



피카오프레토 등 복합물 중 총 폴리페놀 분석법 표준화

허수정* · 김지안 · 문명희 · 이성혜 · 윤혜성 · 홍진환

식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구팀

Standardization for Analysis Method of Total Polyphenol in Complex of Picao Preto

Soojung Hu*, Ji-An Kim, Myung-Hee Moon, Sung-Hye Lee, Hae-Seong Yoon, and Jin-Hwan Hong
Nutrition and Functional Food Research Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of
Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Korea

(Received October 16, 2017/Revised November 9, 2017/Accepted January 30, 2018)

ABSTRACT - As generic health functional food items have been expanded, this research project has been conducted to prepare a scientific and systematic standardized analytical method of relevant food item and examine the suitability of the method for health/functional foods on sale. Total polyphenol was necessary for development and verification of standardized analytical method. The method exhibited high linearity in the tannic acid calibration curve ($r^2 > 0.999$) over concentrations of 5-50 $\mu\text{g/mL}$. The limits of detection and quantitation for tannic acid were 5 $\mu\text{g/mL}$ and 15 $\mu\text{g/mL}$, respectively, while tannic acid recovery was 102.3-112.4% with standard deviations of 0.8-3.2%. To verify the accuracy of the analytical method, the labeled amounts of purchased health functional foods were monitored. The recovery for tannic acid was 105.6% of the labeled amounts. Thus, the new method was suitable for all cases.

Key words : Health/Functional food, Total polyphenol, Tannic acid, Analytical method

폴리페놀은 분자 내에 다수의 수산화기가 있는 페놀을 지칭한다. 폴리페놀은 페놀 링 구조의 수에 따라 분류되며, 대표적으로 플라보노이드와 비 플라보노이드로 나눌 수 있다^{1,2)}. 플라보노이드는 폴리페놀 중 가장 많은 부분을 차지하고 있으며 플라보놀, 카테킨, 안토시아닌, 이소플라본 등이 속해있으며 비 플라보노이드는 페놀산, 스틸베노이드, 리그난 등이 포함되어 있다^{3,4)}(Fig. 1). 폴리페놀은 각종 베리, 차, 커피, 와인 등에 포함되어 있다고 알려져 있으며 이렇게 식품 속에 포함된 식이 폴리페놀은 항산화, 항염증 및 항암작용을 가진다는 다수의 연구가 보고되고 있다⁵⁻⁷⁾. 총 폴리페놀 측정 시 사용되는 대표 표준물질로는 탄닌산, 카테킨, 갈릭산 등이 있으며 탄닌산의 경우 갈릭산의 중합체로 갈로탄닌이라고도 불린다. 이들

표준물질은 다른 표준물질에 비해 상대적으로 저렴하고 건조 형태로 안정하여 단일 표준물질로 사용하기 용이하다는 점에서 많이 사용되고 있다. 총 폴리페놀(표준물질: 탄닌산)을 지표성분으로 하여 현행 건강기능식품공전에 등재되어 있는 원료(고시형 원료)는 구아바잎 추출물(Extract of *Psidium Guajava* leaves)이다. 구아바 잎에는 식물성 항산화 물질인 폴리페놀이 다량 함유되어 우수한 생리활성을 보유한 것으로 보고되면서⁸⁾, 이에 대한 관심이 높아지고 있다. 구아바 잎의 탄닌성분은 세포의 신진대사를 활발하게 하여 췌장기능을 개선시켜 인슐린 기능향상 및 당뇨병에 효과가 있는 것으로 연구되고 있다⁹⁾. 이에 구아바 잎 추출물은 “식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음.”의 기능성을 인정받았으며, 안전성과 기능성을 확보할 수 있는 일일 섭취량은 총 폴리페놀로서 120 mg이다. 「건강기능식품에 관한 법률」 제3조 제1호에 따라 건강기능식품이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조(가공을 포함한다. 이하와 같다)한 식품을 말한다. 또한, 동법 제14조제1항 및 제15조1항에 따라 고시형 원료와 제14조제2항 및 제15조2항에 따라 영업자가 개별적으로 신청하는 개별인정형 원료로 나누어진다¹⁰⁾. 개별인

