

# 근적외선분광분석기를 이용한 황금(*Scutellaria baicalensis*)의 baicalin 및 baicalein 함량 분석

김효재, 김세영, 이영상, 김용호\*

순천향대학교 의료생명공학과

## Determination of Baicalin and Baicalein Contents in *Scutellaria baicalensis* by NIRS

Hyo-Jae Kim, Se-Young Kim, Young-Sang Lee and Yong-Ho Kim\*

Department of Medical Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

**Abstract** - Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is a rapid and accurate analytical method for determining the composition of agricultural products and feeds. This study was conducted to measure baicalin, baicalein, and wogonin contents in *Scutellaria baicalensis* by using NIRS system. Total 63 samples previously were analyzed by HPLC, which showed baicalin, baicalein, and wogonin contents ranging 4.56 to 13.59%, 0.28 to 5.54%, and 0.50 to 1.63% with an average of 9.66%, 2.09% and 0.52%, respectively. Each sample was scanned by NIRS and calculated for calibration and validation equation. A calibration equation calculated by modified partial least squares(MPLS) regression technique was developed in which the coefficient of determination for baicalin, baicalein, and wogonin content was 0.958, 0.944, and 0.709, respectively. Each calibration equation was applied to validation set that was performed with the remaining samples not included in the calibration set, which showed high positive correlation both in baicalin and baicalein content file. In case of wogonin, the prediction model was needed more accuracy because of low  $R^2$  value in validation set. These results demonstrate that the developed NIRS equation can be practically used as a rapid screening method for quantification of baicalin and baicalein contents in *Scutellaria baicalensis*.

**Key words** - NIRS, *Scutellaria baicalensis*, Baicalin, Baicalein, MPLS regression

### 서 언

황금(*Scutellaria baicalensis*)은 동시베리아 원산으로 중국 동부와 우리나라 각지에서 자생 또는 재배되고 있으며 예로부터 약초로 이용되고 있다. 특히 황금의 주피를 벗긴 뿌리를 생약 명으로 황금(黃芩, *Scutellariae radix*)이라 하는데 황금은 해열, 이노, 항바이러스, 항균, 진정, 혈압강하, 혈당상승, 이담 등 약리작용이 있어 한방에서 각종 처방약으로 사용하고 있다. 황금의 주요 약효성분은 플라보노이드류인 baicalin, baicalein, wogonin glucuronide와 wogonin으로 알려져 있으며, 대한약전에서 황금의 생약재로서의 규격은 환산한 건조물에 대하여 baicalin ( $C_{21}H_{18}O_{11}$ ), baicalein ( $C_{15}H_{10}O_5$ ) 및 wogonin ( $C_{16}H_{12}O_5$ )

의 함이 10% 이상을 함유해야 한다.

현재 식물체에 함유된 일정 성분을 정량하는 방법은 시료를 목적하는 물질별로 추출 분리하는 것이 대표적 방법인데 이러한 방법은 과다한 시간과 노력이 소요될 뿐만 아니라 시료 전처리 과정 중의 문제점을 갖고 있는 등 많은 단점을 가지고 있다. 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위하여 비파괴적으로 신속 용이하게 물질 분석을 하는 방법의 중요성이 대두되고 있다. NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy)는 근적외선 분광분석법을 응용하는 분석기로 1960년대 Karl Norris에 의해 곡류의 수분, 지방, 단백질의 분석에 이용된 이후 현재는 농산물뿐만 아니라 여러 분야에서 이용되고 있다. NIRS는 시료의 추출이나 화학반응 등의 조작이 필요하지 않으므로 비파괴분석이 가능하며 동시에 여러 분석항목을 신속하게 측정할 수 있을

