

연구과제 연차실적·계획서

과 제 명	질량분석기를 이용한 쌀 신구곡 판별방법				
총연구기간	2018년 1월 ~ 2020년 12월	당해연도 연구기간	2018년 1월 ~ 2018년 12월		
수행부서/ 세부수행부서	전남지원 품질관리과 (자체)	연구 책임자	구분	직위(급)	성명
			정	과장	김재호
			부	팀장	이성우
		참여 연구원	직위(급)		성명
			팀장		조지미
참여부서					
사업구분	단년도 () 다년도 (√)	총 (3)개년 중 (1)차 연도			
연구결과 요약	전국에서 재배되고 있는 쌀을 품종별로 23건 채취하여 보관 창고에 보관 중 월별로 신구곡 지표물질인 솔비톨 함량을 측정하였다. 쌀의 솔비톨을 질량분석기로 분석한 결과 솔비톨의 직선성(R ²)은 0.998이었고, 저장 중 2017년도 햅쌀의 솔비톨 함량은 저장기간이 길어짐에 따라 증가하는 추세를 보였다. 1월에는 솔비톨 함량이 평균 0.97 mg/kg으로 낮은 함량을 나타내었으며 10월에는 평균 솔비톨 함량이 25.84 mg/kg, 11월에는 42.68 mg/kg으로 1월보다 크게 증가하는 양상을 나타냈고 10월에서 11월 사이의 솔비톨 함량 변화가 가장 큰 것으로 나타났다. 특히 11월은 평균 솔비톨 함량이 1월보다 40배 이상 증가하는 값을 보여 이러한 점은 11월이 2018년산 햅쌀이 출하되는 시기인 점을 감안할 때 쌀 중 솔비톨 함량은 신구곡과 구곡을 판별할 수 있는 지표물질이 될 수 있음을 확인하였다. 지역별, 품종별 솔비톨 함량은 약간의 차이가 있으나 출하시기의 신구곡 판별에는 영향을 미치는 수준이 아니었다.				

질량분석기를 이용한 쌀 신구곡 판별 방법

1. 연구배경 및 목표

가. 연구배경

매년 햅쌀 출하 시기가 되면 신곡과 구곡의 시세 차익을 얻을 목적으로 양곡을 혼합 판매하는 등의 부정유통에 따른 쌀가격 하락으로 저가미(低價米)가 유통되는 등 양곡시장이 교란 또는 붕괴되어 농가의 수취 가격이 하락하고 영농의지가 상실되는 등 쌀 재배 농가와 품질 좋은 쌀을 제대로 구매하지 못하는 소비자의 피해가 크다. 특히 조기벼를 수확하여 햅쌀을 판매하는 시기에는 햅쌀 구매 수요가 많기 때문에 구곡이 신곡으로 부정 유통될 개연성이 높다.

현재 양곡관리법 제20조의 4(양곡의 혼합금지)제②항2호에 따르면 “생산연도가 다른 미곡 등을 혼합하여 유통하거나 판매하는 행위”를 금지하고 있고 이를 위반할 경우 3년 이하 징역 또는 사용·처분한 양곡을 시가로 환산한 가액의 5배 이하의 벌금을 처하고 있다. 양곡거래업자나 소비자 단체에서는 쌀 연산을 판별할 수 있는 방법을 우리원에 요청하고 있으나 현재까지는 과학적으로 공인화된 분석 방법이 없고 유통 추적조사에 의존하고 있어 이를 수용하지 못하고 있는 실정이다. 따라서 양곡 부정유통 방지 및 쌀 수급 안정을 위한 특단의 대책 마련이 절실하게 필요한 실정이다.

본 연구에서는 양곡의 신구곡 혼합판매 등 부정유통 방지 및 단속을 위한 쌀 신곡과 구곡의 판별이 가능하도록 하여 생산자와 소비자를 동시에 보호할 수 있는 과학적인 분석법을 개발하고 공인화하고자 수행하였다.

