NIR 스펙트럼으로부터 작용기 피크들을 분리한 결과는 Fig. 6과 같다. 쌀의 주요 성분인 녹말(아밀로스과 아밀로펙틴의 혼합물)의 경우 C-H, O-H, C-O 작용기들이 존재하고 단백질의 경우 N-H, amide (CONH), C-H, C=O 작용기들이 존재한다. 녹말성분은 858~918 nm에서 C-H 3차 배음진동이, 1,444~1,546 nm에서 O-H stretching 1차 배음진동이, 1,956~1,966 nm에서 O-H stretching 과 O-H bending 결합진동이, 2,096~2,106 nm에서 O-H bending 과 C-O stretching 결합진동이, 2,276~2,286 nm와 2,320~

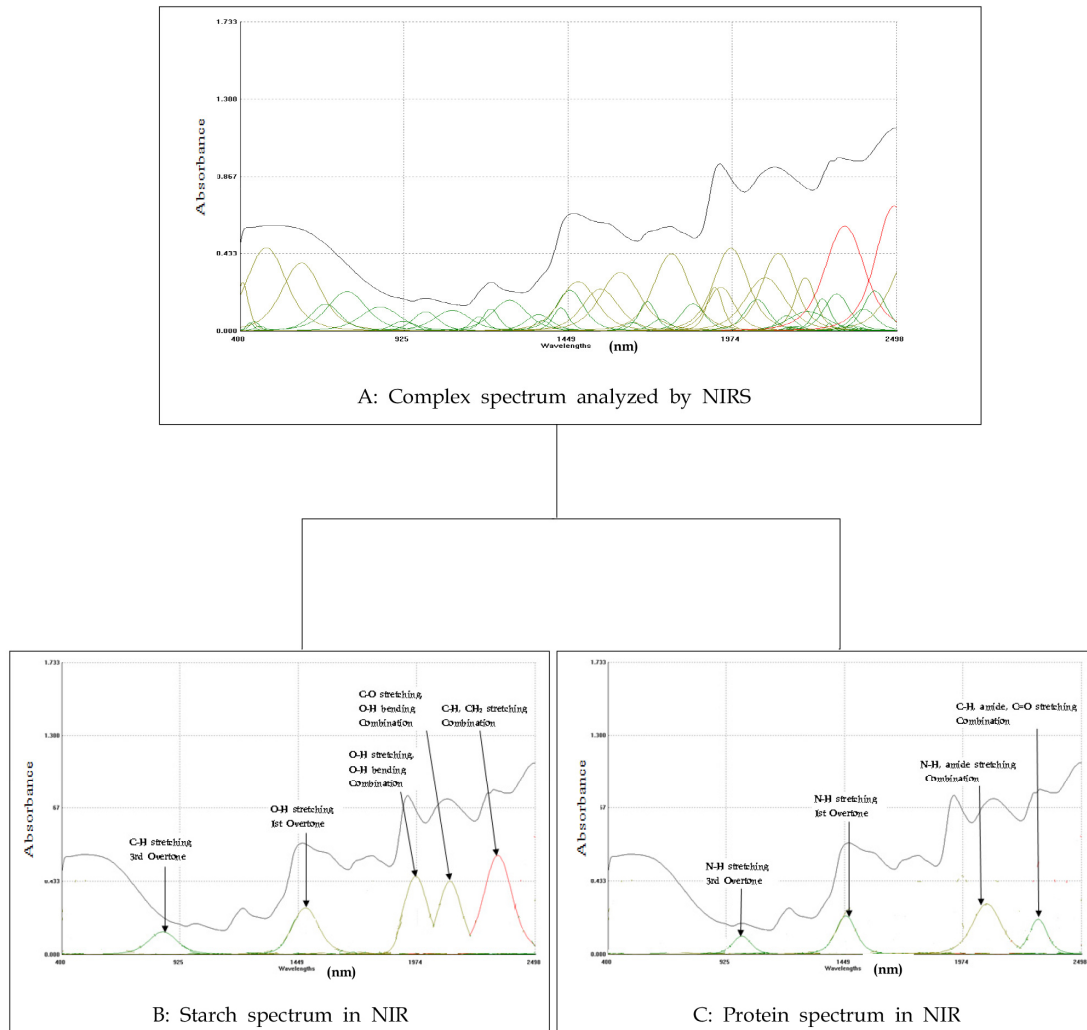


Fig. 6. The peaks separation derived from NIR spectrum shown by a rice landrace using WINISI III project manager program.

2,336 nm에서 C-H stretching과 CH<sub>2</sub> 결합진동이 일어났다 (Fig. 6B). 단백질성분은 870-1,052 nm에서 N-H 3차 배음진동이, 1,506-1,518 nm에서 N-H stretching 1차 배음진동이, 2,050-2,060 nm에서 N-H stretching과 amide (CONH) 결합진동이, 2,056-2,068 nm와 2,176-2,186 nm에서 C-H stretching, amide, C=O 결합진동이 일어났다(Fig. 6C).