\*교신저자(E-mail) : yohokim@sch.ac.kr

뿐만 아니라 측정된 시료는 원래의 상태로 회수가 가능하므로 반복적인 사용으로 재현성 있는 분석이 가능하다는 장점이 있다. 이밖에 NIRS를 이용하여 분석된 기지의 시료 성분 함량을 자료화하여 library를 구축한 후 새로운 제품의 스펙트럼과 대조·평가를 함으로써 제품의 품질 평가를 할 수 있으므로 NIRS의 control chart를 이용하여 시료의 일정한 품질관리를 항상 관측할 수 있는 기술 개발도 가능하다. 최근에는 근적외선분광분석법에 chemometrics가 접목되어(Blanco & Villarroya, 2002) 정량분석 외에 다방면에서 응용되고 있는데 NIRS는 식품, 농산물, 의약품의 성분 분석(Kim *et al.*, 2008; Son *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2007; Kwon *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2002; Cha *et al.*, 2002; Choung *et al.*, 2001)뿐만 아니라 원산지 판별(Ahn and Kim, 2012; Li *et al.*, 2007; Chun and Cho, 2007; Kim *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003; Bertan *et al.*, 2000)에도 이용되고 있다. 이와 같이 NIRS는 전처리가 필요없는 비파괴분석이 큰 장점이므로 시료의 분말상태에서 주요 성분 함량을 분석할 수 있다면 시료의 품질 평가를 위한 많은 시간과 노력을 줄이는 데 큰 도움이 된다고 하겠다.

본 연구에서는 황금에 함유되어 있는 지표성분인 baicalin과 baicalein 함량을 NIRS를 이용하여 신속하게 분석할 수 있는 모델을 개발하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 공시재료 및 지표성분 분석

본 연구에 사용된 황금 유전자원은 중국에서 17개, 우리나라에서 4개를 수집하였다. 수집된 유전자원은 2011년 6월 10일에 Russia Хасанский район Краскино(러시아 하산스키군 크라스키노) 지역에 파종한 후 10월에 수확하였다. 수확된 각 유전자원은 그늘에서 음건한 후 다시 잎, 줄기 및 뿌리로 구분하여 분석에 사용하였다.

황금의 지표성분함량은 HPLC (S511, Sykam, Germany)를 사용하여 분석하였으며 표준물질인 baicalin, baicalein, wogonin 등은 Wako사(USA)에서 구입하여 농도구배로 검량선을 구하였다. 시료는 유전자원 각 부위를 분쇄한 후 20 mesh를 통과한 분말을 사용하였다. 분석방법은 시료 0.5 g에 70% 에탄올 30 ml를 첨가하여 1시간동안 shaking bath에서 추출한 후 여과지(Whatman No. 42, 2.5  $\mu$ m)를 사용하여 여과한 다음 100 ml가 되도록 정용하였다. 여과된 추출용액은 syringe filter (PTFE, 0.45  $\mu$ m)를 이용하여 재차 여과한 다음 분석 시험용액으로 사

용하였다. HPLC 조건은 mobile phase를 (A) 1% Acetic acid (% v/v)와 (B) (ACN:MeOH(7:3)) : Acetic acid = 99 : 1 (% v/v) 등 2 가지로 조제한 후 gradient program으로 조합하였고 컬럼은 Zorbax SB-Aq (5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  150 mm)를 사용하였으며 이동상은 1.0 ml/min으로 UV detector 280 nm에서 분석하였다. 모든 분석은 3회 반복실험으로 수행하였으며 통계프로그램인 SPSS를 이용하여 통계치를 산출하였다.

### NIRS를 이용한 검량식 작성

NIRS를 이용한 정량분석 방법은 먼저 수집된 유전자원들의 NIR spectrum을 얻은 후 검량식을 유도하여야 한다. NIR spectrum은 가시광선 및 근적외선 대역(400~2,500 nm)에서 시료를 분말 상태(20 mesh)로 스캐닝하였으며, HPLC로 분석되어진 지표성분 함량치와 비교 분석하여 검량식을 작성하였다. 분석에 이용된 기기는 NIRSystem model 6500 (FOSS NIRSystem)이었다. 검량식은 우선 spectrum을 4가지 수처리 방법을 통하여 1차적으로 noise와 bias를 줄였다. 수처리(math treatment)는 우선 1차미분법을 이용한 1, 4, 4, 1 (1st derivative, 4nm gap, 4 points first smooth, and 1 point second smooth)조건, 1, 6, 6, 1 및 1, 10, 10, 1 조건으로 처리하였으며 이밖에도 2차미분과 3차미분에 의한 수처리도 수행하였다. 수처리된 spectrum은 회귀분석을 통하여 검량식을 작성하였으며 회귀분석은 PLS (Partial Least Squares), MPLS (Modified Partial Least Squares) 및 MLR (Multiple Linear Regression)법을 사용하여 검량식을 산출하였고 작성된 검량식을 상호 비교 분석한 후 적정의 검량식을 도출하였다. 검량식의 정확도는 검량식 작성에 사용되지 않은 별도의 시료그룹을 대상으로 만들어진 validation equation을 통해 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### HPLC를 이용한 황금 지표성분의 함량 분석

