

Capillary electrophoresis 및 근적외선분광분석기를 이용한 황기의 원산지 판별

김은영 · 김정현 · 이남윤¹ · 김수정¹ · 류미라*
한국식품개발연구원, ¹국립농산물품질관리원 시험연구소

Discrimination of Geographical Origin for Astragalus Root (*Astragalus membranaceus*) by Capillary Electrophoresis and Near-Infrared Spectroscopy

Eun-Young Kim, Jung-Hyun Kim, Nam-Yun Lee¹, Soo-Jeong Kim¹ and Mee-Ra Rhyu*

Korea Food Research Institute

¹Experimental Research Institute of National Agricultural Products Quality Management Service

Capillary electrophoresis (CE) and near-infrared spectroscopy (NIRS) were performed to discriminate astragalus roots (*Astragalus membranaceus*) according to geographical origin (domestic or foreign). Two-hundred-and-four astragalus roots were extracted with 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) and separated in a uncoated fused-silica (50 $\mu\text{m} \times 27$ cm) capillary. Conditions for optimal analysis included: temperature -45°C , voltage -14 kV, and pressure injection time -8 sec. The optimal separation buffer was 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) containing 40 mM hexane sulfonic acid with 20% 2-methoxy ethanol. Raw NIR spectra were obtained using NIRS, and modified partial least square regression was used to develop the prediction model. The correlation coefficient and standard error of prediction were 0.915 and 14.3%, respectively. Under the optimal conditions established for CE and NIRS, the geographical origins of the astragalus roots were correctly identified in 80 and 97%, respectively. Astragalus roots that were not discriminated by NIRS were correctly discriminated by CE. Hence, CE and NIRS are potential methods for discriminating the geographical origins of astragalus roots that complement one another.

Key words: astragalus root, capillary electrophoresis, geographical origin, near-infrared spectroscopy

서 론

최근 국민소득의 증가로 한약재를 이용한 건강식품의 수요가 많아지고 약용작물의 재배면적이 증가하는 추세에 있으나, 수입규제 품목으로 관리되고 있던 황기, 당귀 등 21종의 중국산 한약재가 2001년 말 완전히 개방됨에 따라 무분별한 수입이 우려되고 있다. 한약재는 외관상 국내산과 수입산을 구별하기 어렵고 가격차가 커 의도적으로 산지를 속이는 경우가 많으며 이와 같은 한약재의 불법유통을 방지하기 위해 이들의 산지나 재배조건에 따라 발생하는 품질의 차이를 효율적으로 구분할 수 있는 신속 정확한 원산지 식별법의 개발이 요구되고 있다.

1980년대 초에 알려지기 시작한 capillary electrophoresis (CE)는 기존의 분석방법들에 비해 높은 분리도와 빠른 속도, 그리고 양적 디지털 분석이 가능하며 분석에 필요한 시료의 양을 최소화할 수 있는 등의 장점을 가진 새로운 분석법으로 최근에 그 이용도가 증가하고 있다⁽¹⁾. CE는 전하를 띤 이온이 반대의 전극으로 이동하는 electromobility와 capillary 내 벽의 표면전하로 인해 생기는 액체의 흐름에 의해 이동하는 electroosmotic flow에 의해 분석이 이루어지며⁽²⁾ SDS-PAGE나 HPLC로 분리 가능한 물질들에 모두 적용할 수 있을 뿐만 아니라 전처리 없이 까다로운 시료도 쉽게 분석할 수 있다⁽³⁾. 또한 CE는 특정 물질에 대한 정량적 분석 뿐만 아니라 미지의 물질도 분석조건변화에 따라 나타나는 peak의 양상 분석에 의해 한번의 분석으로 시료의 특징을 도출할 수 있는 장점을 가지고 있다⁽⁴⁾. CE를 농산물 분석에 이용한 것은 Bietz와 Schmalzried^(5,6)가 밀 단백질을 분석, 품종판별에 이용한 것을 시작으로 귀리⁽⁷⁾, 쌀⁽⁸⁾, 옥수수⁽⁹⁾, 보리⁽¹⁰⁾ 및 수수⁽¹¹⁾ 등에 적용되었고, 우리 나라에서도 본 연구팀에 의해 peak의 양상분석에 따른 국내산 쌀의 품종판별⁽¹²⁾ 및 차이식별⁽¹³⁾과

*Corresponding author : Mee-Ra Rhyu, Food Function Research Division, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9268
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: mrrhyu@kfri.re.kr

율무의 원산지판별⁽¹⁴⁾에 적용되었다.

근적외선분광분석기(near-infrared spectroscopy, NIRS)는 종전의 외형에 대한 육안 판별방법과는 달리 농산물중의 유기성분을 분석하여 원산지 판별에 응용하는 방법이다⁽¹⁵⁾. 현재 이용되는 다른 유기성분 분석장비들은 일반적으로 하나의 성분 분석에 따른 개별적인 전처리 방법이 필요하고 여러 성분을 동시에 분석하여 자료를 얻는 것은 거의 불가능한 반면 NIRS는 특별한 전처리 없이 짧은 시간 내에 시료에 함유된 성분들의 분자관능기에 대한 정보를 얻을 수 있다⁽¹⁶⁾. 우리나라에서도 현재 농업, 식품, 제약, 화학분야 등에서 널리 사용되고 있으며 이를 통계학적으로 접근하여 녹차⁽¹⁵⁾, 참깨⁽¹⁷⁾, 참기름⁽¹⁸⁾ 및 생약⁽¹⁹⁾의 원산지 판별등에 적용한 연구 결과들이 보고되어 있다.

