

메밀 식물체 함유 Rutin의 HPLC 분석방법 개발

정명근[†]

삼척대학교 생약자원개발학과

Development of Analytical Method for Rutin in Buckwheat Plant using High Performance Liquid Chromatography

Myoung-Gun Choung[†]

Department of Pharmacognosy Material Development, Samcheok National University, San 253 Gyodong, Samcheok 245-711, Gangwon, Korea

ABSTRACT : This experiment was conducted to know the appropriate methods for extraction and determination of rutin contained buckwheat plants. The efficient HPLC analytical condition of rutin contained buckwheat plants was developed. The gradient elution employed a 250 mm × 4.6 mm i.d. Tosoh ODS 120T column. The gradient system was used two mobile phases. A gradient elution was performed with mobile phase A, consisting of 2% Acetic acid-45% Acetonitrile, and mobile phase B, comprising 2% aqueous acetic acid, and delivered at a flow rate of 1mL/min as follows: 0-18 min, 50-100% A; 18-20 min, 100-50% A; 20-22 min, 50% A. The UV detection wavelength was set at 355 nm. The limit of detection (LOD) for rutin standard compound was 20 ng/mL. And, the higher content of rutin in the extracts was obtained by 80°C reflux extraction for 120 min. from plants of buckwheat using ethanol.

Keywords: buckwheat, rutin, HPLC, limit of detection

메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)은 마디풀과에 속하는 일년초로서 분류학상 곡류와는 구별되지만 곡류와 유사한 특성을 갖고 있다(Marshall *et al.*, 1982). 메밀은 우리 선조들이 오방지영물(五方之靈物)이라 하여 매우 중요시 여겼던 작물로 다양한 식품의 원료로 사용되고 있으며, 특히 메밀국수, 메밀묵, 메밀죽, 메밀전, 그리고 메밀산자와 채소로 식용되어 왔다(Maeng *et al.*, 1990).

메밀은 생육기간이 짧고, 내한성이나 흡비력이 강하며 병충해도 작기 때문에 산간지나 척박지에 재배가 용이하고, 평야지대에서는 동작물이나 봄작물의 후작 또는 대과작물로 중요한 위치를 차지하고 있다(Kim *et al.*, 1994).

메밀은 식품으로도 사용하였으나 약성이 강하여 전통적으로

내과적 치료용으로서 홍역, 궤양성 위장병, 여성혈대하증, 폐각혈, 흉통, 조산방지, 산후출혈, 장출혈 및 혈변간염, 황달, 백일해 등에 사용하였고, 또한 외과적으로는 타박상, 악성종기, 심한 하복부 부기치료에 사용되었다. 한편 이외에도 위를 강하게 하고, 기를 돋우며, 정신을 맑게 하고, 오장의 노폐물을 제거하는 생리적 작용이 고문헌을 통해 알려지고 있다(Kim *et al.*, 1994).

메밀의 주요성분으로 알려진 rutin(2-phenyl-3,5,7,3',4'-pentahydroxybenzopyrone, $C_{27}H_{30}O_{16}$ =610.51)은 담황색의 polyphenol 화합물로서 quercetin(5,7,3',4'-tetra-hydroxy flavone)에 rutinoside가 결합된 물질로서 항산화, 항당뇨활성, 혈압강하작용이 있음이 보고된 바 있고, 또한 chalcone, quercetin, hesperidin과 같이 vitamin P 작용이 있음이 알려져 있어 식품산업에서는 영양 강화를 목적으로 식품 천연첨가물로서도 사용하고 있다(Kim *et al.*, 1994).

최근까지 국내·외에서 rutin에 대한 다수의 연구가 수행된 바 있으나 대부분이 메밀 종실 및 메밀식품에 함유된 rutin의 함량 측정에 관한 연구가 대부분이다. 일반적으로 메밀종실에는 극히 작은 양의 rutin이 함유되어 있는 것으로 보고되며, 맹 등(1990)은 메밀 종실가루의 rutin 함량이 100 g 당 15.71-20.92 mg, 메밀쌀은 100 g 당 15.04-17.49 mg, 시판 메밀국수는 100 g 당 1.76-6.60 mg, 막국수는 100 g 당 2.86-10.84 mg 수준을 나타낸다고 보고한 바 있어 종실에는 극히 작은 양의 rutin이 함유되어 있음을 보고한 바 있다.