HPLC를 이용하여 분석되어진 황금 지표성분 baicalin, baicalein 및 wogonin의 표준물질 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. 이들 표준물질을 이용하여 만들어진 지표성분들의 검량식을 근거로 황금 유전자원들의 지표성분 함량을 분석한 결과, baicalin은 유전자원간에 평균 9.66%의 함량을 보였으며 변이는 4.56~13.59%의 폭을 나타내었고 baicalein과 wogonin은 각각 평균 2.09%와 0.52%로 함량 변이는 각각 0.28~5.54%, 0.05~1.67%로 나타났다. 즉 황금의 지표성분은 baicalin이 가

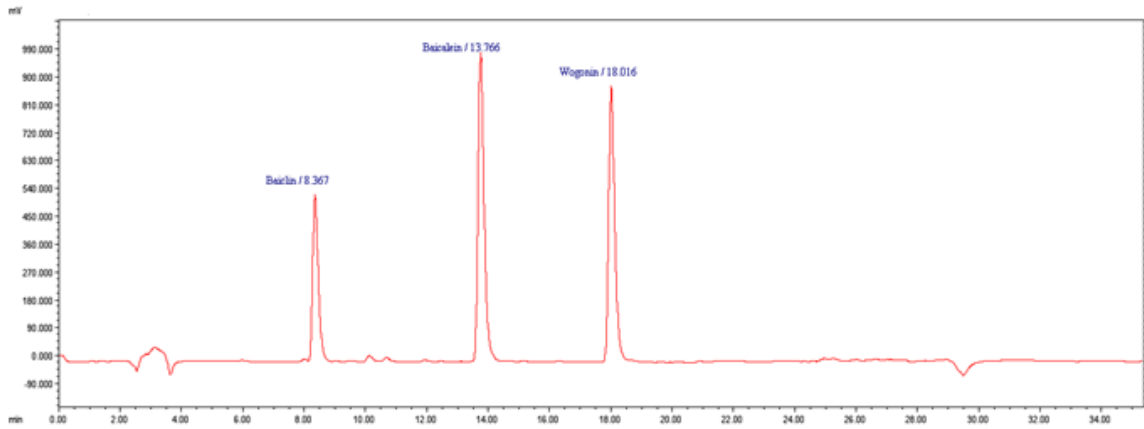


Fig. 1. Chromatogram of baicalin, baicalein, and wogonin standard by HPLC.

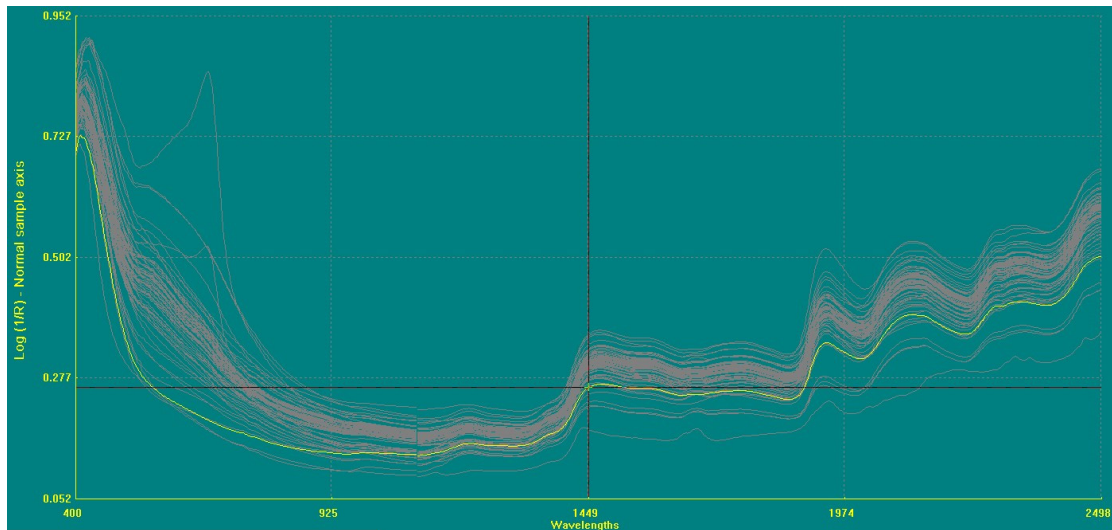


Fig. 2. Spectra (log 1/R) of 63 germplasms of *S. baicalensis* scanned by NIRS.