따라서 본 연구는 최근 수입이 급증한 한약재 중 하나인 황기를 선택하여 CE를 및 NIRS를 이용한 분석조건을 확립하고 이를 유통시료에 적용하여 명확하고 신속한 원산지 판별법으로의 사용 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 수집 및 전처리

국립농산물품질관리원 시군 출장소 및 국립식물검역소를 통해 전국 산지 생산품 및 검역 통관물품으로 2000년과 2001년에 생산 유통된 국산 93점 및 수입 중국산 황기 111점을 수집하였다(Table 1). 수집한 시료는 food mixer(FM-681, Hanil, Seoul)를 이용하여 조 분쇄 후 cyclone sample mill (UDY-Co, USA)로 분말화하여 20 mesh 체(850 μ m 이하)를 통과시켜 사용하였다.

CE를 이용한 분석

추출: 30% Methanol, 30% ethanol, 30% 2-propanol, methanol: 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5, 3:7) 및 methanol: 0.3 M borate buffer(pH 8.5, 3:7)를 사용하여 지표물질의 추출정도를 검토한 후 최적의 용매를 결정한 후 전보⁽¹⁴⁾와 동일한 방법으로 추출하였다. 즉, 시료에 5배량(w/v)의 추출용매를 가하여 실온에서 1시간 추출 후 4°C에서 10분간 원심분리(10,000 \times g)한 상정액을 분석에 사용하였다. 추출액은 분석 시까지 실온 보관하였고, 0.45 및 0.22 μ m micro filter로 순차적으로 여과하여 사용하였으며, 추출 후 15시간 이내에 분석하는 것을 원칙으로 하였다.

기기, capillary cleaning 및 분석조건: CE는 Beckman P/ACE 5500 system(Beckman, Fullerton, CA, USA)을 이용하였고, uncoated fused-silica(50 μ m I.D. \times 27 cm, 20 cm inlet to detector) capillary를 사용하였다. 새 capillary는 사용 시 분석 중 시료 변화에 따른 peak 용출 시간의 차이를 최소화하기 위하여 Lookhart와 Bean⁽⁸⁾의 방법을 수정하여 세척 및 평형화과정을 수행하였다. 즉, 1 M sodium hydroxide를 20분간 흘린 후 1 M phosphoric acid로 60분간 흘리고, 다시 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5)로 20분간 흘린 후 분석 buffer로 60분간 평형화 시켜 분석에 이용하였다. 분석 시 전압은 14 kV, 온도는 45°C를 유지하였고 8초간 pressure-injection 하였다.

최적의 분석조건 확립을 위해 0.1 M phosphate buffer(pH

Table 1. Astragalus root samples

Cultivated year	Origin	Domestic sample	Foreign sample
2000		Hk001~Hk035	Hs001~Hs059
2001		Hk036~Hk093	Hs060~Hs111

2.5)를 기본 분석 buffer로 하여 몇 가지 첨가제들에 따른 분리도 개선 효과를 검토하였다. 유기용매 첨가제로는 acetonitrile, ethanol, ethylene glycol, methanol, 2-methoxy ethanol 및 2-propanol을, 양성 계면활성제로 CHAPS(3-[(3-cholamidopropyl)-dimethyl ammonio]-1-propanesulfate), lauryl sulfobetain(SB-12) (N-dodecyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate)과 octyl-sulfobetain(SB3-8)(N-octyl-N,N-dimethyl-3-ammonio-1-propanesulfonate)을, 비이온 계면활성제로 Brij35(propylene glycol 23 lauryl ether)를 사용하였으며, 그 외에 hexane sulfonic acid (HSA)와 iminodiacetic acid(IDA)도 사용하였다. Buffer는 Bio-Rad Laboratories(Hercules, CA, USA)로부터, 각 계면활성제들은 Sigma Chemicals(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, 유기용매들은 HPLC급을 사용하였다.

분석 protocols: 분석 시 시료 주입 전에 분석 buffer를 1분간 분석 시와 같은 방향(Forward mode, F)으로 흘려주고 0.1 M phosphoric acid와 1 M sodium hydroxide는 반대방향(Reverse mode, R)으로 각각 4분, 5분씩 흘려주었다. 증류수를 다시 1분간 흘린(R) 후 분석 buffer로 2분간 평형화(F) 시키고 시료를 주입하였다. 각 시료 당 분석시간은 30분, capillary의 세척과 평형화과정을 합하여 하나의 시료 분석에 총 43분이 소요되었다.

NIRS를 이용한 분석

황기의 근적외선 스펙트럼은 근적외선분광분석기(Near-Infrared Spectroscopy, NIRS model 6500, Foss NIRSystems, USA)를 사용하여 400~2500 nm 파장범위에서 2 nm 간격으로 측정하여 얻었다. 1회 시료 약 5g을 취하여 흡광도를 측정하였으며 측정된 근적외선 스펙트럼은 WINISI II program (Infrasoft International, LLC, USA)을 이용하여 수학적 처리(mathematical treatment)와 회귀분석을 하였다.