### 아밀로스 및 단백질 NIR측정

국내외 재래종 벼 4,948자원의 아밀로스 및 단백질 함량 NIRS 측정결과는 Fig. 7과 같다. 아밀로스 함량은 3.97-37.13%였고 평균 함량은 20.39%였다. 아밀로스 함량 20.06-27.02%인 자원들이 전체 자원의 62.20%를 차지하였다. 이는 우리나라 양질미 품종 선발기준인 17-20% 아밀로스 함량(Son *et*

*al.*, 2002)에 비해 다소 높은 아밀로스 함량이었다. Table 6은 최저 아밀로스 함량 재래종 자원으로부터 50자원을, Table 7은 최고 아밀로스 함량 재래종 자원으로부터 50자원을 함량순으로 표시한 것이다.

단백질 함량은 5.20-17.45%였고 평균 함량은 8.17%였다. 단백질 함량 6.78-9.75%인 자원들이 전체 자원의 81.60%를 차지하였다. 국제미작연구소(IRRI)가 조사한 현미 단백질 함량은 5-17%이고, 평균 함량은 10.60%였다(Lee *et al.*, 2013). 우리나라 벼 품종에 대한 연구보고서에 의하면 일반계는 평균 함량 8.25%, 통일계는 평균 함량 9.03%이고, 양질미 품종 선발기준은 7-9% 단백질 함량이다(Lee *et al.*, 2013). 이와 같이 재래종 벼 유전자원의 단백질 함량 및 평균 함량은 다른 연구결과와 유사하였다. Table 8은 최저 단백질 함량 재래종 자원으로부터 50



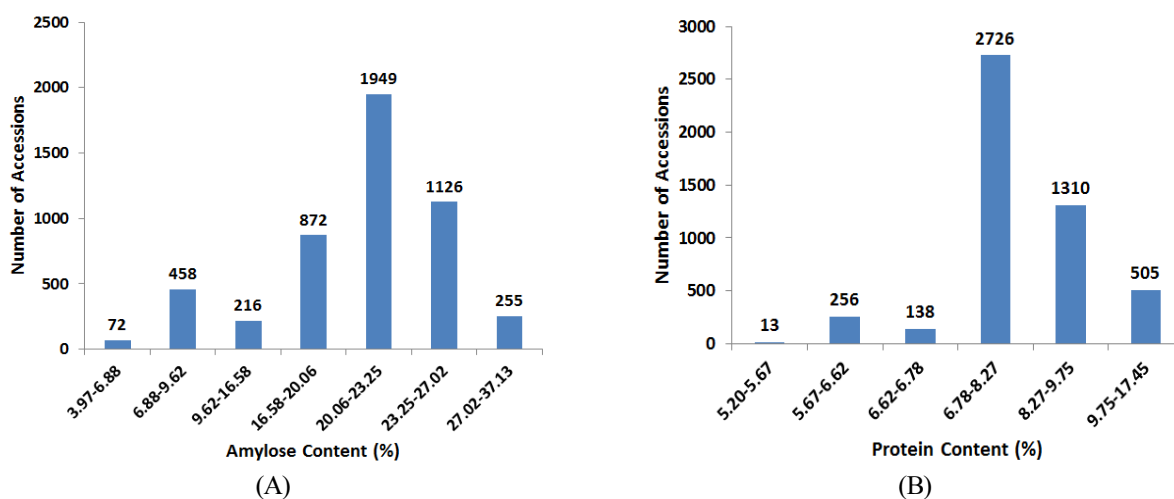


Fig. 7. Amylose (A) and protein (B) content in the rice landrace germplasm using NIRS.

Table 6. Selection of fifty resources with low amylose contents in landrace germplasm

IT Number	Varieties	Content (%)	IT Number	Varieties	Content (%)
248050	JIN WHA	3.969	10562	Idajayuna	6.214
277148	DPKR 036S 10450	5.321	275084	DPKR 036S 10343	6.231
289125	Chichabyeo	5.431	275001	Chungbuk-Goesan-Tojong2011-99	6.234
276966	DPKR 036S 10283	5.454	7250	Hozoroi	6.249
275209	DPKR 036S 399	5.534	195434	Gyeonggimposujip	6.257
219159	Gaeryangna	5.562	277175	DPKR 036S 11487	6.291
277147	DPKR 036S 10449	5.631	242297	Chousen Zairai Mochi	6.325
277181	DPKR 036S 11497	5.671	220679	Redchalbyeo	6.372
185741	Chalbyeo	5.679	277095	DPKR 036S 10342	6.379
275075	DPKR 036M 1333	5.712	276712	DPKR 036M 549	6.418
276956	DPKR 036M 553	5.766	275217	DPKR 036S 4090	6.435
274216	Gawichal	5.769	6397	BAEKHYANGJO	6.436
284203	K 7400-372	5.798	6653	Souhoumochi	6.478
276965	DPKR 036S 10263	5.799	9129	Hongsaeckdo	6.483
113953	LU TAO 2	5.847	212581	Unnam Sujip 19	6.490
276644	DPKR 036M 2093	5.868	7251	Hozoroi	6.513
242304	C8754	5.934	284212	K 6607-665	6.531
7462	Anna	5.940	242068	Heukyeonjindo	6.544
242259	Soyourii	6.056	277156	DPKR 036S 10476	6.548
185739	Chalbyeo	6.059	113934	SHAN KIU JU	6.562
7248	Hozoroi	6.066	220678	Yechunchalbyeo	6.596
5052	Gujungdo	6.073	277349	DPKR 036S 2368	6.609
220681	Hyangmiby eo	6.121	8783	Tenjinho	6.627
275100	DPKR 036S 11662	6.124	283622	Laosjaerae14	6.659
265902	Raosjaerae12	6.168	6277	Bouzu 1	6.660