한편 Couch 등(1946)은 메밀 식물체를 대상으로 rutin의 함량을 평가한 결과 종실보다는 식물체에 극히 많은 양의 rutin이 함유되어 있음을 보고하였으며, 부위 및 생육시기별 rutin 분석을 통해 개화기에 있어서 rutin 함량은 잎>엽병>줄기>뿌리의 순이며, 개화시는 전체의 68%가 꽃에 존재한다고 보고한 바 있고, Nina 등(2003)도 slovenia에서는 약메밀(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)의 종실보다는 식물체에 rutin 함량이 높으므로 약메밀 식물체를 이용하여 차를 만들거나 분말로 가공하

[†]Corresponding author: (Phone) +82-33-570-6491 (E-mail) cmg7004@samcheok.ac.kr

여 rutin이 풍부한 영양식품 혹은 식품첨가물로 사용한다고 하였다.

현재 알려진 대부분의 rutin 분석은 알콜로 추출하여, 40% 메탄올 혹은 25% 수준의 아세트나이트릴을 용매로 한 역상조건의 HPLC 분석이 일반적으로 사용되고 있다. 하지만 이들 분석법의 대부분은 메틸종실을 중심으로 rutin의 함량이 측정된 방법이며, 메틸 식물체(잎 및 줄기)는 종실과 달리 식물체가 성장하는 동안 다양한 물질의 합성이 이루어지는 부분이며 경우에 따라서는 특정 물질의 합성을 위한 전구물질도 다양하게 존재함으로 단순히 최종 대사산물만이 측정되는 종실과는 달리 내용성분 면에서 판이하게 다른 양상을 나타내는 경우가 대부분이다.

따라서 본 연구는 메틸 종실에 비해 다량의 rutin이 함유된 것으로 알려진 메틸 식물체를 대상으로 최적의 rutin 함량 분석조건을 확립하기 위해 rutin의 최적 추출조건, 다양한 HPLC 분석조건, 분석 재현성 및 최소검출한계를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 메밀은 농촌진흥청 고령지농업연구소에서 5월 중순 파종하여 60일 정도 성숙한 양절메밀 식물체를 분양 받아 뿌리를 제거한 경엽과 줄기를 50°C 화력건조기에서 24 시간 건조한 후 분쇄하고, 60 mesh 체로 사별한 후 시료로 사용하였다.

또한 실험에 사용된 표준물질로서 rutin과 quercetin은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(USA)로부터 구입하였으며, HPLC 용매로서 methanol, water, acetonitrile 및 acetic acid는 J. T. Baker Inc.(USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 추출용매인 에탄올은 국산 GR 등급을 구입하여 사용하였다.

추출조건 확립시험에 사용된 ultrasonic bath는 JAC사(Korea)의 M-2010을 사용하였고, 분광특성 측정을 위한 spectrophotometer는 Shimadzu사(Japan)의 UV-1650PC를 사용하였다. 정량분석에 사용된 HPLC 시스템은 TSP사(USA)의 제품을 사용하였으며, TSP HPLC는 Spectra system P2000 pump, UV 2000 detector, As 3000 Autosampler, Eppendorf CH-30 column oven, TSP vacuum degaser 및 Hitachi D-2500 integrater로 구성되었다.

메밀 식물체 함유 rutin의 최적 HPLC 분석 조건 확립을 위해 사용된 분석컬럼은 Table 1과 같이 C18 및 C8 컬럼 11종을 사용하였고, 이동상 조건은 유기용매로서 메탄올 및 아세트나이트릴을 사용하여 다양한 농도별로 분리양상을 검토하였다. 이들 용매계 중 가장 우수한 분리 양상을 나타낸 용매 조건은 A 용액으로 2% 초산함유-45% 아세트나이트릴을, B 용액으로 2% 초산함유-증류수를 선형 농도구배법으로 사용하는 것이 가장 우수한 분리능을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 2).

Table 1. The kinds of HPLC column for establishment of rutin analysis conditions.

