

근적외선 분광분석법을 이용한 생약의 원산지 판별

우영아 · 조창희 · 김효진[#] · 조정환* · 조경규** · 정승성** · 김수정** · 김종환**

동명여자대학교 약학대학, 숙명여자대학교 약학대학*, 국립 농산물 검사소**

(Received March 26, 1998)

Discrimination of Herbal Medicine According to Geographical Origin (Korea, China) Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Young-Ah Woo, Chang-Hee Cho, Hyo-Jin Kim[#], JungHwan Cho*,
Kyung-Kye Cho**, Seung-Sung Chung**, Soo-Jung Kim**
and Joong-Hwan Kim**

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul, 136-714, Korea

*College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul, 140-742, Korea

**The Experimental Station of National Agriculture Products Inspection Office, Seoul, 150-043, Korea

Abstracts—Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was applied for discrimination according to geographical origin (Korea, China) of herb drugs. Herbal medicine has an important role in clinical therapy in Asian countries such as Korea and China. The objective of this study is to provide a convenient and accurate method to determinate geographical origin (Korea, China) of herbal medicine for quality control whose quality is generally different according to geographical origin. A rapid, nondestructive and accurate discrimination was achieved by NIRS. Second derivative spectra of herb drugs were subjected to discriminant analysis. Herbal medicine drugs such as Cassia Semen, Ganoderma and Smilacis Rhizoma was discriminated accurately according to geographical origin using PLS regression method.

Keywords □ Near infrared reflectance spectroscopy, Herbal medicine, Partial least squares method, Discrimination, Geographical origin.

근적외선 분광분석법은 시료를 700~2500 nm 영역에서 분석하는 것으로 주로 분자 운동에 의하여 mid-IR 영역에서 나타나는 N-H, O-H, C-H의 기본 진동수의 overtone과 combination의 흡수대가 특징으로 나타나고 강도는 상대적으로 약하다. Chemometrics가 발달하기 전까지는 많은 피크들이 중첩되어 있어 고전적인 자료 처리법으로는 활용이 어려워 실제 분석에는 사용되지 않았으나, 처음으로 Karl Norris에 의해 농업분야에서 농산물의 수분, 지방, 단백질의 분석에 사용된 이후로 다변량 분석법의 발달로 많은 분야로 그 응용이 확대되고 있다.¹⁾ 실제 곡류, 육류 및 유제품의 수분, 지방, 단백

질, 탄수화물과 섬유질의 신속한 정량에 많이 사용되고 있다.²⁾ 시료 전처리의 간단함과 신속한 분석으로 농업 분야뿐 아니라 약학, 섬유, 석유화학, 식품, polymer 분야에서도 널리 응용되고 있다.^{3,4)} 그 외에도 광섬유를 이용한 실시간 분석으로 각종 공정의 제어나 관리⁵⁾에까지 성공적으로 그 응용의 폭을 넓히고 있다. 제약 분야에서는 원료와 제품의 품질 관리⁶⁾에서 전처리의 간단함과 정확한 분석으로 수많은 연구가 이루어졌고 실제 산업 현장에서 사용되고 있기도 하다. 이러한 배경을 바탕으로, 근적외선 분광 분석법이 주로 농산물 분석에서 그 두각을 나타내는 점을 착안하여 본 연구에서는 생약의 품질 관리를 목적으로 생약재의 원산지 판별에 응용하게 되었다. 농산물 개방에 따라 중국을 위주로 여러 나라의 생약재가 많이 한국내에 유입되고 있으나 일반적으로 질적인

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-940-4525 (팩스) 02-943-9578

면에서는 한국산 생약보다 떨어지기 때문에 상업적 목적을 위하여 중국산 생약재가 불법적으로 한국산으로 속여지는 경우가 많다. 하지만 생약의 원산지를 판별할 수 있는 과학적인 분석 방법이 확립되어 있지 않다. 따라서 정확한 원산지 판별을 위한 분석법 개발을 위하여 여러 방법이 연구되고 있는데 본 연구에서는 근적외선 분광분석법을 이용한 원산지 판별을 시도하였다.