Table 7. Selection of fifty resources with high amylose contents in landrace germplasm

IT Number	Varieties	Content (%)	IT Number	Varieties	Content (%)
276717	DPKR 036M 566	30.412	277326	DPKR 036S 1223	32.497
113942	TSAO LING HO	30.604	113949	WU MU SZE TAN	32.683
303	JAMUNA	30.681	6421	Takara	32.808
4804	Kairyouisyu 1	30.687	113950	HAN PU CHIH	32.935
113969	HSIAO HEI TAO	30.700	4792	Gaeryang Daejang	32.941
113941	HWANG CHIAO LU TAO	30.854	155926	Basmati 5874	32.990
113977	HWA CHIEN LO KU	30.935	6403	Hansyoku	33.054
113947	PU SAN 1	31.055	4125	TN 1	33.220
113946	TWAN TSI C	31.227	114385	Chung Chang	33.430
113967	HEI TU 4	31.326	5676	Neuseu Byeo	33.551
5866	Ouyamoto Nishiki	31.361	6648	Ssangbong	33.589
155925	Basmati 5854	31.373	113749	CI5476	33.763
113972	HUNG MI HO	31.456	4796	Gaeryang Aeguk	33.845
113966	CHING KAO CHAN	31.516	4802	Kairyou Oomachi	33.852
7732	OegukByeo	31.585	6420	Takara	33.909
113948	HSIN CHOW TSAO SHENG	31.628	2914	Naengdo	33.977
5079	Gwoljosi	31.705	4697	Gaori	34.022
185740	-	31.819	242295	Shaonantem	34.077
7827	Yugsibiljodo	31.833	242272	Kouhokutou	35.055
113751	CI5486	31.979	242275	Ouha	35.067
113971	KUAN YEN CHAN	32.191	266535	Pnompen seobukbu jarae 2	35.287
113965	LAO SHU YA HAO	32.229	155934	Basmati 6141	35.462
113976	YANG KU TSI	32.255	165749	Col/Bhutan/1970(Col7)	36.107
2891	LIU-TOU-TZE	32.386	2632	KATAKTARA(AUS)	36.185
7405	Jinsho-chu 1	32.406	4309	Te Tep	37.132

자원을, Table 9는 최고 단백질 함량 재래종 자원으로부터 50자원을 함량순으로 표시한 것이다.

Fig. 8은 재래종 벼 4,948자원의 NIRS를 이용하여 측정하 아밀로스 및 단백질 함량 분포이다. 그래프의 기울기는 함량구간을 구성하는 자원수를 반영한 것으로 특정 함량 구간의 기울기가 크면 그 구간의 자원수가 적음을 나타낸다. 아밀로스 함량 분포는 약 10%에서 17%까지 급격한 함량증가와 약 17%에서 27%까지 완만한 함량증가를 보였으며, 이후 37.13%까지 급격한 함량증가를 보였다. 단백질 함량 분포는 약 6.5%에서 10.0%까지 완만한 함량증가를 보였으며 이후 17.5%까지 급격한 함량증가를 보였다.

아밀로스 함량과 단백질 함량간의 상관관계를 알아보기 위

해서 각 성분함량 그래프를 만든 후 추세선을 작성하고 RSQ값을 확인하였다. RSQ값은 0.0012였고, 두 성분함량 간 상관관계는 나타나지 않았다. 대부분의 재래종 벼를 단백질 함량이 6-11%이고 아밀로스 함량 5-10% 구간과 17-29% 구간에 속하는 두 유형으로 분류할 수 있었다(Fig. 9).

#### NIR에 의한 재래종 벼 유전자원의 아밀로스 함량 분류

벼를 아밀로스 함량 기준으로 분류하는 방법은 아밀로스 함량 7.1-13.6%를 중간찰벼로 나누거나(Kim *et al.*, 1991) 아밀로스 함량 1-2%를 찰(waxy), 7-20%를 저아밀로스, 20-25%를 중간아밀로스(뽕쌀), 25% 이상을 고아밀로스로 나누는 것이다(Jeong *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2008).