장 많았고 wogonin의 함량은 전체적으로 미량으로 존재하였다. 이와 같이 시료간 성분함량들의 변이가 크게 나타남으로써 이들 성분들의 함량을 NIRS를 이용하여 정량 분석함에 있어 유리하게 적용할 수 있었다.

**NIRS를 이용한 황금 지표성분의 함량 예측 모델 개발**

황금을 NIRS를 이용하여 400~2,500 nm에서 2 nm 간격으로 스펙트럼을 scanning하였다. Fig. 2는 NIRS에 나타난 황금 유전자원 전체의 스펙트럼을 나타낸 것이다.

그림에서 보는 바와 같이 유전자원 별로 스펙트럼의 변이 폭이 넓게 나타났는데 이것은 각 스펙트럼의 바탕선이 일치하지 않는 것도 한 요인이 될 수 있다. 따라서 바탕선의 일치를 위하여 NIRS 분석에는 수치리를 하게 되며 본 실험에서도 1차 및 2차

미분 등을 통한 수치리를 수행한 후 검량식을 작성하였다. Fig. 3은 Fig. 2의 스펙트럼을 1차 미분한 결과이다. 그림에서와 같이 미분처리를 함에 따라 유전자원별 스펙트럼은 같은 바탕선에서 서로 간에 차이를 나타내었으며, 이러한 차이를 이용하여 NIRS 분석의 정확성이 높아진다(Blanco and Villarroya, 2002).

Table 1은 NIRS를 이용하여 분석할 때 적절한 회귀분석법을 찾고자 baicalin 함량의 검량식 작성을 수행한 결과이다. 회귀 분석법은 PLS, PCR 및 MPLS 방법을 이용하였다. 검량식 작성의 수치리는 우선 1차 미분 및 2차 미분을 이용하는 2가지 방법을 사용하였는데 스펙트럼을 1차 미분한 1, 10, 10, 1 (1st derivative, 10 nm gap, 10 points first smooth, and 1 point second smooth) 조건과 2차 미분을 이용한 2, 10, 10, 1 조건을 사용하였다. 본 실험에서 PLS 회귀분석법과 MPLS 회귀분석법 및 PCR 회귀분

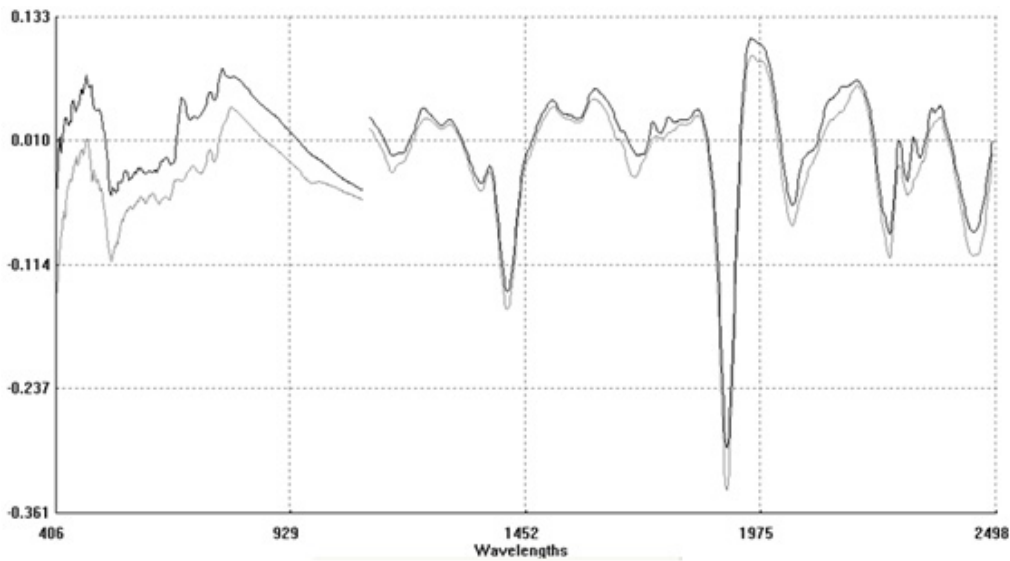


Fig. 3. High and low spectra treated first derivative math by NIRS in *S. baicalensis* powders.