*Correspondence to: Soojung Hu, Nutrition and Functional Food Research Team, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, #187 Osongsaengmyeong 2ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28159, Korea
Tel: 82-43-719-4403, Fax: 82-43-719-4400
E-mail: sjhu01@korea.kr

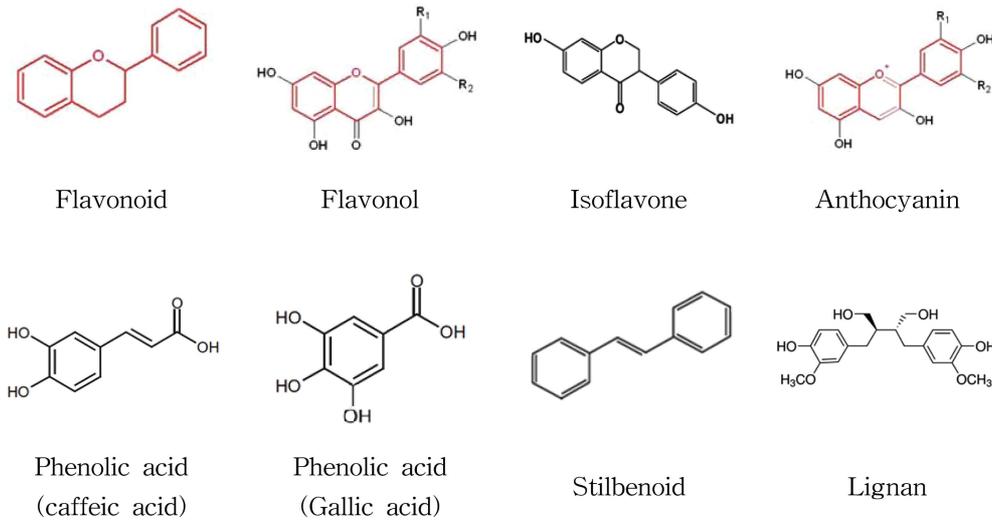


Fig. 1. Chemical structures of flavonoids and their related compounds.

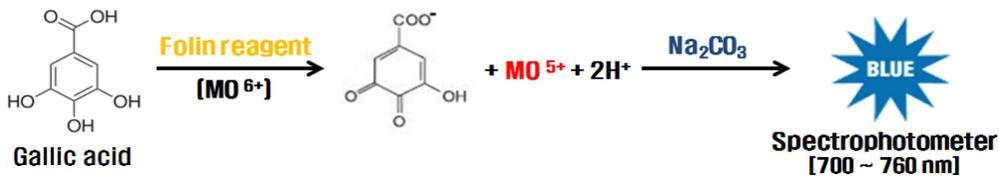


Fig. 2. Folin-phenol method for determination of gallic acid by UV spectrophotometer.

정형 원료를 고시화하여 건강기능식품공전에 등재하기 전에 원료 중심의 시험법에 대한 표준화가 필요하며 여러 가지 부형제 등을 사용하여 제조된 제품에 대한 적용성 검토도 요구된다. 이와 같은 개별인정형 원료 중 피카오프레토 등 복합물(Complex of picao preto)은 총 폴리페놀을 지표성분으로 하고 있으며 건강기능식품공전을 비롯하여 개별인정형으로 인정받은 시험법의 경우, Folin-phenol 시약을 이용하여 총 폴리페놀을 분석하는 방법으로 본 연구에서는 건강기능식품공전에 등재된 구아바잎 추출물의 총 폴리페놀 시험법과 개별인정형인 피카오프레토 등 복합물(Complex of picao preto)의 총 폴리페놀 시험법을 비교 분석하여 피카오프레토 등 복합물에 적용 가능한 표준화된 총 폴리페놀 시험법을 확립하고 밸리데이션 및 유통 제품에 대한 적용성을 검토하고자 한다.