이와 비슷한 연구로는 Karen 등은 근적외선 분광분석법을 이용하여 면실유, 땅콩유, 대두유, 카놀라유의 네 가지 식용유를 구별하였다.⁷⁾ Scotter 등은 오렌지 쥬스의 산지를 구분하는데 근적외선 분광분석법을 시도하였다.⁸⁾ Gerard 등은 근적외선 분광분석법으로 Arabica와 Robusta의 커피를 정성분석 하였다.⁹⁾ 약제 산업에서는 원료 물질의 순도 시험¹⁰⁾이나 바이알이나 저장기에 담겨있는 제품의 품질을 확인하기 위하여 근적외선 분광기를 이용하고 있다. 본 실험에서는 이전까지는 화학적 습식 데이터로는 분별이 어려워 인간의 관능 검사에 의존할 수밖에 없는 생약재의 한국산, 중국산 원산지 판별에 근적외선 분광 분석법을 도입함으로써 보다 과학적이고 신속하고 정확한 판별 기준을 마련하도록 하였다. 위에서 언급한 것과 같이 근적외선 분광 분석법은 기기로부터 얻은 스펙트럼을 분석할 수 있는 chemometrics의 도구가 필요하다. 본 연구에서 사용한 통계적 분석 방법은 다변량 분석 중 주로 근적외선 분광 분석법에서 많이 사용되고 있는 partial least squares (PLS) 방법¹¹⁾을 적용하였다.

실험방법

시료 - 본 실험에 사용한 결명자(*Cassia obtusifoli*)와 복령(*Smilax china*)과 영지(*Ganoderma lucidum*)의 한국산 시료는 국립 농산물 검사소의 전국의 산지에 있는 각 출장소로부터 공급받았으며, 중국산 수입산 시료는 인천항을 통해 수입되는 것을 출장소로부터 공급받았다.

시료 전처리 - 결명자는 별도의 전처리를 하지 않고 원형대로 근적외선 분광분석기로 측정하였으며, 복령과 영지는 원형의 생약재를 절단기로 절단한 다음 식품용 분쇄기로 일차적으로 분쇄한 다음 최종적으로 cyclone mill(Udymill, USA)로 갈아서 20 mesh 이하의 분말로 하였다.

기기 - 근적외선 분광분석기는 Foss NIRSystems사의 NIRSystem 6500(USA)을 사용하였다. 측정 조

Table 1 - Scanning parameters

Range	1100~2500 nm
Sample cell	Standard sample cup
Detection mode	Reflectance
Instrument	Near Infrared Spectrophotometer (Foss NIRSystems, USA)

건은 Table 1과 같다. 스펙트럼은 NSAS(Foss NIR-Systems, USA)를 이용하여 얻었다.

Chemometrics - 결명자, 영지 및 복령의 스펙트럼에서 입자 크기나 수분에 의한 물리적 성질에 의한 산란 효과를 줄이기 위해 원래의 스펙트럼을 20 nm moving window 단위로 이차 미분한 다음 PLS 방법으로 분석하였다. PLS 방법을 사용할 때 한국산 시료에 대한 실험값을 100으로, 중국산 시료에 대한 실험값을 0으로 하여 통계 처리하는 supervised learning법¹²⁾을 이용하여 training data set을 구성하였다. 시료는 Table II처럼 randomselection 방법으로 판별식을 만들기 위한 training set과 이것을 다시 확인하기 위한 validation set으로 나누어서 실험하였다. 모든 통계적 처리는 NSAS(Foss NIRSystems, USA)를 이용하였다.

