

## 근적외선 분광분석기와 동위원소질량분석기를 이용한 밀가루의 원산지 판별

특수검사팀

김지혜 · 최영희 · 조성애 · 고숙경 · 박주성 · 오영희

## Discrimination of Wheat Flour According to Geographical Origin Using Near-Infrared Spectroscopy and Isotope Ratio Mass Spectrometry

*Special Inspection Team*

**Ji-hye Kim, Young-hee Choi, Sung-ae Jo,  
Suk-kyung Ko, Ju-sung Park and Yong-hee Oh**

### Abstract

In this study, NIRS and IRMS were used to determine the geographical origin of Korean, American and Australian wheat flour. Results of NIRS analysis, the classification achieved 98.8% of wheat flour samples assigned to the correct origin. The mean  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values were significantly different among the regions ( $p < 0.05$ ). However,  $\delta^{13}\text{C}$  values seem more effective than  $\delta^{15}\text{N}$  at determining the geographical origin of wheat flour. The result demonstrated that application of NIRS and IRMS along with statistical analysis could be used to discriminate the geographical origin of wheat flour.

**Key words** : wheat, geographical origin, NIRS, IRMS, nondestructive analysis

### 서론

소비자들의 소비행태에 관한 조사에 따르면 우리나라 소비자들은 식품 구입 시 안전성, 품질, 브랜드, 국산 원료 사용 제품 등을 선호하는 것으로

나타나 믿고 먹을 수 있는 안전한 식품에 대해 매우 관심이 높은 것을 알 수 있다(1, 2). 식품 구매 시 원산지는 식품의 구매를 결정짓는 주요 요인 중 하나이지만 우리나라는 농산물의 자급률이 낮고 수입 농산물의 비중이 높아 경제적 이득을 위

해 원산지 허위표시의 문제가 야기되므로 원산지 검증이 점점 더 중요해지고 있다. 더욱이 국가 간의 수출입이 점점 더 자유로워지면서 많은 나라에서 원산지 판별에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 원산지 판별을 하기 위한 분석법으로는 일반성분 분석, DNA 분석, HPLC, GC/MS, ICP-MS, 전자코, ED-XRF, NIRS, IRMS와 같은 기기를 이용한 분석법 등이 사용된다(3, 4). 이러한 분석법으로 수행한 원산지 관련 연구로는 DNA 분석기법을 활용한 소고기의 원산지에 따른 DNA 분석(5), LC/MS 분석을 통한 인삼의 원산지 판별 가능성 검증(6), ICP-MS를 이용한 돼지의 원산지 판별(7), NIRS를 이용한 국산콩과 수입콩의 판별분석(8), IRMS를 이용한 참기름의 원산지 판별(9) 등이 있다. 또한 원산지 판별 연구의 여러 한계점을 극복하기 위하여 두 가지 이상의 분석법으로 함께 분석한 뒤 다양한 통계기법을 통해 판별률을 높이는 노력이 계속되고 있다(10~13). 이러한 원산지 판별에 관한 연구 방법 중 화학적 전처리를 필요로 하는 분석법 대신 XRF, NIRS, IRMS, NMR과 같이 특별한 전처리를 필요로 하지 않아 신속하고 간편한 분석법을 사용한 많은 연구가 진행되고 있다(8, 14, 15).

밀가루 소비량은 1인당 1년에 약 33.2kg으로 우리나라 소비자들이 상당히 많은 양을 소비하고 있어(16) 우리나라 식생활에 중요한 부분을 차지하고 있다. 국내 밀가루와 관련된 연구로는 가공 적성 평가(17), 품질특성(18, 19) 등의 연구가 대부분이고 밀가루의 원산지와 관련한 연구는 충분하지 못하다. 따라서 본 연구에서는 국내산 밀가루와 우리나라에 주로 수입되고 있는 미국산 과호주산 밀가루를 NIRS와 IRMS로 분석하여 밀가루의 원산지 판별 가능성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료

밀가루의 원산지 판별가능성을 알아보기 위하여 국내 대형마트에서 유통되고 있는 국산 및 수입산

밀가루를 대상으로 하였다. 밀가루의 원료 원산지로 구분하여 국내산 밀가루 30건, 미국산 16건, 호주산 40건을 구매하여 총 86건을 물리화학적 처리를 하지 않고 분석하였다.