결과 및 고찰

CE를 이용한 분석 조건 확립

30% Methanol, 30% ethanol, 30% 2-propanol, methanol: 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5, 3:7) 및 methanol: 0.3 M borate buffer(pH 8.5, 3:7)를 사용하여 시료의 추출조건을 검토하였다. 시료의 5배량의 용매를 가한 후 추출하여 얻은 상정액을 실온에서 24시간 동안 방치하여 추출액에 현탁이나 침전이 생기는 경우는 바로 분석에 적용이 불가능, 이를 제거하였고, 기본 buffer로 분석하여 물질 peak가 나타날 가능성 여부를 검토한 결과 methanol: 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5, 3:7)가 가장 적절한 것으로 나타나(data not shown) 이를 추출용매로 사용하였다.

또한 본 실험은 일정 성분의 정량적 분석보다는 현장에서

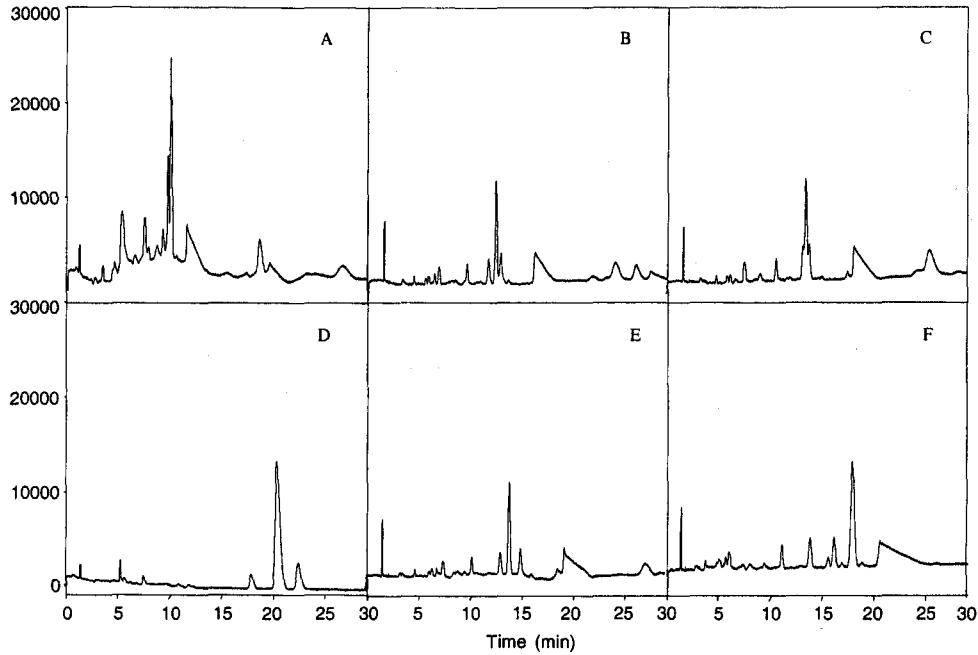


Fig. 1. Capillary electrophoresis patterns of 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) extracts of astragalus root with 0.1 M phosphate buffer, pH 2.5, plus an organic modifier; 20% acetonitrile (A), 20% ethanol (B), 20% ethylene glycol (C), 20% methanol (D), 20% 2-methoxy ethanol (E) and 20% 2-propanol (F).

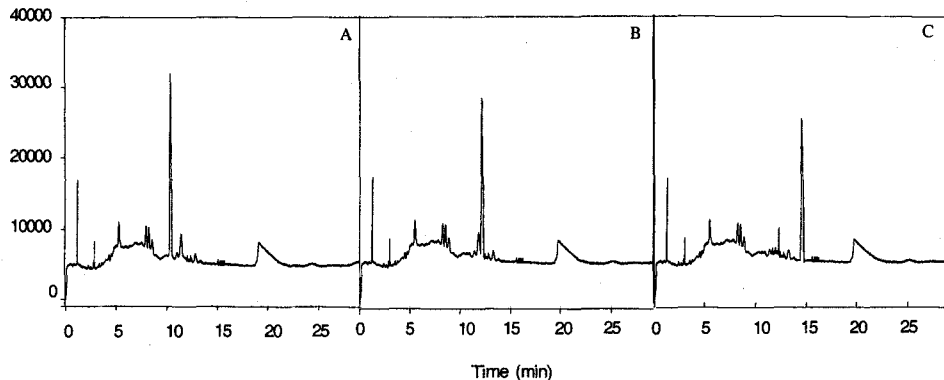


Fig. 2. Capillary electrophoresis patterns of 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) extracts of astragalus root using the following three buffer systems: 0.1 M phosphate buffer, pH 2.5 plus 26 mM hexane sulfonic acid +20% 2-methoxy ethanol (A), +30% 2-methoxy ethanol(B), and +40% 2-methoxy ethanol (C).

의 원산지 판별에 대한 적용 가능성을 살펴보기 위하여 수행하였으므로 전기적인 하전의 차이로 분석이 용이한 시료 내의 단백질성분들에 대한 정보를 peak로 얻고 이의 양상을 이용하여 원산지를 판별하고자 하였다. 따라서 분석의 정확도를 높이기 위하여 시료 중 단백질성분들의 분석이 정확히 이루어지도록 다른 시료 주입 전에 sodium hydroxide를 흘려 주어 capillary 내막의 silicic acid를 충분히 이온화한 후 실험을 수행하였다.