No.	Column	Diameter (mm)	Length (mm)	Particle size (μm)
1	Shiseido Capcell pak C18	4.6	250	5
2	Shiseido Capcell pak C18	4.6	150	5
3	Tosoh ODS 120T	4.6	250	5
4	Tosoh ODS 120T	4.6	150	5
5	Waters Nova-Pak C18	3.9	300	4
6	Waters Nova-Pak C18	3.9	150	4
7	YMC-Pak ODS-AM 303	4.6	250	5
8	Hamilton PRP-1	4.1	150	5
9	Zorbax Eclipse XDB-C18	4.6	150	3.5
10	Waters μ-Bondapak C18	3.9	300	10
11	Zorbax Eclipse XDB-C8	4.6	150	5

Table 2. The condition of mobile phase for rutin analysis.

Time (min.)	Mobile phase concentration ¹⁾
0	50% A
18	100% A
20	50% A
22	50% A

¹⁾ A : 2% acetic acid - 45% acetonitrile B : 2% acetic acid - water

메밀 식물체 함유 rutin의 최적 추출조건 확립을 위해 검토된 저온(5°C), 상온(25°C) 및 초음파(50°C) 추출법은 시료 1g에 에탄올 20 mL를 첨가하여 추출시간별로 추출하였고, 환류추출법(80°C)은 시료 5g에 에탄올 100 mL를 첨가하여 추출시간별로 rutin을 추출하고, 추출양상을 HPLC로 분석하여 최적 추출조건을 확립하였다.

HPLC를 이용하여 rutin을 분석할 때 분석 가능한 최소검출량을 확인하기 위해 rutin 표준품을 농도별로(2 ng-2,000 ng/mL) 조제하여 HPLC 분석을 수행하였다. 최소검출량을 확인하기 위한 HPLC 분석조건은 확립된 최적의 HPLC 분석조건과 동일한 조건이었으며 단지 검출기의 signal 대비 noise 비율(S/N ratio)이 3이 되는 조건에서 농도별 rutin 표준품을 분석하고, 검출되는 rutin 표준품의 peak 양상을 확인하여 최소 검출량을 설정하였다.

결과 및 고찰

rutin의 흡광특성

분현상 rutin은 알콜에 높은 용해도를 나타낸다고 보고 되므로(Maeng *et al.*, 1990) 구입 rutin 표준품을 1,000 ppm의 농도로 에탄올에 용해하였다. 1,000 ppm 농도의 rutin 에탄올 표준용액은 아주 옅은 미황색의 색상을 나타내었고, 다시 25 ppm 수준으로 희석하여 300-900 nm의 파장범위에서 최대 흡수파장을 측정한 결과 359 nm에서 흡수 극대파장을 나타내었

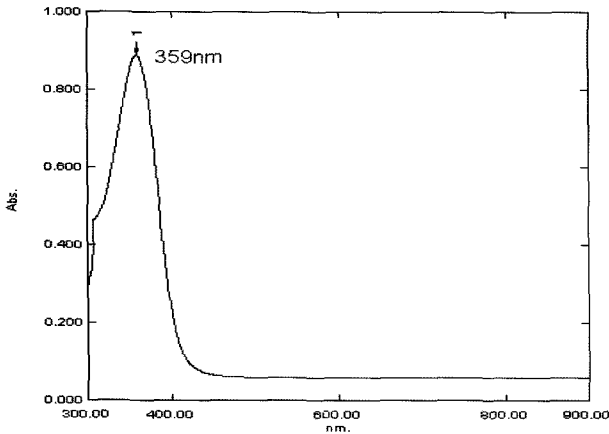


Fig. 1. UV-Vis. spectrum of rutin (25 ppm in EtOH).

고(Fig. 1), 이 결과는 Deng 등(1998)의 결과와 일치하는 양상을 나타내었다.

현재 식품공전(2002)에 수재되어 있는 rutin의 정량분석법은 에탄올 추출물을 375 nm에서 흡광도를 측정하여 색가를 계산하는 분광광도법이 적용되고 있다. 그러나 보통 식물체는 광합성과 관련된 다양한 종류의 카로티노이드 성분이 함유되어 있고, 기타 미황색 혹은 황색을 나타내는 다양한 성분이 함유되어 있으므로 이들 성분들은 모두 350-430 nm 영역에서도 상당히 높은 흡광력을 나타내기 때문에 spectrophotometer를 이용한 단순 색가 분석만을 통하여 rutin의 함량 평가를 수행하는 것은 바람직하지 못한 것으로 판단된다.