Materials and Methods

표준품 및 시약

탄닌산(Tannic acid) 표준품, 폴리페놀 시약(Folin-Ciocalteu's and Folin-Denis reagents), 탄산나트륨은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

구아바잎 추출물의 분석

시료 100 mg을 증류수 100 mL에 용해하여 30분간 초음파 추출하고 추출한 시험용액은 필요시 증류수로 적절히 희석하여 사용하였다. 시험관에 증류수 7.5 mL, 시험용액 1 mL, Folin-Denis 0.5 mL, 35% 탄산나트륨 용액 1 mL를 순서대로 넣고 혼합하고 암소에서 1시간 방치한 후 자외분광광도계(UV/Visible Spectrophotometer, Varian, USA) 760 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

피카오프레토 등 복합물의 분석

시료 0.4 g을 100 mL 부피플라스크에 취하고 70% 메탄올 60 mL를 첨가하여 15분간 초음파 추출한 후 70% 메탄올로 정용하고 GFA 여과지로 여과하여 시험용액으로 하였다. 20 mL 부피플라스크에 시험용액 1 mL, Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL, 증류수 15 mL를 순서대로 넣어 혼합하고 상온에서 10분간 방치한 후 35% 탄산나트륨 용액으로 정용한다. 40°C 수욕상에서 20분간 반응시키고 상온에서 냉각한 후 자외분광광도계 760 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

시험법 표준화

총 폴리페놀 측정 시험법의 대표적인 방법은 Folin-Denis

(or Ciocalteu) 시험법이며 페놀성 물질의 일반적인 산화-환원 성질을 이용(Fig. 2)하여 흡광도를 측정하는 방법으로, 탄닌산을 표준물질로 전처리 조건 등을 변화시켜 최적의 표준화된 시험법을 확립하고자 하였다. 첫 번째, Folin-Phenol 시약 선정을 위해 Folin-Denis 시험법과 Folin-Ciocalteu 시험법을 비교 실험하였으며 두 번째로, 발색시약인 35% 탄산나트륨 첨가 후의 반응시간 및 온도를 비교 실험하였다. 그리고 세 번째는, 시료량 설정을 위해 탄닌산으로서 2~50 mg에 대한 비교 실험을 하였다.

비타민 C 함량 측정

「건강기능식품의 기준 및 규격」 제 4. 건강기능식품 시험법 3. 개별성분별 시험법 3-14 비타민 C 3-14-2 비타민 C(제2법)에 따라 측정하였다.

밸리데이션 및 적용성 검토

표준화된 시험법에 대한 특이성(specificity), 정확도(accuracy), 정밀도(precision), 직선성(linearity), 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) 등의 밸리데이션을 수행하였다. 특이성은 탄닌산 표준용액과 피카오프레토 등 복합물 원료에서의 PDA 스펙트럼으로 확인하였으며, 정확도는 건강기능식품에서 대상 Blank 시료가 없고 피카오프레토 등 복합물 제품은 유통제품이 없기 때문에 구아바잎 추출물 제품에 각기 다른 농도의 탄닌산을 첨가하여 첨가하기 전과 첨가한 후의 값을 분석하여 회수율(Recovery)을 측정하였다. 즉, 일정량의 구아바잎 추출물 제품을 취하고 탄닌산의 농도가 7.2 mg/g, 14.4 mg/g, 21.6 mg/g이 되도록 첨가하였다. 정밀도에서 반복성 확인을 위해 탄닌산으로 2.5 mg, 5.0 mg, 10.0 mg에 해당하는 구아바잎 추출물 제품을 취하여 5회 반복 측정하였으며 재현성 확인은 구아바잎 추출물 제품을 반복 교차 검증하여 측정하였다. 또한, 직선성은 제품에서 탄닌산이 검출되는 농도범위를 중간값으로 설정하여 총 6개의 농도 5, 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL에 대한 직선성을 검토하였고, 검출한계 및 정량한계는 표준용액을 3회 분석한 검량선의 기울기와 y절편을 이용하여 검량선 y절편의 표준편차에 3을 곱하고 기울기 평균으로 나눈 값을 검출한계(LOD)로 하였으며 y절편의 표준편차에 10을 곱하고 기울기 평균으로 나눈 값을 정량한계(LOQ)로 하였다. 원료에 대해 확립된 표준화된 시험법의 적용성 검토를 위해 국내 유통되고 있는 제품을 검색하였다. 제품에 기능성과 함량을 「건강기능식품 표시기준」에 따라 표기하고 단순 부원료로 사용하였거나 그 기능성 및 지표성분의 함량을 표기하지 않은 제품을 대상에서 제외하였으며 그 결과, 유통되고 있는 대상 제품은 구아바잎 추출물 제품 1건 뿐이었다. 이에 피카오프레토 등 복합물의 유통 제품이 없어 매질별 적용성 검토를 확인하고자, 주원료인 피카오프레토 등 복합물에 단백질(대두분리단백),

당류(유당), 지방(대두유)를 각각 1:1로 혼합한 매질별 표준시료를 제조하여 표준화된 시험법에 대해 적용성 검토를 수행하였다.