나. 연구목표

본 연구는 양곡의 유통질서를 바로 잡고 과학적인 관리 체계를 구축하고자 전국에서 재배되고 있는 주요 벼품종을 수집하여 신구곡 지표성분인 솔비톨(sorbitol)의 분석법과 쌀 중 솔비톨을 추출하는 전처리 방법을 정립하고, 이렇게

개발된 방법으로 저장중 월별로 솔비톨 변화량을 측정하여 신구곡 판별 가능성을 확인하고 양곡의 신구곡 혼합 판매 등 부정유통 방지 및 단속을 위한 쌀 신구곡과 구곡의 판별이 가능하도록 하는 과학적인 분석법을 개발하고 공인화하고자 수행하였다.

2. 연구내용 및 방법

가. 연구내용

신구곡과 구곡 판별을 위한 지표성분인 솔비톨에 대한 질량분석기 분석법을 정립하고, 전국에서 주요 재배되고 있는 품종별 벼를 쌀로 도정하여 쌀의 솔비톨을 분석하고 연산별 쌀의 솔비톨 함량으로 쌀 신구곡 판별 가능성 및 양곡 부정유통 단속 업무 활용 가능성을 확인하고자 한다.

나. 연구방법

1) 시험 시료

국내에서 재배된 2017년산 신구곡은 전국 농협 미곡종합처리장(RPC, rice processing complex)에서 수집하여(16품종, 23점) 시료로 활용하였다. 수집한 벼 시료는 햇빛이 들지 않는 서늘한 창고에서 보관하면서 매일 솔비톨 분석 시료로 이용하였다.

2) 시약 및 시액

솔비톨 표준품은 Sigma-Aldrich(Saint Louis, USA), acetonitrile은 HPLC급을 Merck(Darmstadt, Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 표준원액은 솔비톨 표준품을 물에 녹여 1,000 mg/L가 되게 하였고, 표준용액은 표준원액을 물을 이용하여 적당한 농도로 희석하여 사용하였다. 표준용액 희석과 솔비톨 추출을 위해 이용한 물은 3차 증류수를 사용하였다.

3) 쌀 신구곡 판별방법 개발 및 정립

쌀 신구곡 판별법 개발을 위해 지표물질로 솔비톨을 선정하였다. 쌀 중 솔비톨 분석을 위한 전처리방법과 질량분석기 분석법 정립을 위하여 솔비톨 추출을 위한 기구는 항온수조(Grant Instruments, UK), 진탕기(Geno/Grinder, USA), 원심분리기(TOMY MX-307, Japan) 등을 이용하였고, 솔비톨 정량을 위한 분석

장비는 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS, Shimadzu 8050, Japan)를 이용하였다.

3) 쌀 중 솔비톨 분석

쌀 연산별 솔비톨 분석을 위해 전국에서 수집한 벼를 각각 양파망에 넣어 햇빛이 들지 않고 서늘한 창고에 보관하면서 온도와 습도를 월별로 측정하였다. 창고에 보관된 벼 시료는 현미로 제현하고 이를 다시 정미기를 이용하여 매월 백미로 도정한 뒤 시료로 사용하였다. 백미 시료는 200 g 이상을 확보하고, 솔비톨 정량을 위해 시료 균분기 등을 이용하여 시료 중 부패립, 절단립, 분쇄립 등은 제외한 쌀 10알을 얻어 매월 각각 쌀 한 알씩 분석하여 솔비톨 함량을 평균값으로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

가. 쌀 신구곡 판별방법 개발 및 정립

쌀 신구곡 판별을 위해 활용한 지표물질은 신구곡과 구곡에 특징적인 함량 차이를 나타내는 쌀에 존재하는 솔비톨을 선정하였다. 신구곡 판별법 개발을 위한 쌀 중 솔비톨 분석은 쌀을 한 알씩 분석하는 것을 특징으로 한다. 지표물질로 선정된 솔비톨 분석법 정립은 다음과 같다.