메밀 식물체 함유 rutin의 최적 HPLC 분석 조건 검토

메밀 식물체에 함유된 rutin의 최적 HPLC 분석 조건을 확립하기 위해 HPLC 분석에 많이 이용되는 11종의 컬럼(Table 1)과 다양한 용매조건에서 rutin의 분리양상을 검토하였다. rutin의 표준품을 대상으로 한 HPLC 분석 시 이동상으로는 40% 수준의 메탄올 혹은 25% 수준의 아세트나이트릴을 사용할 경우 여러 종류의 컬럼에서도 rutin의 분리가 양호한 양상을 나타내었다(Fig 2). 그러나 실제 분석의 대상이 되는 식물체에는 rutin의 표준품과 같이 단일 물질만이 존재하는 것이

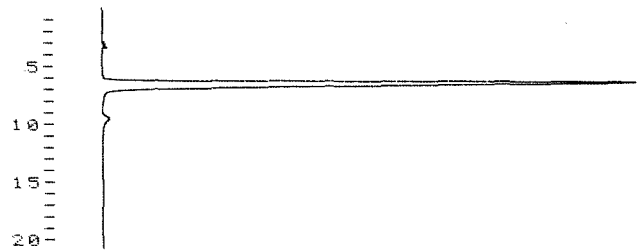


Fig. 2. HPLC chromatogram of rutin standard.

아니고 다양한 성분 및 매트릭스가 공존함으로써 실제 rutin의 표준품을 대상으로 한 분석조건의 설정은 의미가 없는 것으로 판단된다.

메밀 식물체(줄기 및 잎)는 종실과 달리 식물체가 성장하는 동안 다양한 물질의 합성이 이루어지는 부분이며, 경우에 따라서는 특정물질의 합성을 위한 전구물질도 다양하게 존재하므로 단순히 최종 대사산물만이 추적되는 종실과는 달리 내용 성분 면에서 판이하게 다른 양상을 나타낸다고 볼 수 있다. 실제 메밀 식물체 추출물을 HPLC로 분석하였을 때 종실 추출물과 비교해 상당히 복잡한 크로마토그램을 나타내는 것을 확인할 수 있다(Fig 3).

따라서 이런 양상을 고려하여 메밀 식물체 함유 rutin 분석에 적합한 HPLC 이동상의 조건을 검토한 결과 유기용매로 메탄올을 사용할 경우 어떤 농도에서도 메밀 식물체에 함유된 rutin의 peak를 순수하게 분리하지 못하였다. 그러나 유기용매로 25% 수준 이상의 아세트나이트릴을 사용할 경우 메밀 식물체에 함유된 rutin의 분리가 양호하였고, 더욱이 시간별로 아세트나이트릴의 농도를 증가시키는 농도구배 조건을 이용하면 rutin의 비당체로서 극성이 낮은 quercetin도 동시 분석이 가능한 것으로 조사되었다. 따라서 rutin과 quercetin을 동시에 분석할 수 있는 다양한 농도구배 조건을 검토한 결과 이동상으로 A용매를 2% 초산함유-45% 아세트나이트릴로, B용매는 2% 초산함유-증류수로 하여 농도구배조건을 0분 : 50% A용액, 0-18분 : 100% A용액, 18-20분 : 50% A용액, 20-22분 : 50% A용액으로 하였을 때 가장 분리가 우수한 가능한 이동상의 조성을 확인할 수 있었다.

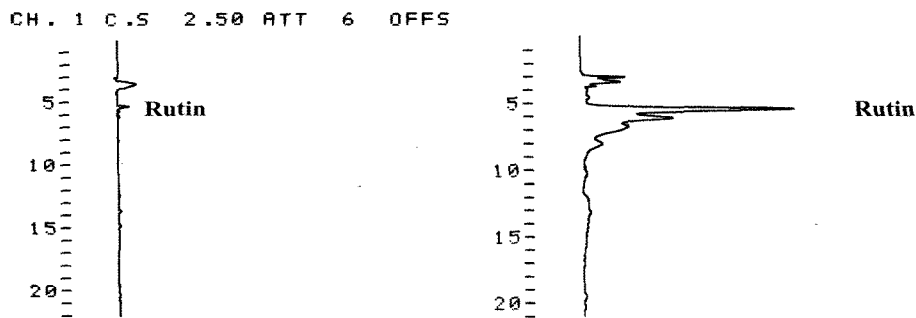


Fig. 3. HPLC chromatograms of rutin in buckwheat seed (left) and plant (right) extract.