Table 8. Selection of fifty resources with low protein contents in landrace germplasm

IT Number	Varieties	Content (%)	IT Number	Varieties	Content (%)
283624	Bangladeshjarae6	5.201	4804	Kairyousyu 1	5.855
275023	DPKR 036M 11568	5.202	4309	Te Tep	5.858
5079	Gwoljosi	5.266	6421	Takara	5.872
9094	Homyo Jindo	5.294	299187	Korbei	5.893
2914	Naengdo	5.297	291952	KuliqqiDaykat	5.905
4802	Kairyoo Oomachi	5.414	276572	DPKR 036M 11579	5.912
10486	Kumamoto 1	5.431	9422	Dodo	5.919
229820	NPL-MKH-2002-67	5.450	286660	Kuliqqi	5.927
276554	DPKR 036M 1095	5.468	276686	DPKR 036M 340	5.927
4792	Gaeryang Daejang	5.490	286652	Qinablayan	5.938
5676	Neuseu Byeo	5.572	185740	-	5.943
6648	Ssangbong	5.593	6713	Seongna	5.954
5669	Nongjanguigwang	5.609	216765	Ziok Do 49	5.963
6420	Takara	5.694	235798	Yonamdo	5.976
114395	CI 5481	5.717	6551	Sandadagido	5.990
123663	Okgyeong	5.718	7405	Jinsho-chu 1	5.996
4796	Gaeryang Aeguk	5.744	286655	DinannayDaykat	6.008
7587	Yeo Byeo	5.759	276655	DPKR 036M 2137	6.014
276886	DPKR 036M 1335	5.777	242275	Ouha	6.016
10158	Kodama Nishiki	5.788	280061	Beagami	6.021
276717	DPKR 036M 566	5.815	7765	Asahi 1	6.053
6677	Ishijiromochi	5.831	6727	Sodo	6.054
6490	Fusaku Shirazu	5.833	6403	Hansyoku	6.058
7732	Oeguk Byeo	5.843	8716	Jinando	6.060
113936	HAN PU CHIH	5.850	8795	Cheonjudo	6.089

본 연구에서 NIRS 분석의 정확성 평가하기 위해 사용한 현미 표준품들인 신선찰, 백진주, 추청, 고아미는 각각 찰, 저아밀로스, 중간아밀로스, 고아밀로스 벼들을 대표할 수 있는 벼 품종들이다. Kim *et al.* (1991), Jeong *et al.* (2013)과 Song *et al.* (2008)의 분류기준을 참조하여 현미 표준품들의 NIRS 측정값을 함량구간의 중간값이 되게 아밀로스 함량구간을 나누게 되면 6% 미만을 찰(waxy), 6-9%를 중간찰, 9-17%를 저아밀로스, 17-21%를 중간아밀로스(뽕쌀), 21% 이상을 고아밀로스로 분류할 수 있다. 이와 같은 기준으로 재래종 벼 유전자원을 분류해보면, 4,948자원 중 찰(waxy) 자원이 18자원, 중간찰 자원이 390자원, 저아밀로스 자원이 353자원, 중간아밀로스 자원이 1,537자원, 고아밀로스 자원이 2,650자원이었다. 고아밀로스 자원이

53.56%, 중간아밀로스 자원이 31.06%로 전체 재래종 4,948자원의 84.62%를 차지하였다(Table 10).

**재래종 벼 유전자원의 원산지별 아밀로스 및 단백질 함량 특성**

41개국에서 수집된 재래종 4,948자원 중 한국 원산지 자원은 1,232자원, 북한 원산지 자원은 1,073자원, 일본 원산지 자원은 942자원, 중국 원산지 자원은 581자원으로 이들 자원들이 전체 재래종 자원의 80.3%를 차지하였다(Table 1). 재래종 4,948자원을 자원 비중이 큰 4개국 원산지 자원들을 대상으로 아밀로스 및 단백질 함량 특성을 상호 비교하였다(Fig. 10).

한국 원산지 자원은 아밀로스 함량의 경우 16.58-20.06% 구

Table 9. Selection of fifty resources with high amylose contents in landrace germplasm

IT Number	Varieties	Content (%)	IT Number	Varieties	Content (%)
114071	AO CHUI 2	13.205	349	Bai Cyue Ching Yu	14.146
114279	KEN YEN	13.225	113978	PAI JH TSAO	14.278
114080	CHIH SHEN LI	13.282	114031	HSIN NUNG JU	14.280
114138	P 152	13.305	8331	Jeokdo	14.327
8158	Ibaeksangyu	13.315	114304	PA JU	14.339
114284	HWA LO HUNG	13.324	114070	TA TSAO	14.373
4980	Gwang Tao Sue Tao	13.330	8290	Jaeraedo	14.449
113942	TSAO LING HO	13.332	114127	P 171	14.611
113974	HUNG SOH	13.390	8299	Jaeraejongna	14.622
114280	HUNG HSIEN JU	13.394	276625	DPKR 036M 1324	14.675
113937	HSIAO WU TSU TSI	13.421	276578	DPKR 036M 11626	14.773
114205	HWANG MIAO CHAN	13.533	276621	DPKR 036M 1292	14.827
276594	DPKR 036M 11758	13.581	9224	HubyeoIna	14.898
114309	YEN SHAN MA CHIU KU	13.602	114039	CHUNG CHUCH	14.964
8373	Jeonwangdo	13.641	276564	DPKR 036M 1152	15.042
104442	Reonbarae	13.673	114054	HSUNG TIENG 1	15.196
113977	HWA CHIEN LO KU	13.698	113971	KUAN YEN CHAN	15.296
276608	DPKR 036M 1180	13.782	114053	HSUNG TIENG	15.361
111013	Yukdochalbyeo	13.782	8436	Jogaeng	15.384
114283	YU TAO	13.790	8294	Jaeraejodo	15.582
113947	PU SAN 1	13.817	276588	DPKR 036M 11707	15.606
113972	HUNG MI HO	13.948	114278	TSU TA LI	15.710
276547	DPKR 036M 1075	14.010	104619	Yeomyeong(Reimei)	15.807
113495	Tadukan	14.047	114049	PI 160677	16.480
114047	AI KWOH 4	14.112	8289	Jaeraedo	17.451