Table 1. Calibration parameters according to three different regression analyses and two mathematical treatments for baicalin content in *S. baicalensis*

Regression analysis	Math treatment <sup>z</sup>	Baicalin		
		R <sup>2y</sup>	Mean (mg/g)	SEC <sup>x</sup>
PLS	1, 10, 10, 1	0.855	99.5	11.1
	2, 10, 10, 1	0.899	100.1	9.3
PCR	1, 10, 10, 1	0.679	99.6	16.2
	2, 10, 10, 1	0.743	99.6	14.6
MPLS	1, 10, 10, 1	0.958	97.9	8.0
	2, 10, 10, 1	0.929	98.9	7.6

<sup>z</sup>Math treatment a, b, c, d : a = derivative function, b = gap, c = 1<sup>st</sup> smooth, d = 2<sup>nd</sup> smooth.

<sup>y</sup>R<sup>2</sup> = squared coefficient of multiple determination in calibration.

<sup>x</sup>SEC = standard error of calibration.

석법을 비교한 결과 MPLS 회귀분석법으로 작성된 검량식이 검량식의 parameter인 R<sup>2</sup> 과 SEC 값에서 PLS, PCR 회귀분석법으로 작성된 검량식보다 더 정확도가 높은 경향이였다. Shenk and Westerhaus (1991)는 MPLS를 이용한 검량식에서 높은 R<sup>2</sup> (결정계수)와 1-VR(예측 상관도)을 얻을 수 있었다고 보고한 바 있으며 현재 NIRS 분석의 회귀식은 많은 경우 MPLS법을 이용하고 있다. 그러나 분석항목에 따라 회귀식의 적용법도 달라질 수 밖에 없는데 제약회사 등 시료의 일정한 품질관리가 필요한 경우에는 PLS법이 적용되기도 하며(Cha *et al.*, 2002), 시료의 원산지 판별에도 종종 PLS법이 적용된다(Ahn and Kim, 2012).

Table 2는 NIRS 분석시 사용되는 수처리 방법 중 gap 및 smooth의 효과를 분석한 결과이다. 수처리는 1차 미분을 사용

하였으며, 파장간 gap과 1<sup>st</sup> smooth 처리를 4, 6, 10 nm로 달리하여 parameter의 값을 비교하였다.

R<sup>2</sup> 및 SEC 값으로 판단할 때 수처리 방법 중 gap 및 smooth의 효과는 3가지 황금 지표성분 모두에서 10 nm 처리가 다른 수처리보다 좋은 것으로 나타났다. 따라서 NIRS 분석은 수처리시 gap 및 1<sup>st</sup> smooth를 10 nm로 정한 후 수행하였다. Gap 및 1<sup>st</sup> smooth 크기도 시료 및 분석항목에 따라 조정이 필요하다(Kim *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2002).

Table 3은 수처리시 미분법을 달리하여 다시 검량식을 작성한 결과로 1, 2차 미분 처리의 parameter 값에 비해 3차 미분시에는 R<sup>2</sup>와 SEC 분석치의 정확도가 떨어지는 것을 볼 수 있어 3차 미분 수처리는 검량식 작성에 적합하지 않은 것으로 판단되

Table 2. Calibration parameters according to 3 math treatments for baicalin, baicalein and wogonin contents analysis by MPLS method

Calibration set		Math treatment <sup>z</sup>		
		1, 4, 4, 1	1, 6, 6, 1	1, 10, 10, 1
Baicalin	R <sup>2y</sup>	0.921	0.926	0.958
	Mean (mg/g)	96.6	97.1	97.9
	SEC <sup>x</sup>	11.2	10.6	8.0
Baicalein	R <sup>2</sup>	0.825	0.901	0.944
	Mean (mg/g)	21.1	21.1	20.9
	SEC	4.8	3.5	2.1
Wogonin	R <sup>2</sup>	0.541	0.662	0.709
	Mean (%)	0.54	0.50	0.51
	SEC	0.21	0.09	0.09

<sup>z</sup>Math treatment a, b, c, d : a = derivative function, b = gap, c = 1<sup>st</sup> smooth, d = 2<sup>nd</sup> smooth.