결과 및 고찰

근적외선 스펙트럼 - 근적외선 스펙트럼은 800~1900 nm를 배음 대역(Overtone region), 1900~

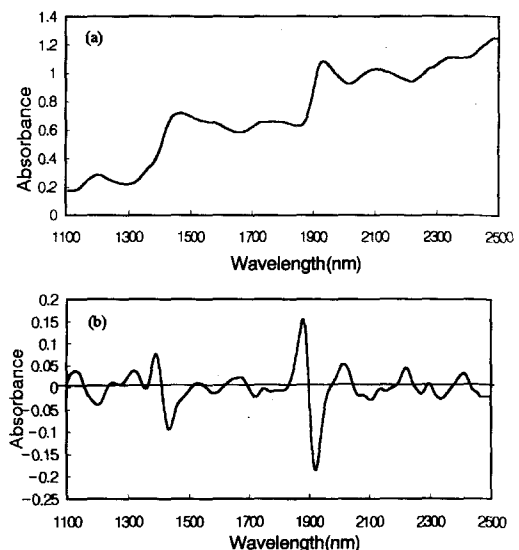


Fig. 1 - NIR Spectrum of Cassia Semen.
a) original, b) second derivatization

2500 nm를 결합음 대역(Combination region)으로 나눌 수 있다.¹³⁾ 근적외선 영역의 스펙트럼은 시료의 형태에 관계없이 측정할 수 있는 장점은 있지만 그 흡수대가 모두 겹쳐져 있다. 또한 근적외선 반사 스펙트럼은 측정하는 물질의 화학적 성분 뿐 아니라, 입자의 크기나 밀도 같은 물리적 영향에도 민감하다. 본 실험에서는 이러한 물리적 영향을 감소시키고 겹친 흡수대의 분리도를 증가시키기 위해 스펙트럼을 20 nm 간격의 mov-

ing window에 의한 convolution법으로 2차 미분하였다. Fig. 1, Fig. 2와 Fig. 3은 각각 결명자, 영지, 복령의 근적외선 반사 스펙트럼을 나타낸 것이다. 1100~2500 nm 영역에서 측정된 것으로 외관상으로 보이는 스펙트럼에서 한국산 시료와 중국산 시료에 따른 차이는 거의 없었다. 각 스펙트럼의 a)는 반사(reflectance) 스펙트럼을 측정된 것을 나타낸 것이고 b)는 물리적인 성질에 의한 영향을 줄이기 위하여 원래의 스펙트럼을 20 nm 간격으로 2차 미분한 것이다.

Supervised learning법에 의한 결명자의 원산지 판별

- 본 실험에서 결명자 중국산 시료 26개에 대한 loading value를 0으로 하고 한국산의 시료 46개에 대한 loading value는 100으로 임의로 넣어 준 다음 이차 미분한 스펙트럼을 PLS 분석을 하였다. 상대적인 평가에 의한 최소 오차(minimum standard error of cross validation)를 측정하여 최적의 factor를 구하여 분석에 필요한 검량식을 결정하였다. PLS 분석에 의한 계산값이 중국산의 경우는 Fig. 4에서 보는 것처럼 50이하의 값을 한국산의 경우는 70이상을 값을 보인다는 기준을 모든 시료의 값을 비교했을 때 경험적으로 결정할 수 있었다. 이러한 기준을 확인하기 위해서 판별식 결정에 사용하지 않은 한국산 시료 10개와 중국산의 시료 5개를 위의 판별식을 이용하여 분석한 결과, Table III에서 나