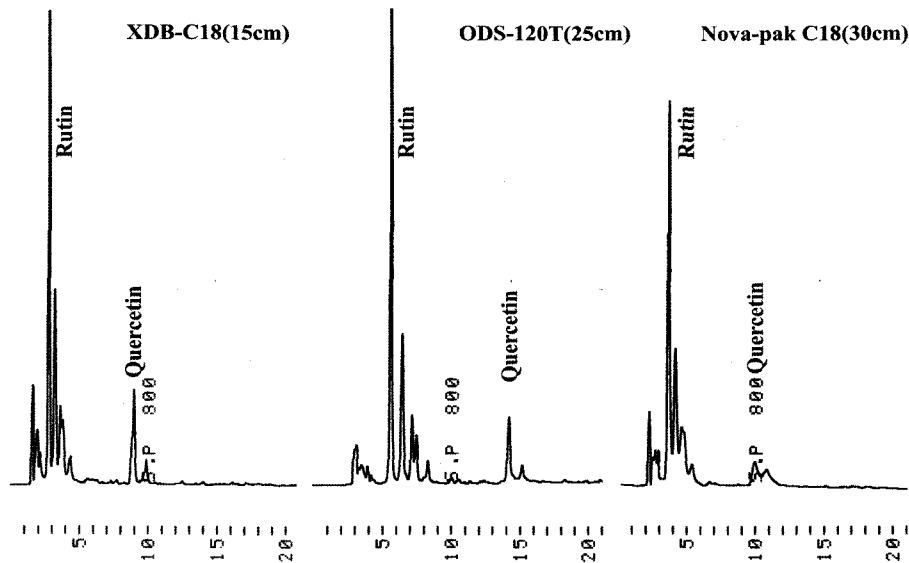


Fig. 4. HPLC chromatograms of rutin and quercetin with different column lengths in buckwheat plants extract.

또한 확립된 최적의 이동상 조건에서 다양한 종류의 컬럼을 적용하였을 때 가장 분리능이 뛰어난 컬럼을 선정하기 위해 11종의 C18 및 C8 컬럼을 대상으로 분석을 실시하였다. 그 결과 150 및 300 mm 컬럼들은 대부분 rutin peak의 baseline 분리가 이루어지지 않는 양상을 나타내었으나, 250 mm의 컬럼들은 전반적으로 양호한 rutin의 baseline 분리가 이루어지며, 특히 Tosoh ODS 120T 컬럼은 rutin과 quercetin peak가 각각 5분 및 14분대에 완벽한 baseline 분리를 유도함으로 15분 안에 메밀 식물체 함유 rutin 및 quercetin 분석을 수행할 수 있는 가장 적합한 컬럼으로 조사되었다.

최적 HPLC 분석 조건의 재현성 검증

Tosoh ODS 120T 컬럼을 이용하고 이동상으로 A용매를 2% 초산함유-45% 아세트나이트릴로, B용매를 2% 초산함유-중류수를 사용한 농도구배조건이 메밀 식물체 함유 rutin 분석의 최적 HPLC 분석조건으로 확인되었으며, 이 조건에서 동일 시료를 10번 계속 반복하여 분석하였을 때 여러 종류의 HPLC 분석요인에 대한 재현성을 검증하였다(Table 3). 그 결과 rutin의 머무름시간(Rt.), peak 면적 및 peak 높이의 변이 계수를 조사한 결과 모두 0.6% 미만을 나타내어 극히 높은 분석 재현성을 나타내는 것으로 조사되었으므로 상기조건에 의해 확립된 rutin의 최적 분석법은 재현성이 매우 높은 정량적 분석법으로 이용 가능함을 확인할 수 있었다.