분석 시 capillary 내막의 silanol group의 이온화 정도에 따른 분석 물질들의 이동 및 peak 용출의 적정성을 알아보기 위하여 낮은 pH 범위에 해당하는 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5)와 pH가 비교적 높은 0.3 M borate buffer(pH 8.5)를 비교한 결과 0.1 M phosphate buffer 사용 시 peak의 분리도가 뛰어나고 전체적인 peak 형태가 안정적으로(data not shown) 나

타나 이를 기본 buffer로 결정하였다. 또한 CE를 이용하여 미지의 물질 분석 시 가장 큰 문제점 중 하나는 capillary의 내막과 분석하는 물질간의 상호작용을 들 수 있다. 이러한 상호작용에 의해 분석하는 물질이 capillary 내막의 이온화된 silanols과 결합하면 capillary내의 전하가 변화하여 전기적 이동에 변화를 가져올 수 있으며 peak의 tailing이나 broadening 현상이 나타나고 이러한 현상이 더 강해지면 detector에서의 반응이 감소되거나 완전히 peak가 없어지는 경우가 생겨 분석의 재현성이나 정확도가 저하되는 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 따라서 이의 예방을 위하여 buffer에 여러 가지 첨가제들을 첨가하여 분석을 수행하는 것이 일반적이다⁽²⁰⁾.

본 실험에서는 일차적으로 capillary 내막과 분석 물질간의 소수성 상호작용을 저하시키기 위하여 분석 buffer에 친수성이 강한 유기용매 첨가제를 사용하였다. 기본 buffer에 ace-

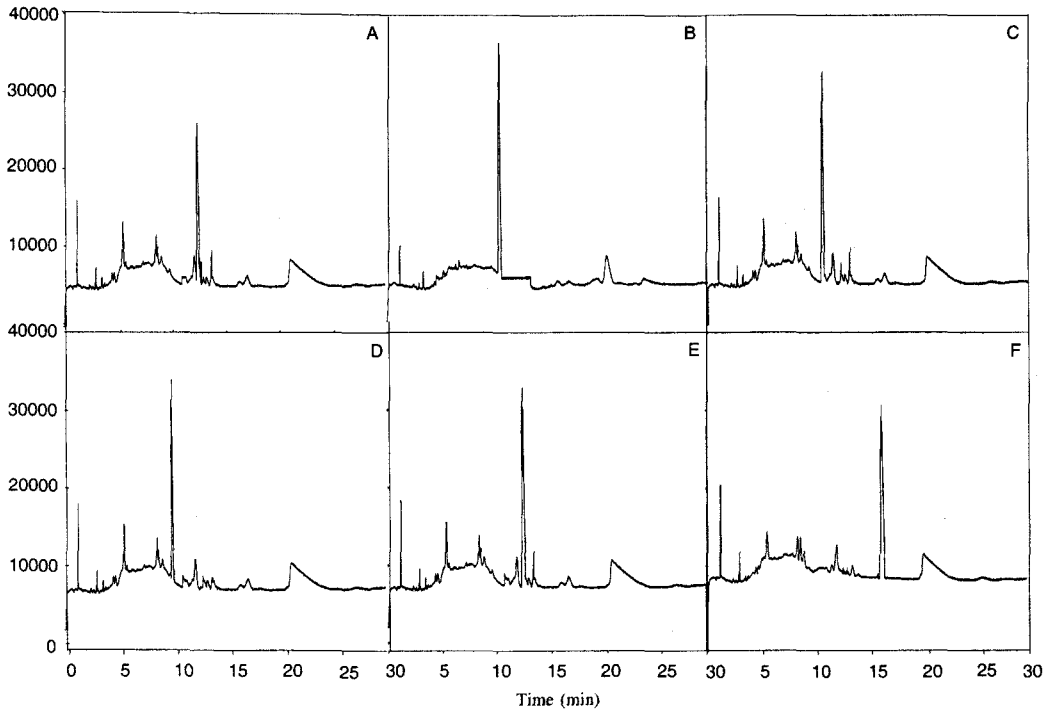


Fig. 3. Capillary electrophoresis patterns of 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) extracts of astragalus root using the following separation buffers: 0.1 M phosphate buffer, pH 2.5, plus 20% 2-methoxy ethanol plus 26 mM CHAPS (A), 26 mM lauryl sulfobetain (B), 26 mM octyl sulfobetain (C), 26 mM Brij35 (D), 26 mM hexane sulfonic acid (E) and 26 mM iminodiacetic acid (F).

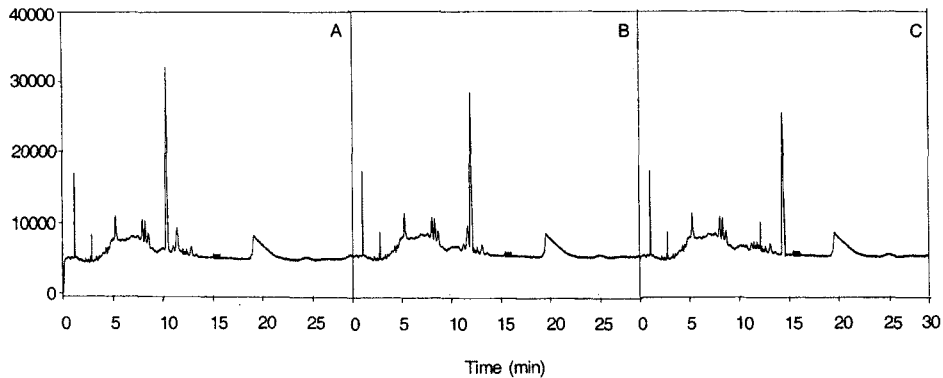


Fig. 4. Capillary electrophoresis patterns of 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) extracts of astragalus root using the following three buffer systems: 0.1 M phosphate buffer, pH 2.5, plus 20% 2-methoxy ethanol +15 mM hexane sulfonic acid (A), +26 mM hexane sulfonic acid (B), +40 mM hexane sulfonic acid (C).