솔비톨 추출을 위해 쌀 한 알의 무게를 전자저울로 칭량한 후 용기에 담아 증류수 0.6 mL와 쇠구슬을 넣고 85℃에서 30분간 항온수조에서 가열 후 1분간 진탕기를 이용하여 격렬하게 진탕하고 85℃에서 30분간 재가열 한다. 상기 시료를 10,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 멤브레인필터(PVDF 재질, 0.2 μ m)로 여과한 후 시험용액으로 하여 액체크로마토그래프-질량분석기로 솔비톨을 분석한다(Figure 1).

솔비톨 분석을 위한 액체크로마토그래프-질량분석기 분석 조건은 Table 1과 같고, 특성 이온 조건은 Table 2와 같다. 또한 솔비톨 표준물질의 크로마토그램은 Figure 3과 같다.

액체크로마토그래프-질량분석기 분석 후 쌀 한 알 당 솔비톨 함량은 다음의 식으로부터 산출하였다.

$$\text{기기 측정농도}(mg/kg) \times \frac{\text{추출시 넣는 물의 양}(mL)}{\text{쌀 한 알의 무게}(g)} = \text{쌀 1 알 내 솔비톨 함량}(mg/kg)$$



Figure 1. 쌀 중 솔비톨 분석법

Table 1. 액체크로마토그래프-질량분석기 분석 조건

UPLC	Nexera X2			
Column	Shodex Asahipak NH2P-50 2D, 5 µ, 2.0 mm i.d. × 150 mm Column Temperature : 40℃			
Injector	Injection volume : 2 µL(기기 감도에 따라 조정)			
Mobile Phase	A : Water B : Acetonitrile			
	Time	Flow (mL/min)	A (%)	B (%)
	Initial	0.45	5	95
	3.0	0.45	90	95
	9.0	0.45	20	80
	13.0	0.45	20	80
	13.5	0.40	95	5
	16.5	0.30	95	5
	17.0	0.30	5	95
	19.0	0.40	5	95
	20.0	0.45	5	95
MS/MS	Shimadzu 8050			
Ionization	Electrospray Ionization(ESI, Negative)			
MS Condition	Interface Temperature : 150 ℃			
	DL Temperature : 250℃			
	Heat Block Temperature : 400 ℃			
	Interface Voltage : 4.0 kV			
	Conversion Dynode Voltage : 10.0 kV Detector Voltage : 1.92 kV			

Table 2. 액체크로마토그래프-질량분석기 분석을 위한 특성이온

분석성분 (Compound)	RT (min)	분자량 (MW)	선구이온 (Precursor ion, <i>m/z</i>)	생성이온 (Product ion, <i>m/z</i>)	충돌에너지 (Collision energy, eV)	이온화 (Ionization mode)
솔비톨 (Sorbitol)	10.179	182.2	181.2	101 71	10 23	ESI, negative

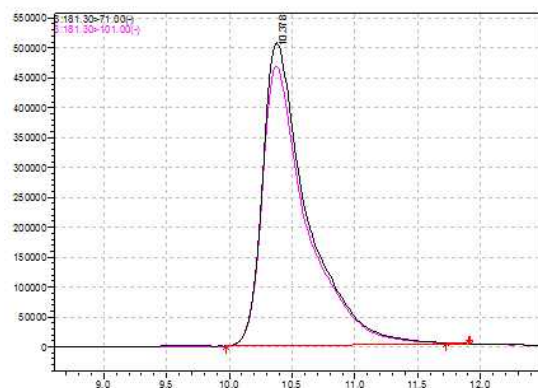


Figure 3. 솔비톨 표준물질 크로마토그램

나. 쌀 중 솔비톨 분석

쌀 중 솔비톨 분석을 위해 전국에서 수집한 벼를 각각 양과망에 넣어 햇빛이 들이 얇고 서늘한 창고에 보관하면서 창고의 온습도 변화를 2018년 1월부터 월별로 측정한 결과는 Figure 4와 같다. 습도는 연평균 60.0 %이며, 2월 습도 52.8 %로 최저, 7월 습도 62.9 %로 최대로 측정되었다. 습도의 월별 변화는 크지 않았으나, 온도는 최저 0.9 °C에서 최대 29.8 °C로 계절에 따른 온도변화가 나타났다.