Rutin의 HPLC 분석 시 최소검출한계 분석

확립된 rutin의 최적 HPLC 분석 조건 즉 Tosoh ODS 120T(4.6×250 mm, 5 μm)컬럼을 사용하고, 이동상으로 A용매는 2% 초산함유-45% 아세트나이트릴, B용매는 2% 초산함유-중류수의 농도구배를 이용하며, 유속 1 mL, 시료 주입량 20

μL, 온도는 25°C, 분석파장을 355 nm로 조절한 자외-가시검출기를 이용하였을 때 S/N ratio가 3이 되는 조건에서 농도별 rutin 표준품을 분석 하였을 때 분석 가능한 최소검출한계를 설정하기 위해 rutin을 농도별(2 ng-2,000 ng/mL)로 조제하여 HPLC를 이용한 최소검출량을 조사하였다(Fig. 5). Rutin의 농도가 0.01 ppm(10 ng/mL)에서는 peak가 검출되지 않았지만 0.02 ppm(20 ng/mL)의 농도에서는 peak가 정확하게 검출되므로 결국 rutin의 HPLC 분석 시 최소검출한계는 20 ng/mL 수준인 것으로 조사되었다(Fig. 4).

메밀 식물체 함유 rutin의 최적 추출조건 검토

Rutin은 피리딘, 물 및 알콜에 잘 녹는 특징을 가지는 물질

Table 3. The reproduction test of optimum HPLC condition (n = 10)

Repetition	Parameter		
	Retention time (min)	Peak area	Peak height
1	5.18	347.6	87.0
2	5.14	340.5	86.0
3	5.15	343.7	87.0
4	5.14	343.7	87.0
5	5.14	342.2	86.5
6	5.12	344.1	87.2
7	5.12	344.8	86.8
8	5.12	346.2	86.8
9	5.13	345.0	86.5
10	5.18	347.1	88.0
Mean	5.14	344.5	86.9
SD	0.02	2.16	0.52
CV(%)	0.44	0.63	0.60

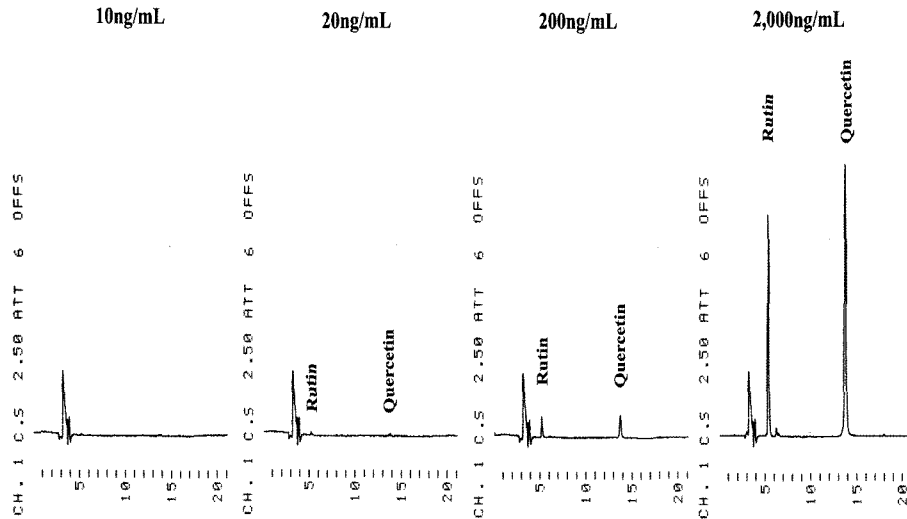


Fig. 5. The limit of detection (LOD) for rutin in HPLC.

이며, 전형적인 추출법으로서 알콜을 이용한 환류추출법이 여러 연구자들에 의해 이용되어 왔다(맹 등, 1990). 메밀 식물체로부터 rutin을 추출할 수 있는 최적의 추출방법을 설정하기 위해 추출방법을 저온(5°C), 상온(25°C), 초음파(50°C) 및 환류추출(80°C)로 달리하고, 각 추출방법별로 추출시간을 달리하였을 때 rutin의 추출양상을 HPLC 분석을 통하여 정량적으로 검토하였다.