tonitrile, ethanol, ethylene glycol, methanol, 2-methoxy ethanol 및 2-propanol을 각각 20% 농도로 첨가한 결과 2-methoxy ethanol과 ethanol 첨가 시 peak 분리도 및 용출시간이 적절하였고 특히 ethanol은 용출시간 단축에서, 2-methoxy ethanol은 분리도 면에서 가장 적합함을 알 수 있었다(Fig. 1). Acetonitrile은 peak의 분리도는 개선시키나 baseline이 가장 불안정하였고, ethylene glycol과 methanol은 peak 분리도가 나빠졌으며 propanol은 용출시간이 늦어지는 경향을 나타내었다. 따라서 baseline의 안정도, peak의 분리도 및 용출시간 모두를 고려하여 ethanol에 비해 용출시간은 다소 늦지만 분리도가 좋고 baseline이 안정적인 2-methoxy ethanol을 유기용매 첨가제로 선택하였다. 또한 분석 buffer에 첨가하는 2-methoxy ethanol의 농도를 변화시켜 분석한 결과, 농도가 높

을수록 peak 용출 시간이 늦어지며, 20% 이하에서는 peak들이 겹쳐지는 현상이 나타나 20% 첨가 시 peak의 분리도가 가장 적합한 것으로 나타났다(Fig. 2).

CE 분석 시 buffer에 양성, 비이온화 및 기타의 계면활성제들의 첨가는 분석 중 전류의 흐름을 증가시키거나 단백질의 분리 개선 등의 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 본 실험에서도 이를 위하여 20% 2-methoxy ethanol을 첨가한 buffer에 6종의 계면활성제를 각각 26 mM 농도로 첨가하고 peak 형태의 변화를 관찰한 결과 HSA 첨가 시 분리도와 용출시간면에서 가장 적합한 것으로 나타났다(Fig. 3). HSA의 첨가 농도를 15, 26 및 40 mM로 다르게 하여 분석한 결과 용출시간은 첨가량이 많을수록 느려졌으나(Fig. 4) 분리도 및 전체 분석시간에는 큰 영향을 미치지 않았고, 계면활성제

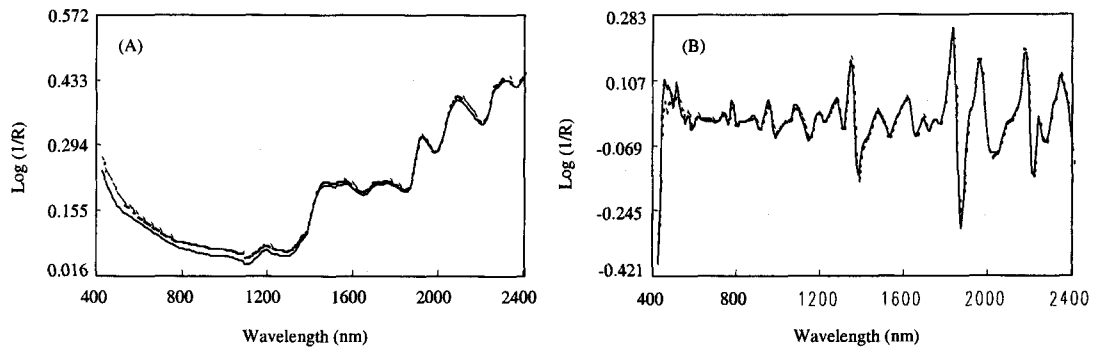


Fig. 5. The raw (A) and average second derivative (B) NIR spectra of domestic and foreign astragalus root. (—) Domestic; (· · ·) Foreign.

Table 2. Results of each calibration equation

Type of Equation	R ¹⁾	SEC (%) ²⁾	SEP (%) ³⁾
1st derivative	0.921	11.701	13.702
2nd derivative	0.915	11.722	14.309

¹⁾Correlation Coefficient.

²⁾Standard Error of Calibration.

³⁾Standard Error of Prediction.

의 양이 적을수록 초반에 나타나는 peak의 분리도가 떨어지는 경향을 보여 40 mM 첨가가 황기 분석에 가장 적절한 것으로 판단되었다.

NIRS를 이용한 검량식 작성

근적외선분광분석법은 여러 가지 물질들 내의 각종 분자 결합 관능기(C-H, O-H, N-H, S-H)들이 근적외선 대역에서 연속적인 분자진동을 하는 성질을 이용하여 이들의 흡광에너지를 측정, 분석하는 방법이다⁽²¹⁾. 이 스펙트럼은 분석하는 물질에 존재하는 다양한 유기성분들의 복합적인 물리·화학적 결합정보를 나타내므로 이를 체계적으로 통계분석 및 해석하여 원산지 판별에 적용하고 있다^(15,17-19). 즉 원산지별로 시료를 다수 입력 후 분석하여 판별 검량선을 작성하고 미지의 시료로 작성된 검량식을 검증한 후 원산지 판별 검량식으로 사용하였다.