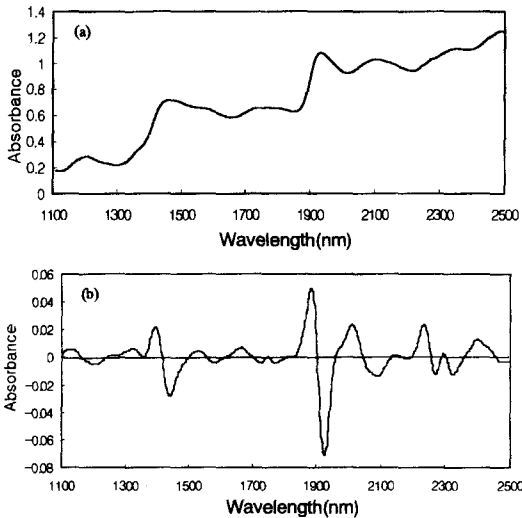


Fig. 2 - NIRS Spectrum of Ganoderma
a) original, b) second derivatization

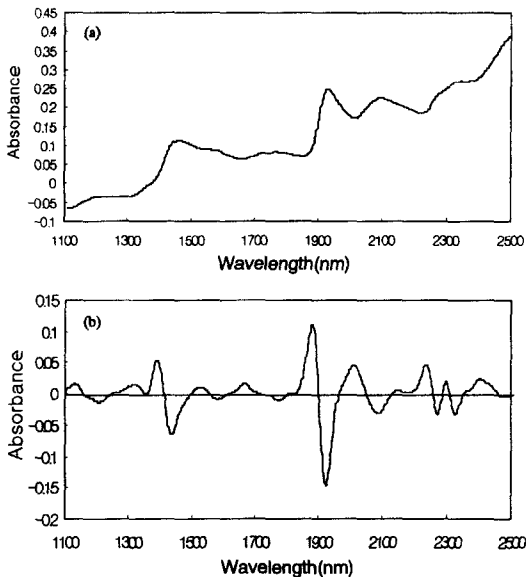


Fig. 3 - NIRS Spectrum of Smilacis Rhizoma
a) original, b) second derivatization

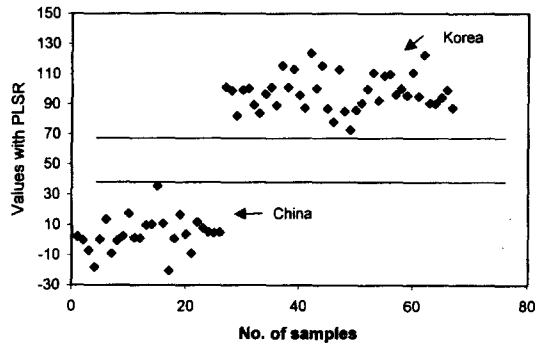


Fig. 4 - Scores plot of Korean and China samples with PLS regression using NIR spectrum (Cassia Semen).

Table II - Number of Samples for training and validation

	For training		For validation	
	Korea	China	Korea	China
Cassia semen	46	26	15	5
Ganoderma	22	8	10	5
Smilacis rhizoma	65	18	15	5

Table III — The validation results

No.	Country origin	Cassia semen	Smilacis rhizoma	Ganoderma
1	China	42.52	-11.39	22.76
2	China	20.05	15.68	1.13
3	China	-20.59	-11.32	4.94
4	China	-0.77	1.95	-8.60
5	China	10.70	0.85	11.37
6	Korea	137.47	32.25	99.31
7	Korea	114.89	67.94	83.26
8	Korea	130.16	96.43	73.87
9	Korea	114.99	135.62	108.23
10	Korea	110.32	67.33	79.15
11	Korea	130.22	88.49	
12	Korea	109.43	86.55	
13	Korea	111.27	104.75	
14	Korea	92.74	108.28	
15	Korea	107.35	132.27	

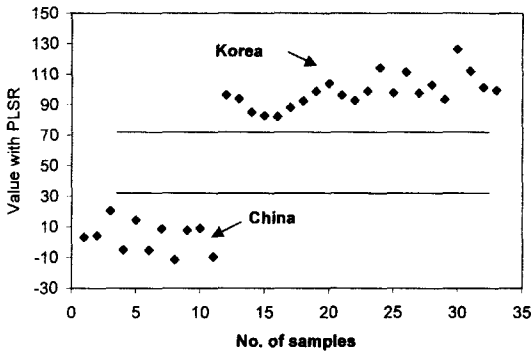


Fig. 5 — Scores plot of Korean and China samples with PLS regression using NIR spectrum (Ganoderma).

타난 것처럼 중국산 시료는 50이하의 값을 나타내어 중국산으로 구별이 되었고 한국산은 모두 90이상의 값을 나타내어 한국산으로 정확하게 구별이 되었다.

Supervised learning법에 의한 영지의 원산지 판별

영지는 중국산 시료 8개와 한국산 시료 22개를 위와 같은 방법으로 분석하였다. Fig. 5처럼 중국산 시료는 모두 30이하의 값을 가졌고, 한국산 시료는 70이상의 값을 나타내었다. 이 분석 방법의 정확성을 확인하기 위하여 판별식을 만드는데 사용하지 않은 중국산 시료 5개와 한국산 시료 5개를 검사한 결과 Table III에서 볼 수 있듯이 모두 한국산은 한국산으로 중국산은 중국산으로 정확히 구별할 수 있었다.

Supervised learning법에 의한 복령의 원산지 판별

복령은 중국산 시료 18개와 한국산 시료 65개를 같은 방법으로 분석하였다. Fig. 6에서 보는 것처럼 중국산 시료는 35이하의 값을 나타내었고 한국산 시료는

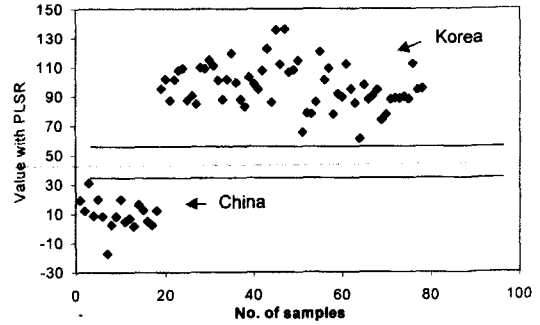


Fig. 6 — Scores plot of Korean and China samples with PLS regression using NIR spectrum (Smilacis Rhizoma).