### 2. 근적외선분광분석기(Near-Infrared Spectroscopy, NIRS) 측정

밀가루의 근적외선 영역에서의 흡수스펙트럼을 측정하기 위하여 시료를 NIR 시료용기(12mm diameter, Thermo Fisher Scientific, USA)에 담아 근적외선분광분석기(NIRS, Antaris II, Thermo, Fisher Scientific Co., USA)로 분석하였다. 시료를 근적외선 영역인 1,000~2,500 nm (10,000~4,000  $\text{cm}^{-1}$ )에서 스펙트럼을 3.857  $\text{cm}^{-1}$  간격으로 측정하여 얻은 값을 1차 미분하여 TQ analysis software(Thermo Fisher Scientific Co., USA)의 classification 분석방법 중 판별분석으로 통계처리 하였다.

### 3. 안정동위원소비 측정

밀가루의 탄소와 질소 안정동위원소비를 측정하기 위해 원소분석기(EA : elemental analyzer, Vario isotope cube, Elementar, UK)를 장착한 동위원소 질량분석기(IR-MS : isotope ratio mass spectrometry IsoPrime PrecisION, UK)를 이용하였다. 분석 전 International Atomic Energy Agency(IAEA)의 국제표준물질로 reference gas 값을 미리 보정하여 사용하였다. 표준물질로는 ammonium sulfate(IAEA-N-2,  $\delta^{15}\text{N}\text{‰} = +20.3\text{‰}$  air $\text{N}_2 \pm 0.2$ ), and caffeine(IAEA-600,  $\delta^{13}\text{C} = -27.771\text{‰}$ VPDB  $\pm 0.043$ )을 사용하였다. Reference gas의 standard deviations (SD)는 0.06‰(n=10) 이하로 하였다. 모든 시료와 표준물질은 reference gas와 함께 측정되었다. 시료 약 5.5 mg을 Tin boat(4×4×11 mm)에 담아 잘 감싼 후 원소분석기에 주입하였다. 주입된 시료는 1050℃의 산화관에서 완전히 연소되어진 뒤 운반기체인 He과 함께 질량 분석기에서 안정동위원소비를 자동으로 측정하였다. 분석에 사용된 기체는 순도 99.999% 이상인 것을 사용하였

다. 탄소와 질소의 안정동위원소비율 값은 relative delta per mil( $\delta$  ‰)을 단위로 하여 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\delta (\text{‰}) = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}-1) \times 1000$$

$R_{\text{sample}}$ 은 시료의 동위원소비를  $R_{\text{standard}}$ 는 reference material인  $\text{CO}_2$ 와  $\text{N}_2$ 의 동위원소비를 나타낸다. 각각의 시료는 3회 반복 측정 후 평균값을 사용하였다. 또한 SPSS ver. 24(spss inc., chicago, IL, USA)를 이용하여 ANOVA(Analysis of variance)에 의해  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple test로 원산지별 유의성을 검증하였다. 또한 분산의 동질성을 검정하여 등분산이 아닐 경우 Tamhane의 T2 test로 유의성을 검증하였다

## 결과 및 고찰

### 1. NIRS를 이용한 판별분석

밀가루의 원산지 판별 가능성을 알아보기 위해 국내 대형마트에서 구입한 국산 30건, 미국산 16건, 호주산 40건의 밀가루를 NIRS로 분석하였다. NIRS 분석 시 그룹간의 판별률을 높이기 위해서는 흡광도에 차이가 있는 구간을 선별하여 데이터 처리하거나(20), 원산지에 따른 차이를 구별하기 어려운 경우 raw spectrum을 1차 미분 또는 2차 미분 등의 방법으로 전처리 함으로써 바탕선의 변화를 제거하고, 원산지 간의 유의적 차이를 발견하여 판별률을 향상시킬 수 있다(8, 21). 따라서 본 연구에서는 근적외선 영역인  $10,000 \sim 40,000 \text{ cm}^{-1}$ 의 전체구간을  $3.857 \text{ cm}^{-1}$  interval로 측정된 데이터를 1차 미분하여 이를 판별분석 하였다. 그림 1은 국산, 미국산 및 호주산 밀가루의 중심점에서 개별 시료와의 거리를 Mahalanobis 거리 값으로 나타낸 것이다. 각 그룹의 중심점에서 가장 근접한 거리값을 가지는 그룹으로 재료의 원산지가 분류되어지는데 국산과 호주산, 미국산과 호주산은 잘 분류되어지지만 국산과 미국산이 겹치는 부분이 있어 표 1과 같이 전체 86건 시료 중 호주산의 경우는 국산과 미국산 밀가루와 확연히