본 실험에서 근적외선분광분석기에 의해 얻은 황기의 근적외선 스펙트럼은 Fig. 5-A에 나타내었다. 이 스펙트럼은 황기에 존재하는 유기물질들에 대한 종합적인 정보들을 포함하고 있으며 전체적으로 완만한 흡수곡선을 보이고 있다. 근적외선 영역의 스펙트럼은 시료의 형태에 관계없이 측정할 수 있는 장점은 있지만 그 흡수대가 모두 겹쳐져 있다. 또한 근적외선 반사 스펙트럼은 측정하는 물질의 화학적 성분뿐 아니라, 입자의 크기나 밀도같은 물리적 영향에도 민감하다. 본 실험에서는 이러한 물리적 영향을 감소시키고 겹친 흡수대의 분리도를 증가시키기 위해 스펙트럼을 수학적으로 2차 미분하여 Fig. 5-B에 나타내었다. 이 스펙트럼에서는 peak가 아래로 돌출 될수록 흡수가 강함을 의미하며 Fig. 5-A에 나타낸 스펙트럼보다 각각의 정보에 대한 흡수차이를 더 정확히 알 수 있다. 일반적으로 근적외선분광분석 스펙트럼의 1400~1450 nm와 1900~1950 nm는 수분 관련의 O-H 흡수를 나타내고, 1400 nm 부근이나 1900 nm 부근 및 2000 nm 이

상에서는 당이나 셀룰로오즈 관련의 O-H, C-H 및 C-C 등의 흡수정보를 많이 포함하고 있다⁽²²⁾. 그러나 황기 스펙트럼의 경우 파장의 선형만 비교 시 외관상 국내산과 중국산 수입 시료의 차이가 거의 없어 그대로 원산지 판별에 적용은 어렵고 정확한 검량식 작성을 위해 다변량(multivariate) 회귀분석을 수행하였다. 최근 근적외선분광분석법에 많이 쓰이는 PLS(Partial Least Squares) 분석 방법은 스펙트럼에 바람직하지 않은 영향을 주는 기기 변화의 바탕선 변화, 잡음, 시료의 산란 등의 영향을 최소화 할 수 있다⁽²³⁾. 특히 Modified PLS는 검량식 작성 시 교차검량을 수행하여 최적의 인자 선정으로 over fitting을 방지하고 정확도를 높여 주기 때문에 이 MPLS방식을 이용하여 산란과 중첩, 기준선 변위에 의한 변동요인을 평가하기 위해 각각을 수학적으로 처리하여 비교적 R값이 높은 검량식을 작성하였다(Table 2).

황기 유통시료에 대한 원산지 판별조건 적용

NIRS를 이용하여 얻은 2차 미분한 스펙트럼을 PLS 분석에 의하여 계산한 값이 수입 중국산의 경우 60이하, 한국산의 경우는 60이상을 보인다는 기준을 황기 유통시료 204점(국산 93점, 수입 111점)에 대하여 적용한 결과 국산 93점 중 7점(2000년 35점 중 2점과 2001년 58점 중 5점)이 수입산으로 판별되어 약 92%의 판별율을 나타내었고 수입산 시료 111점에 대해서는 모두 수입산으로 판별되는 100%의 판별율을 보였다(Table 3, Fig. 6).

또한 결정된 CE 분석조건을 황기에 적용시킨 결과 국산 및 수입산의 전체적인 peak의 양상은 유사하였으나 용출시간 약 11~13분에 나타나는 peak am-1과 am-2 면적의 비율이 국산은 약 1:4로 peak am-2가 peak am-1의 약 4배 정도인 반면, 수입산은 peak am-1과 am-2의 면적 비율이 1:10으로 peak am-2와 peak am-1의 크기가 약 10배 차이가 나는 것으로 관찰되어 이 두 peak 면적의 비율을 비교하여 국

Table 3. Results of discrimination of geographical origin for Astragalus root by capillary electrophoresis and near-infrared spectroscopy

Year	Method	Origin	Incorrectly discriminated sample	Accuracy (%)
2000	CE	Domestic	Hk-001, 013, 030, 031	86
		Foreign	Hs-022, 025, 031, 040, 041, 042, 043, 044, 047, 048, 052, 054	80
	NIRS	Domestic	Hk-019, 029	94
		Foreign	None	100
2001	CE	Domestic	Hk-050, 056, 057, 060, 064, 065, 066, 067, 068, 070, 072, 074, 076	78
		Foreign	Hs-060, 061, 066, 069, 070, 087, 102, 103, 106, 107, 111	79
	NIRS	Domestic	Hk-043, 045, 049, 053, 054	91
		Foreign	None	100

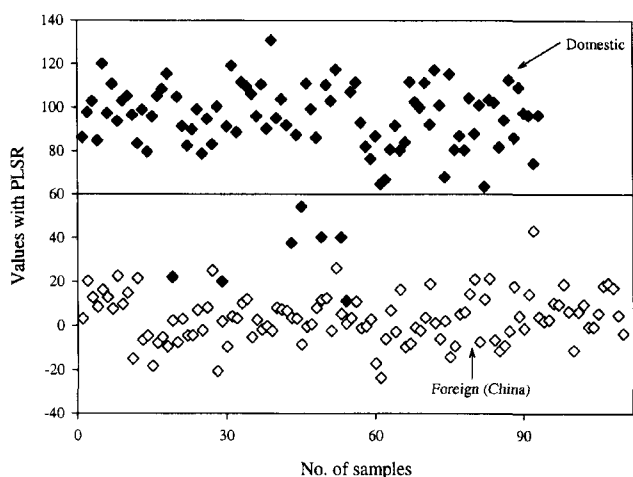


Fig. 6. Scores plot of domestic and foreign astragalus root samples with PLS regression using NIR spectrum.