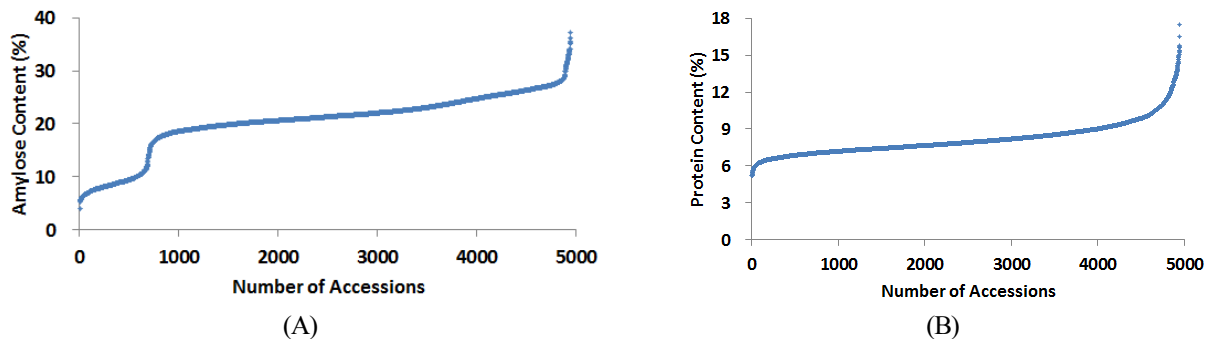


Fig. 8. Distribution of amylose (A) and protein (B) content in the rice landrace germplasm using NIRS.

간에서 자원구성비율이 43.17%로 다른 원산지 자원 대비 높은 수치를 나타냈다. 단백질 함량의 경우 6.78-8.27% 구간에서 자

원구성비율이 58.36%였다.

북한 원산지 자원은 아밀로스 함량의 경우 23.25-27.02% 구

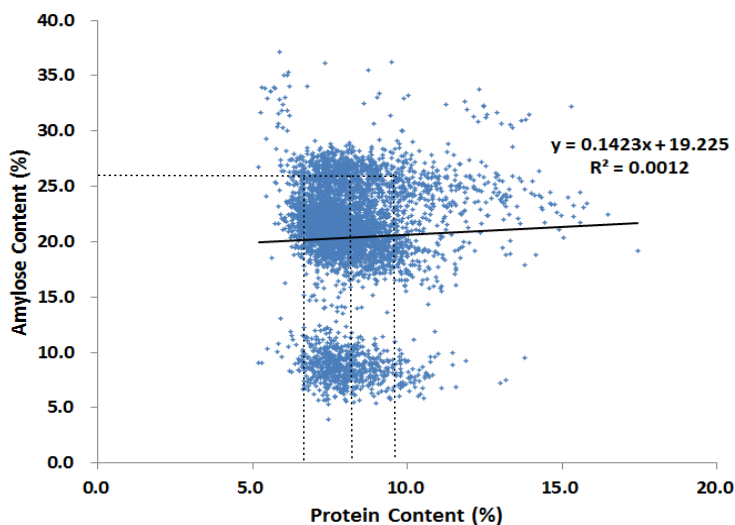


Fig. 9. Coefficient of determination ( $R^2=0.0012$ ) between amylose and protein contents in the rice landrace germplasm by NIRS.

Table 10. Classification of rice landrace germplasm according to amylose content by NIRS

	Rice type				
	Waxy (below 6%)	Middle waxy (6-9%)	Low amylose (9-17%)	Middle amylose (17-21%)	High amylose (over 21%)
Number of accessions	18	390	353	1537	2,650
Ratio of accessions (%)	0.36	7.88	7.14	31.06	53.56