70이상의 값을 나타내었다. 판별식을 만드는데 사용하지 않은 시료로 확인한 결과, Table III에서 볼 수 있듯이 10개의 한국산 시료 중 하나의 시료는 32의 값을 나타내어 한국산 시료로 판별하지 못하였고, 나머지 9개와 중국산 시료 5개는 정확하게 원산지를 판별하였다.

본 실험에서 분석한 세 종류의 생약재 시료 중, 결명자와 영지의 한국산, 중국산 원산지를 판별하기 위하여 근적외선 분광분석기로 1100~2500 nm의 영역에서 반사 스펙트럼을 측정한 다음 2차 미분하여 1100~2500 nm에서 PLS를 응용한 supervised learning법을 이용하여 다변량 분석한 결과 한국산 시료는 한국산으로 중국산 시료는 중국산으로 정확히 판별할 수 있었다. 복령도 validation을 위한 15개 시료 중 하나의 한국산 시료를 outlier로 간주되는 것을 제외하고는 원산지를 정확히 판별할 수 있었다. 앞으로 보다 광범위하게 생약재 원산지 판별에 본 방법을 이용할 수 있도록 꾸준한 연구가 필요하다. 정확한 판별법을 위하여 본 연구에서 사용한 PLS 방법 뿐 아니라 여러 가지 패턴 분석에 의한 방법의 적용과 개발을 지속적으로 수행해야 할 것이다. 그리고 시료의 채집에서도 더욱 다양한 산지에서 많은 시료량을 확보하여 한국산과 중국산을 충분히 대표할 수 있는 모집단을 구축하는 것도 분석의 정확성을 높이는 데 중요한 인자로 작용할 것으로 예상되며, 충분한 시료 채집을 통한 앞으로의 연구가 기대된다.

문 헌

- 1) Williams, Phil and Norris, Karl : Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industry, American Association of Cereal Chem-

- ists, Inc., Minnesota, p. 201 (1987).
- 2) Panford, J. A., Williams, P. C., and deMan J. M. : Analysis of Oilseeds for Protein, Oil, Fiber and Moisture by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy, *JAOCS* **65**, 1627 (1988).
 - 3) Jasper, W. J. and Kovacs, E. T. : Using Neural Networks and NIR Spectrophotometry to Identify Fibers, *Textile Res. J.* **64**, 444 (1994).
 - 4) Kim, Y. B. : Studies on the Chemical Analysis in Raw Meat and Meat Product by Near-Infrared Spectroscopy, Seoul National University, Ph. D. thesis (1996).
 - 5) Hall, Jeffrey W. and Macaloney, G. : Near-Infrared Spectroscopic Determination of Acetate, Ammonium, Biomass, and Glycerol in an Industrial *Escherichia coli* fermentation, *Applied Spectroscopy* **50**, 102 (1996).
 - 6) Lodder, R. A. and Hieftje, G. M. : Detection of Capsule Tampering by Near-Infrared Reflectance Analysis, *Anal. Chem.* **59**, 1921 (1987).
 - 7) Bewig, K. M., and Unklesbay, Nan : Discrimination Analysis of Vegetable Oils by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy, *JAOCS* **71**, 195 (1994).
 - 8) Murray, I. and Cowe, I. A. : *Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*, Weinheim, New York, p. 395 (1991).
 - 9) Davies, A. M. C. and Williams, P. : *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*, NIR Publications, UK, p. 411 (1995).
 - 10) Gemperline, P. J., Webber L. D., Cox, F. O. : Raw Materials Testing Using Soft Independent Modeling of Class Analogy Analysis of Near-Infrared Reflectance Spectra, *Anal. Chem.* **61**, 138 (1989).
 - 11) Beebe, Kenneth R. and Kowalski, Bruce R. : An Introduction to Multivariate Calibration and Analysis, *Anal. Chem.* **59**, 1007 (1987).
 - 12) Sharaf, M. A., Illman, D. L., Kowalski, B. R. : *Chemometrics*, John Wiley & Sons, New York, p. 179 (1986).
 - 13) McShame, W. J. : Applying NIR to Process Control, *JAOCS* **66**, 641 (1989).