산과 수입산의 원산지 구분이 가능하였다(Fig. 7). 두 peak간 면적 비의 차이를 황기 유통시료의 원산지 판별에 적용한 결과 국산 93점 중 76점(2000년 35점 중 31점과 2001년 58점 중 45점)이 정확하게 판별되어 약 82%의 판별율을 나타내었고, 수입산은 111점 중 88점(2000년 59점 중 47점과 2001년 52점 중 41점)이 수입산으로 판별되어 약 79%의 판별율을 보였다.

황기 유통시료에 대한 원산지 판별결과 CE와 NIRS가 각각 약 80%와 97%의 판별율을 나타내어 전반적인 판별율이 NIRS가 높고 CE에 의한 판별율은 비교적 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이전의 연구결과들에서도 NIRS와 같은 비파괴 분석법은 원산지 판별에 적용 시 대부분 90% 이상의 높은 판별율을 나타내는데^(15,17) 반해 물질의 추출하여 이를 분석하는 CE는 대부분 80%내외의 판별율을 나타내었다. 또한 NIRS에 의해 수입산으로 잘못 판별된 국산시료 7점이 모두 CE에 의해 국산으로 판별되어 NIRS와 함께 적용 시 원산지 판별의 정확도를 높일 수 있을 것으로 추측되었으며 이는 쌀의 품종판별 중 비파괴분석인 화상분석 시 오판율이 높은 동진벼와 추청벼가 쌀 단백질을 추출하여 분석한 CE로는 정확히 판별되었다는 이전의 연구결과와도 유사한 경향임을 알 수 있었다^(12,24). 따라서 농산물의 원산지 검정에서 비파괴분석법인 NIRS를 현장에서의 신속한 원산지 판별법으로 사용 후 다시 한번 CE를 이용하여 성분중의 일부 peak의 양상을 분석, 비교시 판별의 정확도 증진에 기여할 수 있을 것으로 예견되었다.

요 약

외국농산물의 국내 유입증가와 이에 따른 신속한 원산지 판별법 확립이 요구되는 가운데 최근 수입이 급증한 품목 중 하나인 황기를 선택, CE 및 NIRS를 이용하여 분석조건을 확

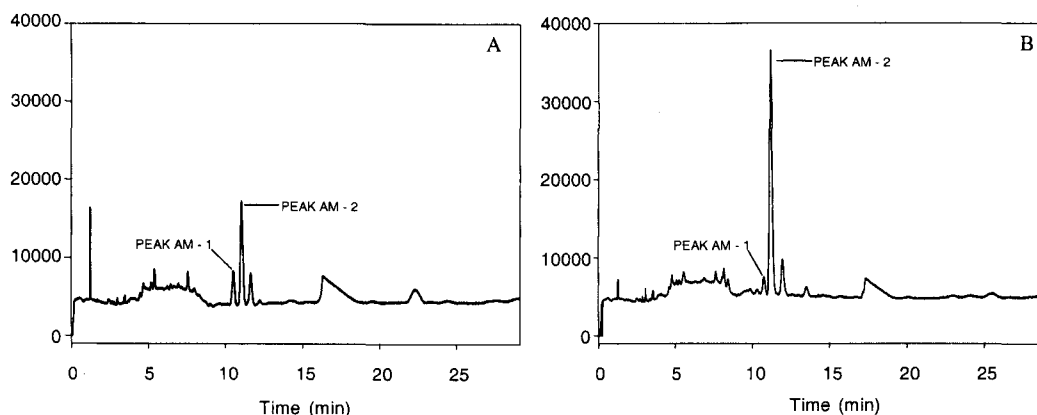


Fig. 7. Capillary electrophoresis patterns of 30% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 2.5) extracts of astragalus root with domestic (A) and foreign (B) origin. Separation buffer were 0.1 M phosphate buffer, pH 2.5, containing 40 mM hexane sulfonic acid, plus 20% 2-methoxy ethanol.