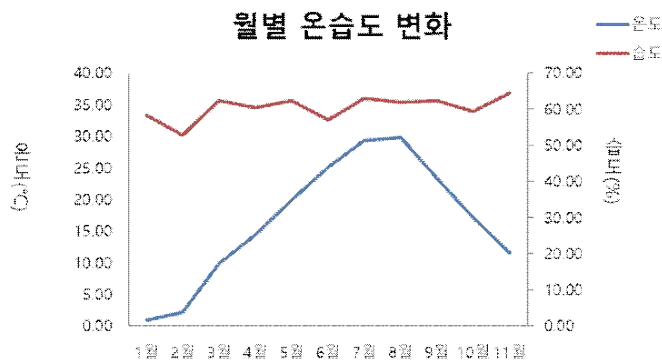


Figure 4. 벼 저장고의 월별 온습도 변화 그래프

쌀 연산별 솔비톨의 함량을 측정하기 위한 솔비톨 표준 검량선은 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 mg/L 농도의 표준용액을 질량분석기에 주입하여 얻은 면적값으로 작성하였고, 검량선의 직선성은 상관계수(R^2)가 0.9979로 Figure 5와 같다.

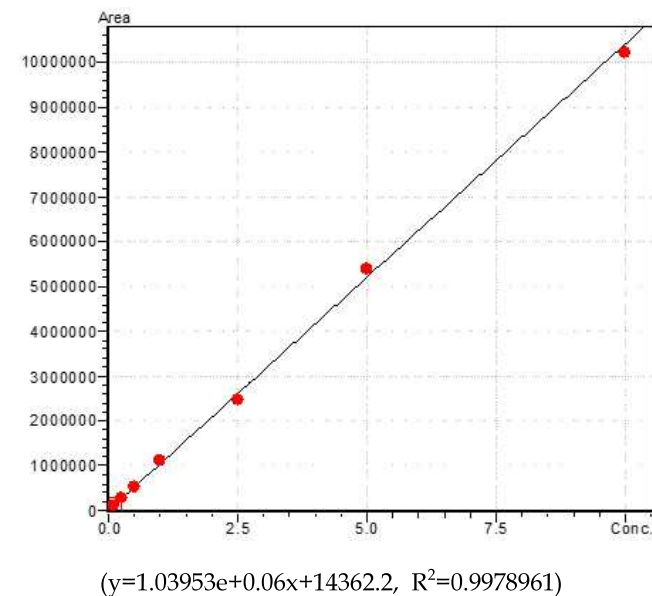


Figure 5. 솔비톨 표준물질의 검량선

2017년에 수확한 벼를 전국에서 수집하여(16품종 23점) 2018년 1월부터 저장 중 매일 쌀로 도정하여 솔비톨 함량을 분석한 결과는 Figure 6과 같다. 초기 1, 2월에는 평균 솔비톨의 함량이 0.97~1.68 mg/kg으로 거의 존재하지 않거나 낮은 함량을 보였고 저장 기간이 경과함에 따라 점차 증가하는 추세로 나타났다. 이러한 1월 솔비톨 함량으로 보아 갓 수확한 햅쌀에서는 솔비톨이 거의 생성되지 않고 저장기간이 경과할수록 자체적으로 생성된다는 것을 유추해 볼 수 있었다. 기온이 높은 7월부터 평균 솔비톨 함량은 10.21 mg/kg으로 1월보다 10배 이상이 증가하였고, 10월에는 평균 솔비톨 함량이 25.84 mg/kg, 11월에는

42.68 mg/kg으로 7월보다 각각 2배, 4배 증가하는 양상을 나타냈고 10월에서 11월 사이의 솔비톨 함량 변화가 가장 큰 것으로 나타났다. 특히 11월은 평균 솔비톨 함량이 1월보다 40배 이상 증가하는 값을 보여 이러한 점은 11월이 2018 년산 햅쌀이 출하되는 시기인 점을 감안할 때 쌀 중 솔비톨 함량은 신곡과 구곡 을 판별할 수 있는 지표물질이 될 수 있음을 확인하였다.