<sup>y</sup>R<sup>2</sup> = squared coefficient of multiple determination in calibration.

<sup>x</sup>SEC = standard error of calibration.

Table 3. Calibration parameters according to 3 derivative treatments for baicalin, baicalein and wogonin contents analysis by MPLS method

Calibration set		Math treatment <sup>z</sup>		
		1, 10, 10, 1	2, 10, 10, 1	3, 10, 10, 1
Baicalin	R <sup>2y</sup>	0.958	0.929	0.921
	Mean (mg/g)	97.9	98.9	96.5
	SEC <sup>x</sup>	8.0	7.6	11.3
Baicalein	R <sup>2</sup>	0.944	0.901	0.825
	Mean (mg/g)	20.9	21.0	21.0
	SEC	2.1	3.5	4.8
Wogonin	R <sup>2</sup>	0.709	0.662	0.541
	Mean (%)	0.51	0.50	0.54
	SEC	0.09	0.09	0.15

<sup>z</sup>Math treatment a, b, c, d : a = derivative function, b = gap, c = 1<sup>st</sup> smooth, d = 2<sup>nd</sup> smooth.

<sup>y</sup>R<sup>2</sup> = squared coefficient of multiple determination in calibration.

<sup>x</sup>SEC = standard error of calibration.

었다. 1, 2차 미분간에도 큰 차이는 없었으나 황금의 지표성분 세 가지 모두 1차 미분 수치가 2차 미분보다 우수한 경향이였다. 수처리시 미분법 적용도 시료 및 분석항목에 따라 달라지지만 대부분 1차 및 2차 미분법 적용의 결과가 우수한 것으로 보고되었으므로(Kim *et al.*, 2008; Son *et al.*, 2008; Chun and Cho, 2007; Kim *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2002) 본 연구결과와 일치하였다.

수처리 지표성분 간에는 baicalin과 baicalein의 분석치 정확도가 높은 반면 wogonin의 R<sup>2</sup>와 SEC 분석값은 다른 성분

해 상대적으로 떨어질 뿐만 아니라 절대치로도 정확성이 떨어지는 것으로 나타났다. 이것은 wogonin의 함량 자체가 미미할 뿐만 아니라 유전자원 간의 함량변이도 적었기 때문이다. Chun and Cho (2007)와 Kim *et al.* (2002)도 시료의 함량변이 폭이 NIRS 분석의 정확도를 높힌다고 하였다.

한편 NIRS 분석시 유용한 검량식을 얻기 위해서는 calibration set를 작성한 후 얻어진 검량식을 validation set에 적용하여 봄으로써 그 유효성 여부를 판단하여야한다. Table 4는 Table 3에서 얻어진 검량식들을 validation file에 적용시켜 황금의 지표

Table 4. Calibration and cross validation parameters by MPLS regression for baicalin, baicalein and wogonin contents

Math treatment	Baicalin				Baicalein				Wogonin			
	Calibration		Validation		Calibration		Validation		Calibration		Validation	
	R <sup>2z</sup>	SEC <sup>y</sup>	r <sup>2x</sup>	SEP <sup>w</sup>	R <sup>2</sup>	SEC	r <sup>2</sup>	SEP	R <sup>2</sup>	SEC	r <sup>2</sup>	SEP
1, 10, 10, 1	0.958	8.00	0.853	8.01	0.944	2.09	0.895	2.52	0.709	0.09	0.489	0.09

<sup>z</sup>R<sup>2</sup> = squared coefficient of multiple determination in calibration.

<sup>y</sup>SEC = standard error of calibration.

<sup>x</sup>r<sup>2</sup> = squared coefficient of multiple determination in validation.

<sup>w</sup>SEP : Standard error of prediction in validation.