Results and Discussion

시험법 표준화

건강기능식품공전에 등재된 고시형 원료인 구아바잎 추출물의 총 폴리페놀 시험법은 Folin-Phenol 시약으로 Folin-Denis를 사용하고 있으며, 본 연구에서 표준화 시험법을 확립하고자 하는 개별인정형 원료인 피카오프레토 등 복합물에서는 Folin-Ciocalteu를 사용하고 있다. 일반적으로 총 폴리페놀 분석 시 사용하는 Folin-Phenol 시약은 Folin-Denis와 Folin-Ciocalteu 두 종류의 시약을 사용하고 Folin-Ciocalteu의 경우는 0.2N, 1N을 주로 사용하고 있었고^{5,11)} 피카오프레토 등 복합물의 개별 인정시험법에서는 Folin-Ciocalteu의 농도가 언급되어 있지 않았다. 이에 피카오프레토 등 복합물 원료를 이용하여 Folin-Phenol 시약을 비교 실험하였으며 Folin-phenol 시약 간 회수율을 확인한 결과, Folin-Denis와 Folin-Ciocalteu 1N에서 85.5~96.2%로 Folin-Ciocalteu 0.2N보다 높은 회수율을 보였다(Table 1).

국내의 문헌 등^{1,5,6,12)}에서는 35% 탄산나트륨을 첨가한 후의 반응시간을 30~60분까지 다양하게 제시하였다. 따라서 Folin-Phenol 시약 선정 결과에서 높은 회수율을 보인 Folin-Denis와 Folin-Ciocalteu 1N을 선택하여 피카오프레토 등 복합물 원료에 첨가한 후 35% 탄산나트륨을 첨가하여 20분, 30분, 40분, 60분의 반응시간에 대한 회수율을 비교하였다. 35% 탄산나트륨 처리 시간에 따른 회수율을 비교한 결과, 두 시약 모두 30분에서 Folin-Denis는 97.3% 및 Folin-Ciocalteu 1N은 100.6%로 가장 높은 회수율을 보였다(Table 2). 또한, 35% 탄산나트륨 반응 온도에 대하여 상온 방치와 수욕상 45°C 반응을 가장 많이 제시하고 있어^{6,11)} Folin-Denis와 Folin-Ciocalteu 1N을 선택하여 피카오프레토 등 복합물 원료에 첨가한 후 35% 탄산나트륨을 첨가하여 상온과 수욕상 45°C에서 각각 30분 반응시킨 후 회수율을 비교하였다. 35% 탄산나트륨 반응온도에 따른

Table 1. Comparison of recoveries according to Folin-phenol reagent

Folin-phenol reagent	Reaction time (min)	Mean ± SD Recovery (%)	RSD (%)	
Folin-Denis	30	92.5 ± 2.47	2.67	
	60	85.5 ± 9.82	11.49	
Folin-Ciocalteu	0.2N	30	88.7 ± 6.59	7.43
		60	79.9 ± 13.79	17.26
	1N	30	96.2 ± 3.98	4.14
		60	94.1 ± 4.31	4.58

Table 2. Recovery of tannic acid according to variation of reaction time and temperature

Folin-phenol reagent	Folin-Denis			Folin-Ciocalteu		
	Time (min)	Mean \pm SD Recovery (%)	RSD (%)	Time (min)	Mean \pm SD Recovery (%)	RSD (%)
Reaction Conditions	20	92.3 \pm 3.88	4.21	20	91.7 \pm 10.62	11.57
	30	97.3 \pm 1.44	1.48	30	100.6 \pm 3.34	3.32
	40	93.9 \pm 3.92	4.17	40	92.4 \pm 0.82	0.88
	60	92.8 \pm 2.92	3.14	60	89.1 \pm 8.41	9.44
	Temperature ($^{\circ}$ C)	Mean \pm SD Recovery (%)	RSD (%)	Temperature ($^{\circ}$ C)	Mean \pm SD Recovery (%)	RSD (%)
	Room temperature	94.4 \pm 3.87	4.10	Room temperature	94.1 \pm 5.93	6.38
	45 $^{\circ}$ C on water bath	89.8 \pm 9.55	10.64	45 $^{\circ}$ C on water bath	93.4 \pm 5.86	6.27

회수율을 비교한 결과, Folin-Denis는 94.4%, Folin-Ciocalteu 1N은 94.1%로 상온에서 약간 높은 회수율을 보였으며 (Table 2) 실험의 효율성 등을 재고하여 반응온도를 상온으로 설정하였다.