립하고 원산지판별에의 적용 가능성을 검토하였다. CE를 이용하여 분석 시 추출은 methanol: 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5)(3:7)를 사용하였으며 uncoated fused silica capillary(50 μ m I.D.×27 cm)를 이용하여 45°C, 14 kV로 분석, 200 nm에서 검출하였다. 분석 buffer는 0.1 M phosphate buffer(pH 2.5)에 20% methoxy ethanol과 40 mM HSA를 첨가하여 사용하였으며, 8초간 pressure injection 하였다. Peak의 재현성을 증대시키기 위하여 시료 주입 전 분석 buffer를 1분간 분석 시와 같은 방향으로(F) 흘려주고 0.1 M phosphoric acid와 1 M sodium hydroxide는 각각 4분, 5분간 반대방향으로(R) 흘려주었다. 증류수를 다시 1분간 흘려주고(R) 분석 buffer로 2분간 평형화(F) 시킨 후 시료를 주입하였다. 이상의 조건으로 국내산(97점)과 수입(113점) 황기를 분석한 결과 전체 peak의 양상은 유사하였으나 약 11~13분에 용출되는 2개의 peak (peak am-1, am-2)의 면적 비율에서 차이가 나타나 국산은 peak am-2가 peak am-1의 약 4배인 반면, 수입 산은 10배로 나타나 원산지 판별이 가능하였으며, 약 80%의 편별율을 나타내었다. NIRS는 국산 및 수입산 황기 raw 스펙트럼의 2차 미분 스펙트럼 R값이 0.915로 비교적 안정된 값을 얻을 수 있었고, SEP는 약 14.3%로 나타났다. 이를 국산과 수입산 황기에 적용 시 전체 판별율이 약 97%로 비교적 높은 판별율을 보였다. 또한 NIRS로 판별이 불가능한 시료가 CE로는 판별이 가능하여 이 두 기기를 함께 사용 시 상호보완하여 신속 정확한 원산지 판별법의 개발 가능성이 시사되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 지원으로 수행된 연구결과와 일부로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Canalon, P.F. Capillary electrophoresis: A new tool in food analysis. *J. AOAC Int.* 78: 12-15 (1995)
2. Wehr, T. Capillary electrophoresis of proteins. *Adv. Chromatogr.* 37: 227-361 (1997)
3. Chen, F.-T.A. Rapid protein analysis by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* 559: 445-453 (1991)
4. Calalon, P.F. Capillary electrophoresis: A useful technique for food analysis. *Food Technol.* 49: 52-58 (1995)
5. Bietz, J.A. and Schmalzried, E. Capillary electrophoresis of wheat proteins: optimization and use for varietal identification (Abstr.). *Cereal Foods World* 37: 555 (1992)
6. Bietz, J.A. and Schmalzried, E. Improved wheat varietal identification by acidic capillary electrophoresis (Abstr.). *Cereal Foods World* 38: 615 (1993)
7. Lookhart, G.L. and Bean, S.R. Rapid differentiation of oat cultivars and rice cultivars by capillary zone electrophoresis. *Cereal Chem.* 72: 312-316 (1995)
8. Lookhart, G.L. and Bean, S.R. Improvements in cereal protein separations by capillary electrophoresis: resolution and reproducibility. *Cereal Chem.* 73: 81-87 (1996)
9. Righetti, P.G., Oliviere, E. and Viotti, A. Identification of maize lines via capillary electrophoresis of zeins in isoelectric, acidic buffers. *Electrophoresis* 19: 1738-1741 (1998)
10. Lookhart, G.L., Bean, S.R. and Jones, B.L. Separation and characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) hordeins by free zone capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 20: 1605-1612 (1999)
11. Bean, S.R., Lookhart, G.L. and Bietz, J.A. Acetonitrile as a buffer additive for free zone capillary electrophoresis separation and characterization of maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) storage proteins. *J. Agric. Food Chem.* 48: 318-327 (2000)
12. Rhyu, M.R., Kim, E.Y., Ahn, M.O. and Kim, S.S. Discrimination of domestic rice cultivars by capillary electrophoresis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1252-1258 (1998)
13. Rhyu, M.R., Kim, E.Y., Kim, S.S. and Chang, Y.S. Regional differences of four major rice cultivars in Korea by capillary electrophoresis. *Food Sci. Biotechnol.* 10: 299-304 (2001)
14. Rhyu, M.R., Kim, E.Y. and Kim, S.S. Identification of cultivate sites for job's-tears (*Coix lachrymajobi* var. *mayuen*) using capillary electrophoresis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 787-791 (2002)
15. Kim, Y.S., Scotter, C., Voyiagis, M. and Hall, M. Potential of NIR spectroscopy for discriminating the geographical origin of green tea from Korea and Japan. *Food Sci. Biotechnol.* 6: 74-78 (1997)
16. Cho, H.J. and Ha, Y.L. Determination of honey quality by near-infrared spectroscopy. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 256-260 (2002)
17. Woo, Y.A., Cho, C.H., Kim, H.J., Cho, J.H., Cho, K.K., Chung, S.S., Kim, S.J. and Kim, J.H. Discrimination of herbal medicine according to geographical origin(Korea, China) using near infrared reflectance spectroscopy. *Yakhak Hoeiji* 42: 359-363 (1998)
18. Kim, Y.S., Scotter, C., Voyiagis, M. and Hall, M. Potential of NIR spectroscopy for discriminating the geographical origin of sesame oil. *Food Sci. Biotechnol.* 7: 18-22 (1998)
19. Kwon, Y.K. and Cho, R.K. Identification of geographical origin of sesame seeds by near infrared spectroscopy. *Agric. Chem. Biotechnol.* 41: 240-246 (1998)
20. Campos, C.C. and Simpson, C.F. Capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. Sci.* 30: 53-58 (1992)
21. Williams, P. and Norris, K. Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industry, p. 201. American Association of Cereal Chemists, Inc., MN, USA (1987)
22. Osborne, B.G. and Fearn, T. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis, Ch. 2, John Wiley & Sons, Inc., NY, USA (1986)
23. Beebe, K.R. and Kowalski, B.R. An introduction to multivariate calibration and analysis. *Anal. Chem.* 59: 1007-1015 (1987)
24. Kim, S.S., Lee, S.H., Rhyu, M.R. and Kim, Y.J. Identification of rice species by three side (top, side and front) images of brown rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 473-479 (1998)

(2003년 7월 7일 접수; 2003년 9월 9일 채택)