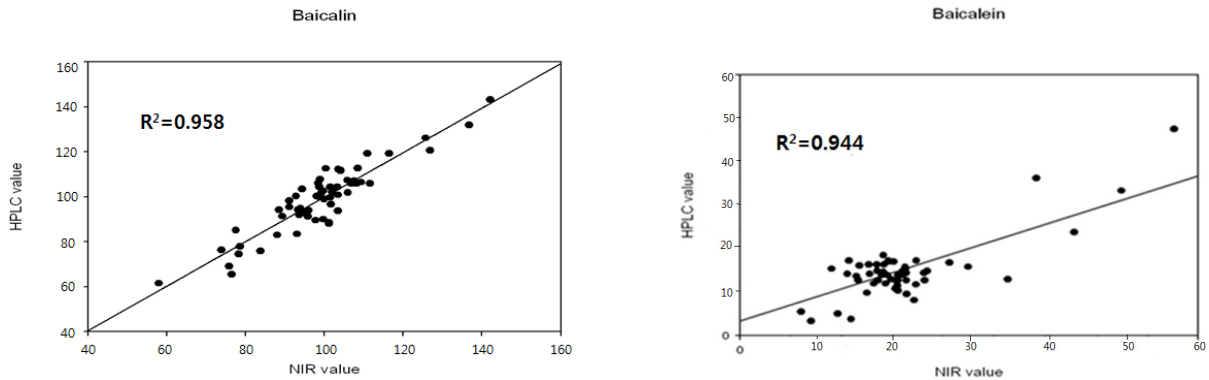


Fig. 4. Correlation plot for baicalin and baicalein contents, NIRS data vs. laboratory data of the calibration set in *S. baicalensis* (Unit: mg/g).

성분별로 그 유용성을 분석한 결과이다. Validation file은 NIRS의 프로그램인 WinISI II에서 calibration file과 스펙트럼에 중복성이 나타나지 않는 시료들을 이용하여 자동적으로 구성되어진다.

Validation file을 살펴보면 baicalin의 경우 parameter의 분석치가 상관계수인 r<sup>2</sup>은 0.853, 예측 표준오차인 SEP는 calibration의 SEC와 같이 8.01을 나타내어 검량식의 정확도가 높은 것으로 판단되었다. Baicalein도 validation file의 r<sup>2</sup>이 0.895, SEP는 SEC 보다는 조금 높은 2.52를 나타내어 검량식의 정확도가 높음을 알 수 있었다. 그러나 wogonin의 경우는 validation의 상관계수의 값이 0.489로 정확도가 떨어졌는데 이것은 상기한 바와 같이 wogonin 함량의 변이 폭이 좁았기 때문인 것으로 사료되는 바 NIRS 분석법을 wogonin 함량 분석에 직접 사용하기 위해서는 추후 좀 더 많은 유전자원들의 함량치가 보완된 NIRS 검량식을 작성하여야 할 것으로 판단된다. 그럼에도 불구하고 본 실험에서 도출된 결과로도 황금 지표성분 wogonin의 상대적 평가는 가능할 것으로 사료되며 따라서 본 연구에서 개발된 NIRS 모델들은 황금의 우량품종 육성 과정에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

Fig. 4는 도출된 검량식에 의한 baicalin과 baicalein 함량의

NIRS와 HPLC value 간의 상관관계를 도식화한 것이다. NIRS가 성분 함량 분석에 유용하게 이용되기 위해서는 분석시료 성분함량 폭이 넓은 유전자원들이 고른 분포도로 검량식 작성에 사용되어야 한다(Chun and Cho, 2007; Blanco and Villarroya, 2002; Kim *et al.*, 2002). 본 검량식에 이용된 황금 유전자원 지표성분별 함량 분포는 baicalin은 비교적 전체 범위에서 고르게 분포되어 있는 반면 baicalein은 평균값에 치우쳐 있는 경향이 있다. 따라서 정확한 함량 분석을 위해서는 유전자원의 함량이 좀 더 고른 분포도를 보일 수 있도록 유전자원의 수집 등이 수행되어야 할 것으로 사료된다. 그러나 본 연구에서 도출된 baicalin과 baicalein의 검량식은 미지의 시료를 대상으로 한 황금 지표성분의 함량 분석에 무리 없이 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 적 요