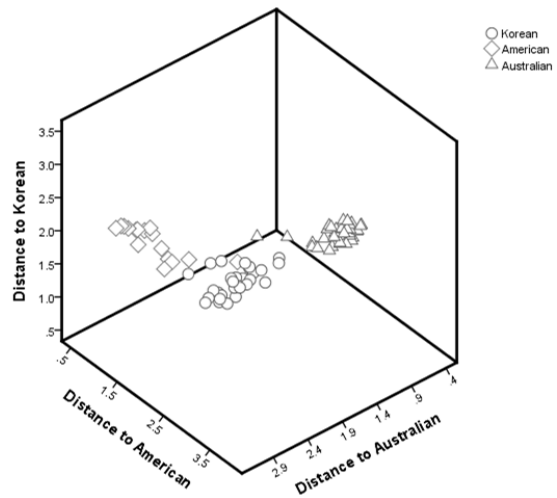


Fig. 1. Calibration results plot based on computation of the distance from each class centroid in Mahalanobis distance units.

분류되어 100%의 판별률을 나타내었지만 미국산 시료 1건이 국산으로 잘못 분류되어 전체 판별률은 98.8%로 나타났다.

Zhao 등(22)은 중국 내에서의 밀의 지역별 판별률은 92.5%로 나타나 지역별로 NIR spectra의 유의적 차이가 있어 밀가루의 원산지 판별가능성을 보고하였고, 그 외에 NIR로 분석하여 국내산과 수입산 송이버섯의 원산지 판별률은 92.9%(23), 국내산콩과 수입콩의 판별률은 100%(8), 국산과 수입산 청국장판의 판별률은 97.5%(20), 국산, 중국산 및 인도산 참깨의 판별률은 89.4%(24)로 보고한 바 있다. 이러한 연구결과들과 비교해 보았을 때 본 연구의 판별률이 98.8%로 높게 나타나 근적외선 분광분석을 이용하여 밀가루의 원산지 판별이 가능할 것으로 보인다.

### 2. IRMS를 이용한 탄소와 질소의 안정동위원소비 측정

국산, 미국산 및 호주산 밀가루의 원산지에 따른 탄소와 질소의 안정동위원소비를 측정하기 위해 원소분석기가 연결된 IRMS로 분석하였다. 전체 밀가루의  $\delta^{13}\text{C}$ 는  $-27.48 \text{‰} \sim -22.96 \text{‰}$ 로 나타났다. 밀가루는  $\text{C}_3$  식물에 해당하는데 다른 연구의

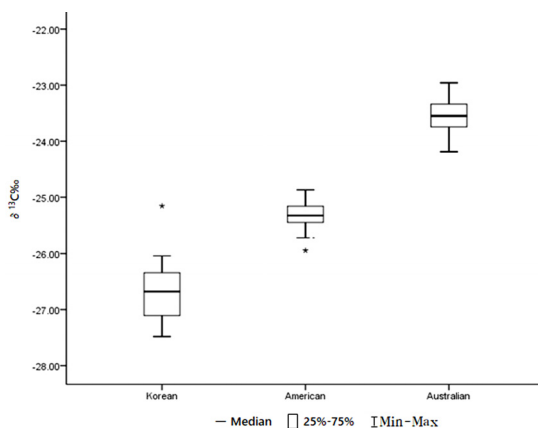
**Table 1.** Classification result for the origin of wheat flour using the discriminant analysis of NIR spectra