솔비톨의 함량은 지역별, 품종별로 일부 차이가 있었으나, 햅쌀 출하시기의 신구곡 판별에는 영향을 미치는 수준이 아닌 것으로 판단되었다(Table 3). 이는 향후 추진될 2차년도 과제에서 2017년도의 쌀의 솔비톨 함량변화를 지속적으로 측정하여 구분 가능성을 확인 할 것이다.

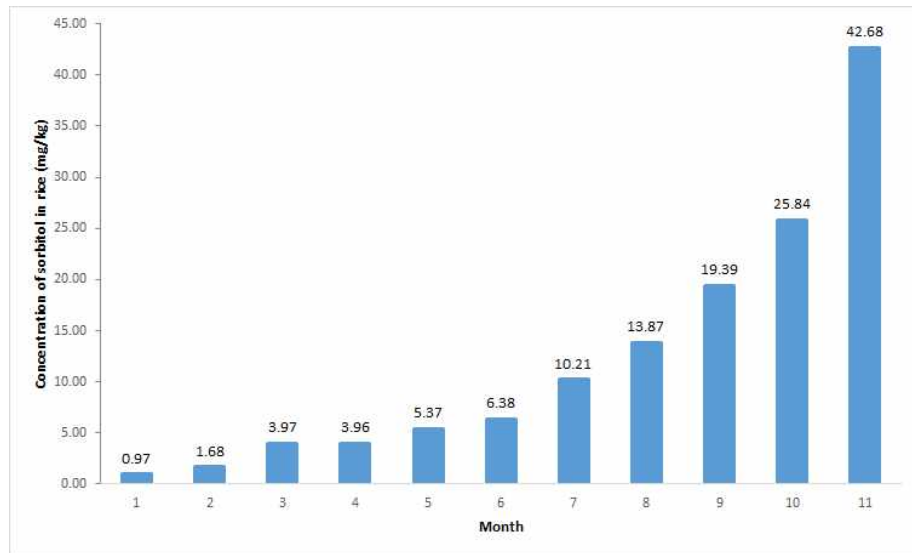


Figure 6. 2017년산(신곡) 쌀 중 솔비톨 함량

Table 3. 지역 및 품종별 쌀 중 솔비톨 함량

생산 년도	지역	시군 구	품종	솔비톨 함량 (mg/kg)										
				1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월
2017	전남	신안	하이 야미	0.70	2.24	6.53	3.02	3.99	5.69	8.85	7.84	8.16	14.14	37.39
2017	전남	고흥	미품	1.30	2.61	6.99	6.91	6.26	7.23	11.93	12.48	13.36	18.50	51.53
2017	전남	담양	신동진	0.80	1.44	4.90	2.69	6.14	6.11	9.20	9.37	18.56	18.82	36.21
2017	전남	장성	새누리	0.70	1.55	3.33	2.84	5.16	6.36	9.69	11.67	9.78	25.50	38.33
2017	전남	담양	새일미	1.20	0.98	6.10	4.20	4.25	4.41	11.68	14.17	8.89	17.55	39.52
2017	전남	함평	호평	1.40	1.47	3.05	2.43	3.38	3.28	8.37	6.67	7.25	16.70	48.96
2017	전남	해남	히토메 보레	1.90	1.69	4.69	3.93	5.44	5.01	8.07	9.95	20.65	15.18	37.65
2017	전남	해남	조명1호	0.00	1.50	4.02	4.61	5.55	5.36	6.98	12.67	18.73	15.53	42.05
2017	광주	북구	황금 누리	1.40	0.60	2.14	2.87	5.24	3.27	7.76	13.89	16.46	15.17	28.60
2017	전북	김제	신동진	1.90	2.58	5.04	5.18	8.74	9.05	8.75	29.88	28.90	22.21	53.30
2017	경남	산청	추청	1.80	1.95	5.39	4.96	9.05	9.77	11.20	16.16	21.24	17.45	46.01
2017	경남	고성	영호 진미	1.00	0.98	2.43	4.26	4.69	3.73	6.83	14.34	17.63	24.58	47.90
2017	경북	고령	삼광	0.70	1.25	5.07	5.18	4.20	6.98	9.91	14.27	21.78	31.57	52.88
2017	경북	구미	일품	0.80	1.41	2.13	3.59	7.61	8.39	8.86	11.19	18.46	37.39	48.39
2017	충북	보은	삼광	0.50	2.19	6.94	5.43	7.79	7.89	6.11	18.04	31.90	32.19	31.80
2017	충북	청주	추청	0.60	0.73	1.83	1.69	2.49	5.78	8.12	19.17	38.91	45.10	28.16
2017	충남	논산	삼광	0.50	3.72	3.40	5.68	8.97	8.84	14.92	11.46	18.46	51.08	58.54
2017	충남	부여	평안	1.40	1.46	3.83	6.38	7.12	9.30	12.45	17.46	25.81	28.09	47.74
2017	경기	안성	추청	0.60	0.71	1.87	2.06	2.42	5.67	12.98	13.14	14.23	19.45	35.15
2017	경기	안성	참드림	0.90	1.64	1.73	2.37	2.89	5.46	4.44	6.38	13.06	34.65	52.13
2017	경기	이천	추청	0.70	1.30	2.27	2.43	3.54	5.55	15.35	18.29	15.22	31.91	44.32
2017	강원	원주	삼광	0.70	2.90	2.97	3.36	3.35	7.13	16.80	17.16	31.32	26.64	31.16
2017	강원	영월	오대	0.90	1.70	4.60	5.02	5.18	6.60	15.63	13.27	27.19	35.03	43.89