일반적으로 식품 중 유해물질 분석은 검체에서 취하는 양을 시료량으로 측정하지만, 건강기능식품 중 지표성분 분석은 지표성분으로서 시료량을 측정하여야 지표성분 분석에 타당한 실험방법을 확립할 수 있다. 따라서 피카오프레토 등 복합물의 개별 인정시험법에서 제시한 시료량을 총 폴리페놀(탄닌산으로서) 함량으로 환산하여 탄닌산으로 2, 5, 10, 25, 50 mg에 대한 회수율을 비교하였다. 구아바잎 추출물은 10 mg에서 97.5%, 피카오프레토 등 복합물도 10 mg에서 122.3%의 가장 높은 회수율을 보였으며 (Table 3) 그 결과를 근거로 시료량은 탄닌산으로서 10 mg으로 설정하였다.

총 폴리페놀이 지표성분인 피카오프레토 등 복합물의 개별 인정시험법은 건강기능식품 공전에 등재된 구아바잎 추출물의 시험법과 비교하였을 때 사용하는 Folin-Phenol 시약 및 반응시간, 온도 등에 차이가 있었으며, 총 폴리페

놀을 지표성분으로 하는 원료에 적용 가능한 표준화 시험법을 확립하고자 하였다. 표준화된 시험법은 시료를 탄닌산으로서 10 mg을 취하고 증류수 50 mL에 용해하여 30분간 초음파 추출하고 시험관에 증류수 7.5 mL, 시험용액 1 mL, Folin-Denis 0.5 mL, 35% 탄산나트륨 용액 1 mL를 순서대로 넣어 혼합하고 암소에서 30분간 방치한 후 자외분광광도계 760 nm 파장에서 측정하는 방법으로 확립하였다. 건강기능식품의 지표성분(원료 중에 함유되어 있는 화학적으로 규명된 성분 중에서 품질관리를 목적으로 정한 성분) 시험법은 그 취지에 맞도록 지표성분을 기준으로 시료량을 설정하고자 하였으며 이에 따라 확립된 표준화된 총 폴리페놀 시험법에서는 탄닌산을 지표성분으로 시료량을 설정하였다. 또한, 개별 인정시험법에서는 Folin-Phenol 시약으로 Folin-Ciocalteu를 사용하고 있었으며 건강기능식품공전에서 사용하고 있는 Folin-Denis와 비교 실험한 결과 두 시약 모두 양호한 결과를 보였지만, AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 공인시험법에서도 Folin-Phenol 시약으로 Folin-Denis를 사용하고 있고 Folin-Ciocalteu보다 재현성이 높은 Folin-Denis를 Folin-Phenol 시약으로 선정하였다. 총 폴리페놀에 대한 피카오프레토 등 복합물의 개별 인정시험법을 건강기능식품공전의 구아바잎 추출물 시험법과 단계별로 비교 분석한 결과를 반영하여 Folin-Phenol 시약, 반응시간 · 온도, 시료량(지표성분으로서) 등을 표준화 하였다.

밸리데이션 및 적용성

특이성은 탄닌산 표준용액과 피카오프레토 등 복합물 원료 모두 760 nm에서 최대파장과 패턴이 일치함을 확인했으며 정확도를 보기 위한 각각의 농도에서의 회수율은 102.3%, 107.7%, 112.4%로 나타났다 (Table 4). 정밀도 확인을 위한 반복성은 각 농도에서의 상대표준편차가 각각 3.18%, 0.81%, 0.82%이었고 재현성의 상대표준편차는 2.40%이었다 (Table 4). 또한, 직선성은 검량선의 결정계수