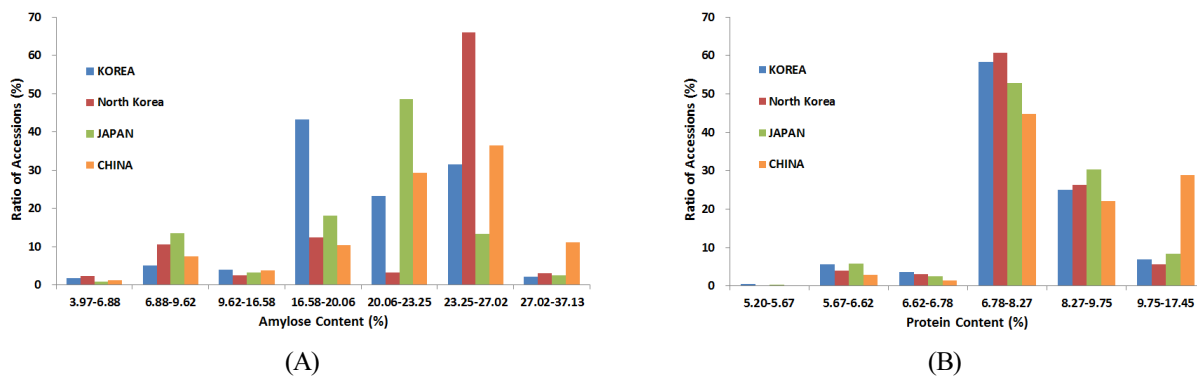


Fig. 10. Amylose (A) and protein (B) content in the rice landrace germplasm of four countries using NIRS.

간에서 자원구성비율이 65.90%로 다른 원산지 자원 대비 높은 수치를 나타냈다. 단백질 함량의 경우 6.78-8.27% 구간에서 자원구성비율이 60.76%였다.

일본 원산지 자원은 아밀로스 함량의 경우 20.06-23.25% 구간에서 자원구성비율이 48.51%로 다른 원산지 자원 대비 가장 높은 수치를 나타냈고, 23.25-27.02% 구간에서 자원구성비율이 13.27%로 다른 원산지 자원 대비 낮은 수치를 나타냈다. 단백

질 함량의 경우 6.78-8.27% 구간에서 자원구성비율이 52.87%였다.

중국 원산지 자원은 아밀로스 함량의 경우 27.02-37.13% 구간에서 자원구성비율이 11.17%로 다른 원산지 자원 대비 높은 수치를 나타냈다. 단백질 함량의 경우 6.78-8.27% 구간에서 자원구성비율이 44.85%로 다른 원산지 자원 대비 낮은 수치를 나타냈고, 9.75-17.45% 구간에서 자원구성비율이 28.87%였다.

아밀로스 함량의 경우 원산지별 특성이 뚜렷하게 나타났다. 한국 원산지 자원은 16.58-20.06% 구간에서, 북한 원산지 자원은 23.25-27.02% 구간에서, 일본 원산지 자원은 20.06-23.25% 구간에서, 중국 원산지 자원은 27.02-37.13% 구간에서 타 자원 대비 높은 자원구성비율을 나타냈다.

단백질 함량의 경우 중국 원산지 자원만의 특징이 나타나는 6.78-8.27% 구간과 9.75-17.45% 구간을 제외하면 원산지별 특성이 뚜렷하게 나타나지 않았다.

## 적 요

본 연구는 선행연구에서 개발된 근적외선 분광분석(NIRS) 예측모델을 기반으로 국내외 재래종 벼 유전자원의 아밀로스 및 단백질 함량 분석을 실시하여 자원의 분포와 지리적 특성에 대한 정확한 정보를 제공하고 벼 유전자원에 대한 대량평가 체계를 구축하기 위해 수행하였다. 벼 성분분석 표준품의 아밀로스(NIRS)와 NIR 측정값의 비교는 신선찰(성분분석값: 6.881%) 4.994%, 추청(19.731%) 18.633%, 고아미(23.246%) 20.548%였고, 단백질의 경우 신선찰(성분분석값: 6.890%) 6.824%, 추청(6.350%) 6.869%, 고아미(6.777%) 7.839%였다. NIR 측정값은 표준품 성분분석값 대비 아밀로스는 1.1-2.7%포인트 낮았으며 단백질은 0.4-0.6%포인트 높았다. 국내외 재래종 벼 4,948자원의 NIR 스펙트럼은 다양한 작용기들의 결합진동과 배음진동이 나타나 1,300-2,500 nm에서 큰 흡광도 차이를 보였고, NIRS를 이용한 아밀로스 함량은 3.97-37.13%였으며, 평균 함량은 20.39%였다. 아밀로스 함량 20.06-27.02% 구간에 있는 자원들은 전체 자원의 62.20%를 차지하였다. 단백질 함량구간은 5.20-17.45%였고, 평균 함량은 8.17%였다. 단백질 함량 6.78-9.75% 구간에 있는 자원들은 전체 자원의 81.60%를 차지하였다. 아밀로스 함량과 단백질 함량간에는 유의성이 없었으며 RSQ 값은 0.0012였다. 아밀로스 함량 기준으로 선별된 저아밀로스 50자원은 3.97-6.66%였고 고아밀로스 50자원은 30.41-37.13%였다. 단백질 함량 기준으로 선별된 저단백질 50자원은 5.20-6.09%였고 고아밀로스 50자원은 13.21-17.45%였다. 41개국에서 수집된 재래종 4,948자원 중 한국 재래 자원이 가장 많았으며 24.9%를 차지하였다. 자원수가 가장 많은 아밀로스 함량 구간은 한국 자원이 16.58-20.06%, 일본 자원이 20.06-23.25%, 북한 자원이 23.25-27.02%, 중국 자원이 27.02-37.13%였다. 단백질은 5.20-17.45% 구간에서 전반적으로 유사한 분포를 보였으나 중국 자원은 6.78-8.27% 구간에서 자원비율이 낮았고 9.75-