	Predicted origin			Total	Correctly classified(%)
	Korea	America	Australia		
Korean wheat flour	30	0	0	30	100
American wheat flour	1	15	0	16	93.8
Australian wheat flour	0	0	40	40	100.0
Total				86	98.8

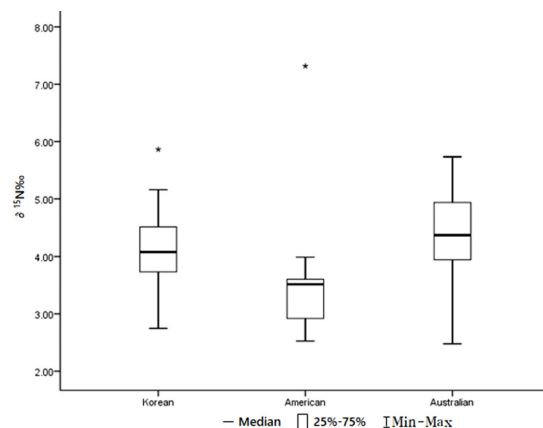
C<sub>3</sub>식물의  $\delta^{13}\text{C}$ 값인  $-32.6\text{‰} \sim -19.2\text{‰}$ 와 일치하였다(25, 26). 국산 밀가루의 경우  $-27.48\text{‰} \sim -25.16\text{‰}$ , 미국산  $-25.94\text{‰} \sim -24.87\text{‰}$ , 호주산  $-24.19\text{‰} \sim -22.96\text{‰}$ 으로 나타났다. 그림 2와 그림 3은 각 나라별 탄소와 질소 동위원소비를 box plot 형태로 나타낸 것이다. 미국산 밀가루의 탄소 동위원소비를 측정하여 얻은 결과인  $-25.53\text{‰} \sim -24.20\text{‰}$  (27~29) 및 호주산 밀가루 분석결과인  $-22.63\text{‰} \sim -22.33\text{‰}$  (28, 29)와 본 연구의 결과는 유사하게 나타났다.  $\delta^{15}\text{N}$ 의 경우 국산은  $2.75\text{‰} \sim 5.86\text{‰}$ , 미국산  $2.52\text{‰} \sim 7.32\text{‰}$  및 호주산  $2.47\text{‰} \sim 5.73\text{‰}$ 으로 나타났다. 표 2는 이에 따른  $\delta^{13}\text{C}$ 와  $\delta^{15}\text{N}$ 의 평균값 및 표준편차를 나타낸 것으로  $\delta^{13}\text{C}$ 는 국산, 미국산 및 호주산 모두 유의한 차이가 있었고  $\delta^{15}\text{N}$ 의 경우 국산과 호주산의 경우

유의한 차가 없었지만 미국산과는 유의한 차가 있었다. 그러나  $\delta^{15}\text{N}$  값의 편차가 커 그룹간의 차이가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 이에 따라  $\delta^{15}\text{N}$ 보다는  $\delta^{13}\text{C}$ 이 밀가루의 원산지를 판별하는 데 있어서 더 좋은 지표가 될 수 있을 것으로 보인다.

밀가루의 동위원소비를 측정하여 얻은 여러 연구에서 밀가루의 종류, 지역별, 수확 연도별로 동위원소비의 유의적 차가 있음을 보고하였고(30~33), 밀과 유사한 듀럼밀의 동위원소비를 분석한 연구에서도 IRMS 결과가 원산지를 분류하는데 효과적이라고 하였다(15). 미국산, 캐나다산, 유럽산 밀가루의 안정동위원소비를 측정하여 얻은 연구에서는  $\delta^{13}\text{C}$ 가 원산지를 판별하는데 있어 유용하나  $\delta^{15}\text{N}$ 의 차이가 커서 유의적 차이가 없었고(27), 중국, 미국, 호주, 캐나다의 밀가루를 분석한 결과에서는  $\delta^{13}\text{C}$ 와



**Fig. 2.** The  $\delta^{13}\text{C}$  values of wheat flour according to geographical origin by IRMS.



**Fig. 3.** The  $\delta^{15}\text{N}$  values of wheat flour according to geographical origin by IRMS.

$\delta^{15}\text{N}$  모두 원산지별로 유의한 차이를 나타내 원산지 구별이 잘 이루어졌다(29). 분석한 밀가루의  $\delta^{13}\text{C}$ 와  $\delta^{15}\text{N}$  값을 동시에 나타낸 결과,  $\delta^{15}\text{N}$ 보다  $\delta^{13}\text{C}$ 에 의하여 원산지별로 시료가 분류되는 것을 확인 할 수 있었다(그림 4).