4. 기대성과 및 활용방안

가. 기대성과

- 과학적인 방법을 통해 양곡 혼합판매 등 양곡표시 단속에 적극 활용함으로써 양곡 부정유통 근절

- 혼합판매 근절은 저가미(低價米) 퇴출 효과를 거양함으로써 쌀 가격이 안정화되어 정부 쌀 수급 안정정책에 기여
- 생산자 수취가격 인상을 통한 영농의지 고취 및 양질의 고품질 쌀 공급으로 소비자 만족도 향상
- 우리원의 양곡표시 단속 및 분석능력을 대외적으로 인정받아 기관의 위상 제고에 기여

나. 활용방안

- 양곡표시 단속시 과학적인 근거 자료로 활용
- 양곡 부정유통 단속 담당자 교육 자료로 활용
- 연구결과 학회 및 논문 발표
- 유관기관 및 민간 분석기관에 분석 기술 이전

5. 참고문헌

- Kim 등. 2008. Chemical compositions and antioxidant activity of the colored rice cultivars. Korean J. Food Preserv. 15(1), 118-124.
- Shin 등. 1998. Changes during storage of rice germ oil and its fatty acid composition. Korean J. Food Sci. Technol. 30(1), 77-81.
- Kim 등. 2011. Pasting and sensory properties of commercial rice products. Korean J. Food Sci. Technol. 43(4), 401-406.
- Han 등. 1996. Shelf-life prediction of brown rice in laminated pouch by n-hexanal and fatty acids during storage. Korean J. Food Sci. Technol. 28(5), 897-903.
- Chen 등. 2003. Analysing the freshness of intact rice grains by colour determination of peroxidase activity. J Sci Food Agric. 83, 1214-1218.
- Yang 등. 2007. Changes of seed viability and physico-chemical properties of milled rice with different ecotypes and storage duration. Korean J. Crop Sci. 52(4), 375-379.

- Mitsuru 등. 2009. Fluorescence imaging with UV-Excitation for evaluating freshness of rice. JARQ. 43(3), 193-198.
- Kim 등. 2011. Variation of rice quality of milled rice according to storage rice. Korean J. Crop Sci. 56(4), 342-348.
- So 등. 1999. Studies on the change of components with long-term storage of paddy. Korean J. Food & Nutr. 12(4), 409-414.
- 이재권. 2013. 곡물 신선도 판정기. 한국등록특허 제10-1276691호.
- Kyouko 등. 1997. Near infrared spectra of outer layer of flour of stored milled rice. Food Sci. Technol. Int. Tokyo. 3(4), 336-338.