17.45% 구간에서 자원비율이 높았다. 단백질 함량이 높은 자원은 식품적 활용 가치가 높을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업과학기술연구 개발사업(과제번호: PJ010871)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

## References

- Abrams, S.M., J.S. Shenk, M.O. Westerhaus and F.E. Barton. 1987. Determination of forage quality by near-infrared reflectance spectroscopy: Efficiency of broad based calibration equations. *J. Dairy Sci.* 70:806-813.
- Ahn, H.G. and Y.H. Kim. 2012. Discrimination of Korean domestic and foreign soybeans using near-infrared reflectance spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 57(3):296-300 (in Korean).
- Bagchi, T.B., S. Sharma and K. Chattopadhyay. 2016. Development of NIRS models to predict protein and amylose content of brown rice and proximate compositions of rice bran. *Food Chemistry* 191:21-27.
- Champagne, E.T., K.L. Aett, B.T. Vinyard, B.D. Webb, A.M. McClung and F.E. Barton. 1997. Effects of drying conditions final moisture content and degree of milling on rice flavor. *J. of Cereal Chemistry* 74:566-570.
- Chikubu, S., S. Watanabe, T. Sugimoto, N. Manabe, F. Sakai and Y. Taniguchi. 1985. Relation between palatability evaluation of cooked rice and physico-chemical properties of rice (part2) establishment of palatability estimation formula of rice by multiple regression analysis. *J. of the Japanese Soc. of Starch Sci.* 31(1):51-60.
- Choi, H.C., H.C. Hong and B.H. Nahm. 1997. Physico-chemical and structural characteristics of grain associated with palatability in japonica rice. *Korean J. Breeding* 29:15-27 (in Korean).
- Chun, J.U. 2010. Rapid measure of color and catechins contents in processed tea using NIRS. *Korean J. Plant Res.* 23(4):386-392 (in Korean).
- Chung, H.I. and H.J. Kim. 2000. Near-infrared spectroscopy: principles. *Analytical Science & Technology*

- 13(1):1-14 (in Korean).
- Clarke, M.A., E.R. Arias and C. McDonald-Lewis. 1992. Near Infrared Analysis in The Sugarcane Factory, Ruspam Commun. Inc., Sugary Azucar Press, LA (USA). pp. 244-264.
- Davies, A.M.C. 2005. An introduction to near infrared spectroscopy. NIR news 16(7):9-11.
- Delwiche, S.R., K.S. McKenzie and B.D. Webb. 1996. Quality characteristics in rice by near-infrared reflectance analysis of whole grain milled samples. J. of Cereal Chemistry 73:257-263.
- Gomez, K.A. 1979. Effect of environment on protein and amylose content of rice. In Chemical Aspects of Rice Grain Quality, IRRI, Philippines. pp. 59-68.
- Han, C.S., K.S. Yon and J.R. Warashina. 1998. Development of a constituent prediction model of domestic rice using near-infrared reflectance analyzer(Ⅱ)-Prediction of brown and milled rice protein content and brown rice yield from undried paddy. J. Korean Soc. Agri. Machinery 23:253-258 (in Korean).
- Han, C.S. and M.Y. Natsuga. 1996. Development of a constituent prediction model of domestic rice using near-infrared reflectance analyzer (1). Korean Soc. for Agri. Machinery 21(2):198-210 (in Korean).
- Hwang, H.G., R.K. Cho, J.K. Sohn and S.K. Lee. 1994. Rapid evaluation of chemical components of rice grain using near infrared spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 39(1):7-14 (in Korean).
- Jeong, J.M., J.U. Jeung, S.B. Lee, M.K. Kim, B.K. Kim and J.K. Sohn. 2013. Physicochemical properties of rice endosperm with different amylose contents. Korean J. Crop Sci. 58(3):274-282 (in Korean).
- Jiang, H.Y., Y.J. Zhu, L.M. Wee, J.R. Dai, T.M. Song, Y.L. Yan and S.J. Chen. 2007. Analysis of protein, starch and oil content of single intact kernels by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in maize. Plant Breeding 126:492-497.
- Juliano, B.O. 1985. Criteria and tests for rice grain qualities. In Rice Chemistry and Technology, American Association of Cereal Chemists, Inc., MN (USA). pp. 443-524.
- Kawamura, S., M. Natsuga, K. Takekura and K. Itoh. 2003. Development of an automatic rice-quality inspection system. Comput. Elect. Agr. 40:115-126.
- Kim, B.J., E.H. Park and C.S. Jung. 1996. Effects of chemical contents variation in covered barley seed on near infrared reflectance spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 41(3):354-361 (in Korean).
- Kim, H.I. 2004. Comparison of Korean and Japanese rice by NIR and chemical analysis. J. East Asian Soc. Dietary Life 14(2):135-144 (in Korean).
- Kim, H.J., S.Y. Kim, Y.S. Lee and Y.H. Kim. 2014. Determination of baicalein contents in *Scutellaria baicalensis* by NIRS. Korean J. Plant Res. 27(4):286-292 (in Korean).
- Kim, J.S., M.H. Song, J.E. Choi, H.B. Lee and S.N. Ahn. 2008. Quantification of protein and amylose contents by near-infrared reflectance spectroscopy in aroma rice. Korean J. Food Sci. Technol. 40(6):603-610 (in Korean).
- Kim, J.S., Y.H. Cho, J.G. Gwag, K.H. Ma, Y.M. Choi, J.B. Kim, J.H. Lee, T.S. Kim, J.K. Cho and S.Y. Lee. 2008. Quantitative analysis of amylose and protein content of rice germplasm in RDA-genebank by near-infrared reflectance spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 53(2):217-223 (in Korean).
- Kim, K.H., M.H. Heu, S.Z. Park, and H.J. Koh. 1991. New mutants for endosperm and embryo characters in rice. Korean J. Crop Sci. 36(3):197-203 (in Korean).
- Kim, Y.B. 1996. NIRS for food analysis (Ⅰ). Bulletin of Food Technology 9(1):24-37 (in Korean).
- Kim, Y.H., C.S. Kang and Y.S. Lee. 2004. Quantification of tocopherol and tocotrienol content in rice bran by near-infrared reflectance spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 49(3):211-215 (in Korean).
- Kwon, Y.R., M.H. Baek, D.C. Choi, J.S. Choi and Y.G. Choi. 2005. Determination of calibration curve for total nitrogen contents analysis in fresh rice leaves using visible and near-infrared spectroscopy. Korean J. Crop Sci. 50(6):394-399 (in Korean).
- Kwon, Y.R., S.H. Cho, Y.E. Song, J.H. Lee and C.H. Cho. 2006. Nondestructive measurement of chemical compositions in polished rice and brown rice using NIR spectra of hulled rice acquired in transmittance and reflectance modes. Korean J. Crop Sci. 51(5):451-457 (in Korean).
- Lee, J.R., K.H. Ma, G.A. Lee, J.G. Gwag, J.S. Lee, H.K. Kang, Y.K. Kim, J.W. Cho and S.K. Lee. 2013. Analysis of grain quality related properties in Korean rice