### 요 약

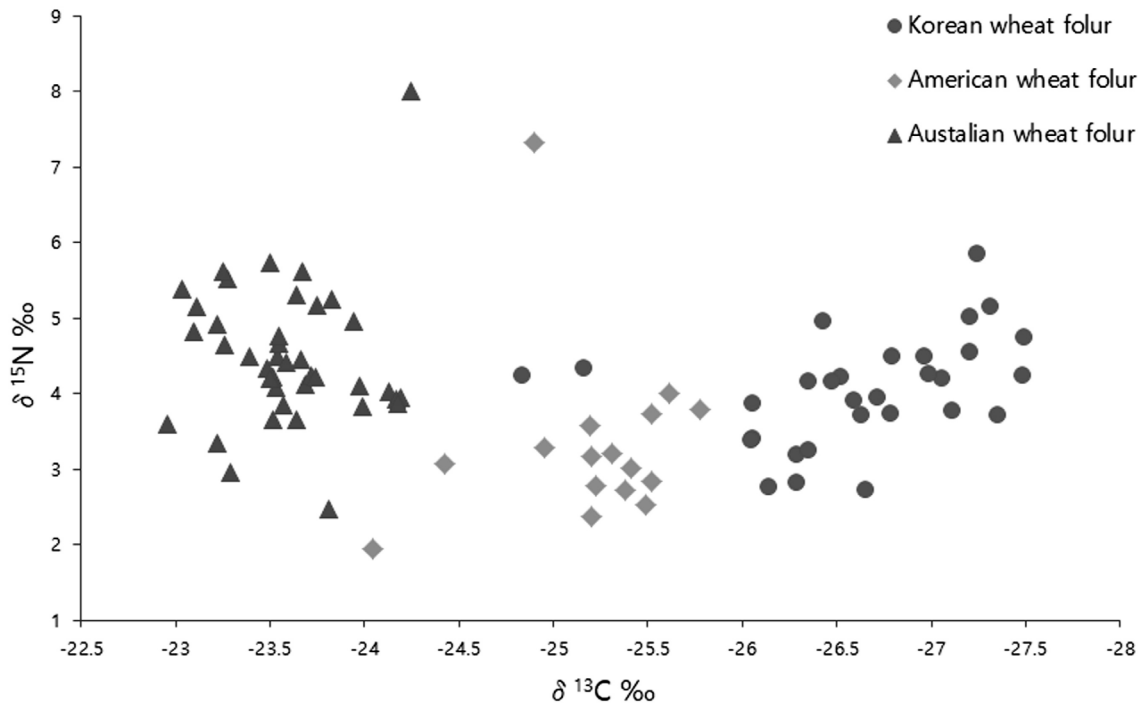
밀가루의 원산지 판별가능성을 알아보기 위해

국내산 밀가루 30건, 미국산 밀가루 16건 및 호주산 밀가루 40건을 비파괴분석법 중 NIRS과 IRMS로 분석하였다. NIRS 분석 결과 밀가루의 근적외선 흡수스펙트럼을 1차 미분하여 판별분석을 수행하였을 때 판별률이 98.8%로 나타났다. IRMS 분석 결과 탄소 및 질소의 동위원소비 모두 유의한 차이를 나타냈지만  $\delta^{15}\text{N}$ 보다는  $\delta^{13}\text{C}$ 의 값이 원산지 판별에 더 적합하였다. 따라서 본 연구 결과 NIRS과 IRMS 분석으로 얻은 데이터를 통계처리 하였을 때 밀가루의 원산지 판별에 유용할