황금에 함유된 baicalin, baicalein 및 wogonin 함량을 근적외선분광분석기(NIRS)로 비파괴적으로 신속하게 할 수 있는 방법을 개발하였다. 황금 유전자원 63종을 대상으로 NIRS로 400~2,500 nm 파장범위를 scan한 후 물리적 영향에 의한 바탕선 변화 등의 오차를 줄이고 겹쳐있는 파장을 분리하기 위하여 미분

법 등을 이용한 수처리를 하였다. 수처리 후 몇 가지 회귀분석법을 이용하여 검량식을 작성한 결과 MPLS 회귀법이 황금의 유용성분을 분석하기에 적당하였으며, MPLS 회귀분석법에 의한 검량식의 baicalin, baicalein, wogonin 함량은 HPLC로 분석된 황금의 성분함량과의 상관값에서 각각 0.958, 0.944, 0.709로 나타났다. 이렇게 작성된 검량식을 이용하여 validation set에서 상관관계를 분석한 바 baicalin 함량은 0.853, baicalein은 0.895의 상관치를 보여 황금의 baicalin 및 baicalein 함량은 NIRS로 분석이 가능한 것으로 판단되었다. 한편, wogonin 함량에 대한 validation set의 결과는 0.489로 나타나 NIRS 검량식을 wogonin의 정량분석에 바로 이용하기에는 부적당하였다.

## 사 사

본 연구는 순천향대학교 교내연구비로 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

## References

- 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.
- Blanco, M. and I. Villarroya. 2002. NIR spectroscopy : a rapid-response analytical tool. *Trends in Analytical Chemistry* 21(4):240-250.
- Bertan, E., M. Blanco, J. Coello, H. Iturriaga, S. Maspocho and I. Montoliu. 2000. Near infrared spectrometry and pattern recognition as screening methods for the authentication of virgin olive oils of very close geographical origins. *J. Near Infrared Spectroscopy* 8:45-52.
- Cha, K.W., K.R. Ze, M.O. Youn, S. J. Lee, H.C. Choi and H.J. Kim. 2002. Determination of phenobarbital in intact phenobarbital tablets using NIRS. *Analytical Sci. & Technol.* 15(2):102-107.
- Choung, M.G., I.Y. Baek, S.T. Kang, W.Y. Han, D.C. Shin, H.P. Moon and K.H. Kang. 2001. Non-destructive method for selection of soybean lines contained high protein and oil by near infrared reflectance spectroscopy. *Korean J. Crop Sci.* 46(5):401-406.
- Chun, J.U. and K.C. Cho. 2007. Discrimination of Korean and Japanese green tea products using NIR Spectroscopy. *J. Kor. Tea Soc.* 13(1):93-104.
- Kim, E.Y., J.H. Kim, N.Y. Lee, S.J. Kim and M.R. Rhyu. 2003. Discrimination of geographical origin for astragalus root (*Astragalus membranaceus*) by capillary electrophoresis and near infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35(5):818-824.
- 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-Genbank by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Korean. Crop. Sci.* 53(2):217-223.
- Kim, K.S., S.H. Park, M.G. Chung and Y.S. Jung. 2007. Use of near infrared spectroscopy for estimating fatty acid composition in intact seeds of rapeseed. *J. Crop Sci. Biot.* 10(1):15-20.
- Kim, S.S., M.R. Rhyu, J.M. Kim and S.H. Lee. 2003. Authentication of rice using near-infrared reflectance spectroscopy. *Cereal Chem.* 80(3):346-349.
- 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.* 49:211-215.
- Kim, Y.H., B.R. Choi, H.Y. Baek and Y.S. Lee. 2002. Quantification of icariin contents in *Epimedium koreanum* N. by using a near infrared reflectance spectroscopy. *K. J. Medicinal Crop Sci.* 10(5):340-343.
- Li, X., Y. He and H. Fang. 2007. Nondestructive discrimination of Chinese bayberry varieties using Vis/NIR spectroscopy. *J. Food Engineering.* 81:357-363.
- Son, J.Y., K.J. Lee, S.W. Kang and W.K. Choi. 2008. Quality evaluation of sugar content for grapes using NIR spectroscopy. *Food Engineering Progress* 12(4):263-268.
- Shenk, J.S., and M.O. Westerhaus. 1991. Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Sci.* 31: 1548-1555.

(Received 6 February 2014 ; Revised 7 April 2014 ; Accepted 16 May 2014)