- land-races germplasm. *Korean J. Crop Sci.* 58(4):468-473 (in Korean).
- McShame, W.J. 1989. Applying NIR to process control. *J. of the American Oil Chemists' Society* 66(5):641.
- Moon, S.S., K.H. Lee and R.K. Cho. 1994. Application of near infrared reflectance spectroscopy in quality evaluation of domestic rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26(6): 718-725 (in Korean).
- Oh, S.J., M.C. Lee, Y.M. Choi, S.K. Lee, M.W. Oh, A. Ali, B.S. Chae and D.Y. Hyun. 2017. Development of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) model for amylose and crude protein contents analysis in rice germplasm. *Korean J. Plant Res.* 30(1):38-49 (in Korean).
- Pasquini, C. 2003. Near infrared spectroscopy: practical aspects and analytical applications. *J. Braz. Chem. Soc.* 14(2):198-219.
- Stuart, B.H. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications.* John Wiley & Sons, Inc., NY (USA). pp. 70-94.
- Shibuya, N. 1990. Chemical structure of cell walls of rice grain and grain quality. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 37(9):740-748 (in Japanese).
- Shu, Q.Y., D.X. Wu, Y.W. Xia, M.W. Gao and A. McClung. 1999. Calibration optimization for rice apparent amylose content by near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *J. of Zhejiang University (Agriculture & Life Science)* 25:343-346.
- Son, J.R., J.H. Kim, J.I. Lee, Y.H. Youn, J.K. Kim, H.G. Hwang and H.P. Moon. 2002. Trend and further research of rice quality evaluation. *Korean J. Crop Sci.* 47:33-54 (in Korean).
- Son, J.R., J.H. Kim, M.H. Lee, J.H. Jung and M.J. Oh. 1996. Chemical properties and fatty acid composition of layers of rice grain. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26:497-503.
- Song, J., J.H. Kim, D.S. Kim, C.K. Lee, J.T. Youn, S.L. Kim and S.J. Suh. 2008. Physicochemical properties of starches in japonica rices of different amylose content. *Korean J. Crop Sci.* 53(3):285-291 (in Korean).
- Song, Y.J., Y.E. Song, N.K. Oh, Y.G. Choi and K.C. Cho. 2006. Relationship between near-infrared reflectance spectra and mechanical sensory score of commercial brand rice produced in Jeonbuk. *Korean J. of Crop Sci.* 51(s):42-46 (in Korean).
- Williams, P. and Norris, K. 1987. *Near-Infrared Technology in Agricultural and Food Industries.* American Association of Cereal Chemists, Inc., MN (USA). p. 330.

(Received 19 April 2017 ; Revised 24 July 2017 ; Accepted 17 August 2017)