**Table 2.** The mean and standard deviation(SD) of  $\delta^{13}\text{C}$  values and  $\delta^{15}\text{N}$  values of wheat samples

Origin	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$
	Mean $\pm$ Std, Dev. (SD)	Mean $\pm$ Std, Dev. (SD)
Korean wheat flour(n=30)	-26.69 $\pm$ 0.53 <sup>a</sup>	4.05 $\pm$ 0.72 <sup>b</sup>
American wheat flour(n=16)	-25.32 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	3.60 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>
Australian wheat flour(n=40)	-23.58 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	4.41 $\pm$ 0.74 <sup>b</sup>

\* The values in the same column with different lower case letters are significantly different at  $p < 0.05$ .



**Fig. 4.** The distribution of stable carbon and nitrogen isotopic ratio of wheat flour.

것으로 보인다.

### 참고문헌

1. 농림축산식품부 : 2017년 가공식품소비자태도조사. 2018.
2. 한국농촌경제연구원 : 2017 식품소비행태조사 기초분석보고서. 2017.
3. 최진영, 방경환, 한기영, 노봉수 : 식품의 원산지 판별분석. 한국식품과학회지, 44(5):503~525, 2012.
4. Luykx, DMAM and Ruth, SM : An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. Food Chemistry 107:897~911, 2008.
5. Cheong, HS, Kim, LH, Namgoong, S and Shin, HD : Development of discrimination SNP markers for Hanwoo(Korean native cattle). Meat Science, 94:355~359, 2013.
6. Song, HH, Moon, JY, Ryu, HW, Noh, BS, Kim, JH, Lee, HK and Oh, SR : Discrimination of white ginseng origins using multivariate statistical analysis of data sets. Journal of Ginseng Research, 38:187~193, 2014.
7. Kim, JS, Hwang, IM, Lee, GH, Park, YM, Choi, JY, Jamila, N, Khan, N and KIM, KS : Geographical origin authentication of pork using multi-element and multivariate data analyses. Meat Science, 123:13~20, 2017.
8. 안형균, 김용호 : 근적외선분광광도계(NIRS)를 이용한 국내산 콩과 수입콩의 판별분석. 한국작물학회지, 53(3):296-300, 2012.
9. Jeon, H, Lee, SC, Cho, YJ, Oh, JH, Kwon, K and Kim, BH : A triple-isotope approach for discriminating the geographic origin of Asian sesame oils. Food chemistry, 167:363~369, 2015.
10. Kelly, S, Heaton, K and Hoogewerff, J : Tracing the geographical origin of food : The application of multi-element and multi-isotope analysis. Trends in Food Science & Technology, 16:555~567, 2005.
11. Bong, YS, Shin, WJ, Guatam, MK, Jeong, YJ, Lee, AR, Jang, CS, Lim, YP, Chung, GS and Lee, KS : Determining the geographical origin of Chinese cabbages using multielement composition and strontium isotope ratio analyses. Food Chemistry, 135:2666~2674, 2012.
12. Bong, YS, Ryu, JS and Lee, KS : Characterizing the origins of bottled water on the South Korean market using chemical and isotopic compositions. Analytica Chimica Acta, 631:189~195, 2009.
13. Park, YM, Lee, CM, Hong, JH, Jamila, N, Khan, N, Jung, JH, Jung, YC and Kim, KS : Origin discrimination of defatted pork via trace elements profiling, stable isotope ratios analysis, and multivariate statistical techniques. Meat Science, 143:93~103, 2018.
14. 정명실, 이수복 : 에너지 분산형 X-선 형광분석기를 이용한 한약재의 무기질 분석 및 이에 의한 원산지 판별. 한국식품과학회지, 40(2):135~140, 2008.
15. Brescia, MA, Martino, GD, Fares, C, Fonzo, ND, Platani, C, Ghelli, S, Reniero, F and Sacco, A : Characterization of Italian durum wheat semolina by means of chemical analytical and spectroscopic determinations. Cereal Chemistry, 79(2):238~242, 2002.
16. [http://www.kofmia.org/data/stat\\_idx04.jsp](http://www.kofmia.org/data/stat_idx04.jsp)
17. 강천식, 김학신, 정영근, 김정근, 박기훈, 박철수 : 시판 국내산 및 수입산 밀가루 특성과 가공적성 평가. 한국식품저장유통학회, 15(5):