Table 3. Comparison of recoveries according to sampling amount

Sample	Contents of tannic acid (mg)	Mean \pm SD Recovery (%)	RSD (%)
Extract of <i>Psidium Guajava</i> leaves	2	94.8 \pm 3.59	7.57
	5	92.8 \pm 5.31	11.44
	10	97.5 \pm 2.65	5.43
	25	94.0 \pm 3.66	7.79
	50	82.4 \pm 1.81	4.40
Complex of picao preto	2	117.3 \pm 2.89	5.14
	5	115.1 \pm 2.51	4.54
	10	122.3 \pm 3.79	6.45
	25	118.8 \pm 2.29	4.01
	50	120.2 \pm 5.59	9.68

Table 4. Accuracy, repeatability and reproducibility of total polyphenol obtained by established method

	Treatment	Contents of spiked tannic acid (mg/g)		
		7.2	14.4	21.6
Accuracy	1	7.7	15.6	24.5
	2	6.8	15.3	25.2
	3	7.6	15.3	22.7
	4	7.1	14.6	24.7
	5	7.4	16.5	24.1
	Measured mean (mg/g)	7.3	15.4	24.2
	Recovery mean (%)	102.3	107.7	112.4
	Treatment	Contents of tannic acid (mg/g)		
		2.5	5.0	10.0
Repeatability	1	2.8	5.6	12.2
	2	2.7	5.5	11.9
	3	2.6	5.6	12.1
	4	2.5	5.6	12.0
	5	2.7	5.9	12.2
	Measured mean (mg/g)	2.7	5.6	12.1
	% RSD	3.1	0.8	0.8
	Treatment	Laboratory		
		A	B	
Reproducibility	1	5.69	5.54	
	2	5.59	5.68	
	3	5.62	6.00	
	4	5.66	5.59	
	5	5.59	5.80	
	Measured mean (mg/g)	5.68		
	% RSD	2.40		

(r²)는 0.999이상으로 높은 유의수준을 보였으며 탄닌산의 검출한계는 5 µg/mL, 정량한계는 15 µg/mL이었다.

구매한 건강기능식품에 대하여 표준화된 시험법을 이용하여 지표성분의 함량에 대해 적용성 검토를 수행하였다. 대상 유통 제품에서 고시형 원료인 구아바이 추출물에 대해서 1개 제품만을 구매할 수 있었다. 그 결과 구아바이 추출물 제품의 총 폴리페놀은 표시 함량(기준: 표시량의 80~120%) 대비 105.6%로 적합하였다. 또한, 피카오프레토 등 복합물의 유통제품이 없어 피카오프레토 등 복합물의 원료가 제품화 되었을 경우, 표준화된 시험법의 적용성 검토를 위해 조제한 단백질, 당류, 지방의 표준시료 중 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과 89.1~99.1%로 적합하였다.

비타민 C 보정

Folin-Phenol의 산화-환원 반응은 폴리페놀 뿐 만 아니

라 비타민 C, 단백질 등에도 반응하는 것으로 알려져 있다. 건강기능식품공전 시험법의 총 폴리페놀은 고시형 원료인 구아바이 추출물에 대한 시험법으로, 건강기능식품공전의 비타민 C 시험법으로 측정된 비타민 C의 함량이 약 1% 내외로 매우 낮기 때문에 총 폴리페놀의 함량에 영향을 미치지 않아 비타민 C를 보정하지 않고 측정하는 시험법이다. 이에 반해 피카오프레토 등 복합물 중 비타민 C의 함량은 약 30% 내외로 총 폴리페놀의 함량에 많은 영향을 미치기 때문에, 현 건강기능식품 공전의 총 폴리페놀 시험법을 구아바이 추출물과 피카오프레토 등 복합물에도 적용 가능하도록 비타민 C의 함량을 보정하는 시험법으로 표준화된 시험법을 확립하였다. 이에 회수율을 검토한 결과, 원료와 제품 모두 표준물질 탄닌산과 Folin-Denis로 실험한 결과에서 적합한 회수율을 나타내어 시험법으로 사용가능함을 확인하였다. 이에 따라 확립된 시험방법이 해당 품목의 지표성분의 함량을 확인하기에 적합함을 확인하였으며, 국내 건강기능식품 안전관리 기반을 강화하는데 기여할 것으로 사료된다.