5°C 저온조건에서 rutin의 추출효율을 검토하기 위해 메밀 식물체 1g에 에탄올 20 ml를 첨가하고 5°C 조건에서 1-24시간 동안 방치하여 rutin을 추출하였고 여과 후 HPLC로 rutin peak의 면적 값을 계산하였다. 추출시간에 따른 rutin 함량은 Fig. 6에 나타난 표준검량식을 기준으로 계산하였으며, 표준검량식은 0-2,000 ng/20 µl의 농도범위에서 선형의 회귀직선이 만들어지고, 상관계수는 0.999 이상을 나타내었다.

5°C 저온추출 결과 추출시간이 길어질수록 추출되는 rutin의 함량이 증가하는 양상을 나타내어 24시간 추출이 167 µg/g으로 함량 면에서 통계적으로 가장 높은 추출율을 나타내었다

(Table 4). 또한 25°C 상온추출도 5°C 저온추출의 결과와 동일한 양상으로 추출시간이 길어질수록 추출되는 rutin의 함량이 증가하는 양상을 나타내었으며 24시간 추출이 278 µg/g으로 함량 면에서 가장 높은 추출양을 나타내었다.

한편 25°C 상온추출과 동일시간대의 5°C 저온추출의 결과를 비교해 보면 동일시간대에서는 25°C 상온추출이 항상 높은 추출율을 나타내며, 특히 24시간 추출에서는 상온추출이 저온추출에 비해 무려 112 µg/g 높은 양상을 나타내는 것으로 보아 rutin 성분은 상온조건까지는 추출온도가 높아질수록 추출효율이 향상되는 것으로 평가되고 또 추출시간이 길어질수록 추출율이 향상되는 것을 확인할 수 있었다.

한편 50°C 조건의 초음파 bath를 이용하여 10분-180분 동안 초음파 추출을 하였을 때 추출된 rutin의 함량을 검토하였다(Table 5). 50°C 조건의 초음파 추출도 기타 상온 및 저온 조건의 추출법과 같은 양상으로 추출시간이 증가할수록 rutin 함량이 증가하는 양상을 나타내었으며, 180분 추출이 635 µg/g으로 가장 높은 추출효율을 나타내었다.

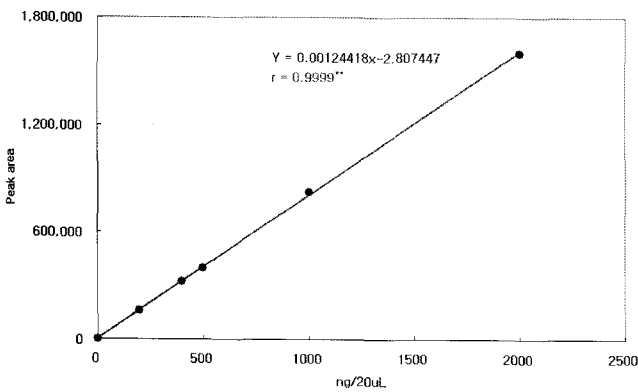


Fig. 6. Standard calibration curve of rutin in HPLC.

Table 4. Comparison on the extraction efficiency at low temperature (5°C) and room temperature (25°C) with different extraction times.

Extraction time	Rutin content (µg/g)	
	5°C low temp.	25°C room temp.
1 h.	60.3 f ¹⁾	96.0 e
3 h.	91.7 e	105.2 e
6 h.	114.0 d	206.9 d
9 h.	137.6 c	224.4 c
12 h.	156.4 b	237.8 b
24 h.	166.7 a	278.0 a

¹⁾ Same letters in a column are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Table 5. Comparison on the extraction efficiency at ultrasonic and reflux extraction with different extraction times.

Extraction time	Rutin content($\mu\text{g/g}$)	
	Ultrasonic extraction (50°C)	Reflux extraction (80°C)
10 min.	227.2 F ¹⁾	453.1 D
30 min.	429.0 E	642.0 C
60 min.	487.2 D	752.4 B
90 min.	531.6 C	-
120 min.	582.6 B	809.8 A
180 min.	634.8 A	801.1 A

¹⁾ Same letters in a column are not significantly different at the 5% level by DMRT.