- 687, 693, 2008.
18. 광한섭, 김미정, 김훈, 김상숙 : 시판 우리밀과 수입밀 중력 밀가루의 품질 특성 비교. 한국식품과학회지, 49(3):304~310, 2017.
  19. 김경훈, 강천식, 최인덕, 김학신, 현중내, 박철수 : 근적외선 분광분석기를 이용한 밀 품질 분석 및 계통 선별 응용. 한국육종학회지, 48(4):442~449, 2016.
  20. 강동진, 문지영, 이동길, 이성훈 : 근적외선 분광분석기 및 에너지 분산형 X선 형광분석기를 이용한 청국장 원산지 판별. 한국식품과학회지, 48(5):418~423, 2016.
  21. Woo, YA, Kim, HJ, Cho, JH and Chung, H : Discrimination of herbal medicines according to geographical origin with near infrared reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 21:407~413, 1999.
  22. Zhao, H, Guo, B, Wei, Y and Zhang, B : Near Infrared reflectance spectroscopy for determination of the geographical origin of wheat. Food Chemistry, 138:1902~1907, 2013.
  23. 이남윤, 배혜리, 노봉수 : 근적외선 분광광도법을 이용한 송이버섯의 원산지 판별. 한국식품과학회지, 38(6):835~837, 2006.
  24. Chio, YH, Hong, CK, Park, GY, Kim, CK, Kim, JH, Jung, K and Kwon, JH : A Nondestructive approach for discrimination of the origin of sesame seeds using ED-XRF and NIR Spectrometry with Chemometrics. Food Science and Biotechnology, 25(2):433~438, 2016.
  25. Basu, S, Agrawal, S, Sanyal, P, Mahato, P, Kumar, S and Sarker, A : Carbon isotopic ratios of modern C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> plants from the gangetic plain, and India and its implications to paleovegetational reconstruction. Paleogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 440:22~32, 2015.
  26. Swap, RJ, Aranibar, JN, Dowty, PR, Gilhooly III, WP and Macko, SA : Natural abundance of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation of southern Africa: patterns and implications. Global Change Biology, 10:350~358, 2004.
  27. Branch, S, Burke, S, Evans, P, Fairman, B and Briche, CSJW : A preliminary study in determining the geographical origin of wheat using isotope ratio inductively coupled plasma mass spectrometry with <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N mass spectrometry. J. Anal. At. Spectrum, 18:17~22, 2003.
  28. Wu, Y, Luo, D, Dong, H, Wan, J, Luo, H, Xian, Y, Guo, X, Qin, F, Han, W, Wang, L and Wang, B : Geographical origin of cereal grains based on element analyser-stable isotope ratio mass spectrometry(EA-SIRMS). Food Chemistry, 174:553~557, 2015.
  29. Luo, D, Dong, H, Luo, H, Xian, Y, Wan, J, Guo, X and Wu, Y : The application of stable isotope ratio analysis to determine the geographical origin of wheat. Food Chemistry, 174:197~201, 2015.
  30. Wadood, SA, Guo, B, Liu, H, Wei, S, Bao, X and Wei, Y : Study on the variation of stable isotopic fingerprints of wheat kernel along with milling processing. Food Control, 91:427~433, 2018.
  31. Liu, H, Guo, B, Wei, Y, Wei, S, Ma, Y and Zhang, W : Effects of region, genotype, harvest year and their interactions on  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta\text{D}$  in wheat kernels. Food Chemistry, 171:56~61, 2015.
  32. Liu, H, Guo, B, Zhang, B, Zhang, Y, Wei, S, Li, M, Wadood, SA and Wei, Y :

Characterizations of stable carbon and nitrogen isotopic ratios in wheat fractions and their feasibility for geographical traceability: A preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69:149~155, 2018.

33. Rashimi, D, Shree, P and Singh, DK : Stable isotope ratio analysis in determining the geographical traceability of Indian wheat. *Food Control*, 79:169~176, 2017.