총 폴리페놀의 함량 (탄닌산으로서, mg/g) =

$$\left(C \times \frac{a \times b}{S}\right) - \left(D \times \frac{E}{F}\right)$$

C: 시험용액중의 탄닌산의 농도(mg/mL)

a: 시험용액 전량(mL)

b: 희석배수

S: 시료무게(g)

D: 건기공전 3-14. 비타민 C(제3법)에 따라 측정된 비타민 C 함량(mg/g)

E: 흡광도 범으로 측정된 표준품 비타민 C의 함량(mg/g)

F: 비타민 C의 표시함량(mg/g)

*E/F = 비타민 C 간섭 보정계수

Acknowledgement

본 연구는 2016년 식품의약품안전처 연구개발비(16161 미래식055)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

피카오프레토 등 복합물의 개별인정 시험법인 총 폴리페놀 시험법에서 Folin-phenol 시약 선정, 발색시약인 35% 탄산나트륨의 반응시간 및 온도, 시료량 등을 비교 실험하여 총 폴리페놀에 대한 표준화된 시험법을 확립하였다. 총 폴리페놀의 표준화된 시험법의 밸리데이션을 수행한 결과 회수율은 102.3~112.4%, 정밀도의 표준편차는 0.81~3.18%였으며 검량선의 직선성은 결정계수(r²)가 0.999이상 을 나타냈고 검출한계는 5 µg/mL, 정량한계는 15 µg/mL 이었다. 유통제품에 대해 표준화된 총 폴리페놀 시험법의

적용성 검토를 위해 1건의 검체를 수거하여 분석한 결과, 총 폴리페놀 표시 함량 대비 105.6%로 적합하였다.

References

1. Andressa B., Gisely CL., Joao CP de Mello.: Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense* L, *Molecules*, **18**, 6852-6865 (2013).
2. Bravo L.: Polyphenols: Chemistry, Dietary Source, metabolism, and Nutritional Significance, *Nutrition Reviews*, **56**(11), 317-333 (1998).
3. Claudine M., Augustin S., Chritine M., Christine R., Liliana J.: Polyphenols: food sources and bioavailability, *Am J Clin Nutr*, **79**, 727-747 (2004).
4. Stevenson D.E., Hurst R.D.: Polyphenolic phytochemicals - just antioxidants or much more?, *Cell. Mol. Life Sci*, **64**, 2900-2916 (2007).
5. Mokhtar M., Soukup J., Donato P., Cacciola F., Dugo P., Riaz A., Jandera P., Mondello L.: Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annum* L. extract by liquid chromatography coupled coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity *J. Sep. Sci*, **38**, 171-178 (2015).
6. Adeolu A., Florence J., Anthony A.: Comparison of the nutritive value and biological activities of the acetone, methanol, and water extracts of the leaves of *bidens pilosa* and *chenopodium album*, *Aceta Poloniae Pharmaceutica*, **68**, 83-92 (2011).
7. Hong J.G., Kim H.J., Kim J.Y.: Factors affecting reactivity of various phenolic compounds with the Folin-Ciocalteu reagent, *J Korean Soc Food Sci*, **40**(2), 205-213 (2011).
8. Jaiarj P., Wongkrajang Y., Thongpraditchote S., Peungvicha P., Bunyapraphatsara N., Opartkiattikul N.: Guava leaf extract and topical haemostasis, *Phytother. Res.*, **14**, 388-391 (2000).
9. Deguchi Y., Osada K., Uchida K., Kimura H., Yoshika M., Kudo T., Yasui T., Watanuki M.: Effect of extract of guava leaves on the development of diabetes in the db/db mouse and on the postprandial blood glucose of human subjects. *Nippon Nogeikagaku kaishi*, **71**, 923-931 (1998).
10. MFDS. Law for health functional foods in 2017. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea (2017).
11. Everette J.D., Bryant Q.M., Green M.B., Abbey Y.A., Wangila G.W., Walker R.B.: A thorough study of reactivity of various compound classes towards the folin-ciocalteu reagent, *J Agric Food Chem*, **58**(14), 8139-8144 (2010).
12. Tsumbu C.N., Deby-Dupont G., Tits M., Angenot L., Frederich M., Kohnen S., Mouithys-Mickalad A., Serteyn D., Franck T.: Polyphenol content and nodulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase, *Int. J. Mol. Sci*, **13**, 628-650 (2012).