또한 문헌상 rutin의 전형적인 추출방법으로 알려진 80°C 환류추출 조건에서 추출시간을 10분-180분 동안 달리하였을 때 rutin의 추출양상을 검토하였다(Table 5). 80°C 환류조건으로 추출할 경우 환류시간이 10분-120분까지는 추출시간이 증가할수록 추출된 rutin 함량이 증가되는 양상을 나타내었으나(453 μg -810 $\mu\text{g/g}$), 180분 추출의 경우 801 $\mu\text{g/g}$ 으로 오히려 120분 추출보다 함량이 감소된 양상을 나타내지만 통계적 차이는 인정되지 않았다. 따라서 80°C 환류추출 시 적정 추출시간은 120분이 바람직한 것으로 조사되었다. 한편 80°C 조건에서 환류추출 방법으로 추출할 경우 10분만 추출하여도 25°C 상온 및 5°C 저온에서 24시간 동안 추출한 함량보다 높은 rutin 함량을 나타내므로 환류추출법이 rutin의 추출에 상당히 높은 효율을 나타내는 최적 추출방법임을 알 수 있다.

적 요

종실에 비해 다량의 rutin이 함유된 것으로 알려진 메밀 식물체의 최적 rutin 함량 분석조건을 확립하기 위해 추출조건, HPLC 분석조건, 분석 재현성 및 최소검출한계를 검토한 결과 rutin은 미황색을 나타내는 폴리페놀 성분으로 에탄올에 용해하여 최대 흡수파장을 측정하였을 때 359 nm에서 흡수 극대 파장을 나타내었다. 메밀 식물체 함유 rutin의 최적 HPLC 분석 조건을 검토한 결과 컬럼은 Tosoh ODS 120T를 이용하고,

검출기 파장을 355 nm, 이동상으로 A용매를 2% 초산함유-45% 아세트나이트릴로, B용매는 2% 초산함유-증류수로 하여 농도구배조건을 0분 : 50% A용액, 0-18분 : 100% A용액, 18-20분 : 50% A용액, 20-22분 : 50% A용액으로 조절하고, 분당 1 mL를 용출 하였을 때 가장 우수한 분리가 유도되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 HPLC 분석요인에 대한 재현성을 검정한 결과 머무름시간, peak 면적 및 peak 높이의 변이 계수가 모두 0.6% 미만을 나타내어 극히 높은 분석 재현성을 나타내는 것으로 조사되었으며, HPLC 분석 시 최소검출한계는 20 ng/mL 수준이었다. 메밀 식물체 함유 rutin 분석을 위한 최적 추출조건을 검토한 결과 추출용매를 에탄올로 사용하고, 80°C 조건에서 120분 이상의 환류추출을 시행하는 것이 가장 바람직한 추출방법으로 조사되었다.

인용문헌

- Couch, J. F., I. J. Naghski, and C. F. Krewson. 1946. Buckwheat as a source of rutin. *Science* 103 : 197-198.
- Deng, W., Y. He, X. Fang, and J. Wu. 1998. Radiolysis of rutin in aerated ethanolic solution. *Radiation Physics and Chemistry* 53 : 629-633.
- Kim, B. N., H. K. Park, T. B. Kwon, and Y. S. Maeng. 1991. Analysis of rutin contents in buckwheat noodles. *Korean J. Soc. Food Sci.* 7(1) : 61-66.
- Kim, J. S., Y. J. Park, M. H. Yang, and J. W. Shim. 1994. Variation of rutin content in seed and plant of buckwheat germplasms(*Fagopyrum esculentum* Moench) *Korean J. Breed.* 26(4) : 384-388.
- Kim, Y. S., S. H. Chung, H. J. Suh, S. T. Chung, and J. S. Cho. 1994. Rutin and mineral contents on improved kinds of Korean Buckwheat at growing stage. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26(6) : 759-763.
- Maeng, Y. S., H. K. Park, and T. B. Kwon. 1990. Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat food. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22(7) : 732-737.
- Marshall, H. C., and Y. Proneranz. 1982. Buckwheat, Description, breeding, production and utilization. *Adv. Cereal Sci. Technol.* 5 : 127-131.
- Nina F., J. Rode, I. J. Kosir, Z. Wang, Z. Zhang, and I. Kreft. 2003. Tartary Buckwheat(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. *J. Agric. Food Chem.* 51 : 6452-6455
- 식품의약품안전청. 2002. 식품첨가물공전(II).