

상지추출물의 기능성원료 표준화를 위한 지표성분 옥시레스베라트를 분석법 검증

전영희¹ · 최상원^{1,*}

¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

Validation of an analytical method of oxyresveratrol for standardization of Mulberry (*Morus alba* L.) branch extract as a functional ingredient

Young-Hee Jeon¹ and Sang-Won Choi^{1,*}

¹Department of Food Science & Nutrition, Daegu Catholic University

Abstract An HPLC method was developed to quantitate a marker, oxyresveratrol (ORT), for the standardization of mulberry branch extracts (MBE) as a functional ingredient. HPLC was performed on a C₁₈ column with a gradient elution using 0.05% H₃PO₄ and acetonitrile at a flow rate of 0.8 mL/min, and detected at 320 nm. The HPLC method was validated according to Korea Food and Drug Administration (KFDA) guideline of analytical procedures with respect to specificity, linearity, accuracy and precision. Calibration curve of ORT showed high linearity (R²=1), and limits of detection and quantification were 0.3 and 1.0 µg/mL, respectively. Relative standard deviation values from intra-and inter-day precision were less than 3.52 and 4.70%, respectively. Recovery rate ranged from 97.64% to 103.69%, and ORT content in MBE was approximately 3.78%. These results suggest that the HPLC method developed for the analysis of ORT in MBE is simple, efficient, and could contribute to the quality control of MBE.

Keywords: mulberry branch extract, oxyresveratrol, HPLC method, validation

서 론

뽕나무는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 낙엽 교목 또는 관목 식물로서 우리나라를 비롯하여 일본, 중국, 태국 등 아시아 뿐만 아니라 유럽, 미국과 아열대 및 열대지역에서도 널리 재배되고 있다. 전 세계적으로 130여종 품종이 재배되고 있고, 국내에서는 산상계(*Morus bombycis* Koidsz), 백상계(*Morus alba* L.) 및 노상계(*Morus lhouis* Koidsz) 품종이 재배되고 있으며, 거의 대부분은 백상계가 주를 이루고 있다(Song, 2000). 뽕나무는 열매(상심자)에서 잎(상엽), 가지(상지), 및 뿌리껍질(상백피)에 이르기까지 하나도 버릴게 없는 신목으로서 예로부터 한방에서 당뇨, 각기, 부종, 고혈압, 기침과 가래 등의 치료에 널리 이용되어져 왔다(Chan 등, 2016; Lee, 1981). 상지는 동의보감에서 ‘편풍과 함께 모든 풍을 다스리고 소화를 촉진하고 기를 내리며, 입이 마르는 것을 다스린다’라고 적혀 있다. 특히 봄에 잎이 내돋지 않은 때에 베어서 볶아 물에 달여 만든 상지차는 ‘풍습을 없애고 관절을 이롭게 하고 수기로 뼈마디가 쭈시고 저리는 풍한습비, 사지 비틀림, 기침, 중풍에 의해 입이 돌아가는 증상을 치료해 주는 효과도 있

다’고 알려져 있다(Hur, 1994). 최근 상지추출물과 그 주된 생리활성물질인 옥시레스베라트(oxyresveratrol, ORT)은 항당뇨(Guo 등, 2013; Ye 등, 2002), 항고지혈증(Hwang 등, 2015), 항비만(Tan 등, 2017), 항염증(Chung 등, 2003), 항바이러스(Chuanasa 등, 2008), 항산화(Lorenz 등, 2003), 뇌질환과 피부노화 억제작용(Chang 등, 2011; Mouihate 등, 2006)이 우수한 것으로 밝혀짐에 따라 기능성원료로서 크게 각광을 받고 있다. 이와 같이 상지의 우수한 생리활성작용을 근거로 상지를 이용한 건강기능식품 개발인정형 기능성소재와 제품 개발에 앞서 먼저 상지추출물의 표준화 및 규격화를 위한 기능성지표성분의 선정과 더불어 품질관리를 위한 지표성분의 분석이 필요한 실정이다. 최근 본 연구진들은 상지 에탄올추출물과 기능성지표성분인 ORT의 항당뇨 효능을 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 확인한 바가 있으며(Ahn 등, 2017; Park 등, 2016; Park 등, 2017), 특히 ORT 성분은 현재 제 1형 당뇨치료제로 널리 사용되고 있는 메트포민(metformin)과 유사한 항당뇨 효능이 있음을 밝힌 바가 있다. 따라서 상지추출물의 항당뇨 효능의 주역을 담당하는 기능성지표성분 분석법 개발이 필요하며, 설정된 분석법이 재현성이 있고 신뢰성 있는 지에 대한 검증과정인 분석법 확인이 필요하다. 지금까지 국내외에서 상지추출물과 ORT의 생리활성작용에 관한 많은 연구가 보고된 바가 있으나 ORT 함량 분석과 그 분석법의 검증에 관한 연구는 거의 없었다, 최근 본 연구진은 상지로부터 4가지 기능성물질을 분리 및 동정한 바가 있으며, 아울러 뽕나무 품종별, 산지별 그리고 가공처리에 따른 상지추출물의 기능성지표성분 ORT 함량 차이를 보고한 바가 있다(Choi 등, 2013; Choi 등, 2015). 이러한 연구를 바탕으로 보다 간편하고 신속하게 상지추출물의 기능성

*Corresponding author: Sang-Won Choi, Department of Food Science & Nutrition, Daegu Catholic University, Gyeongsan, Gyeongbuk 33820, Korea
Tel: +82-53-850-3525
Fax: +82-53-359-6582
E-mail: swchoi@cu.ac.kr
Received June 18, 2018; revised July 25, 2018;
accepted July 26, 2018

지표성분을 분석할 수 있는 HPLC 방법을 확립하고자 하였다.

본 연구는 상지추출물을 이용한 고부가가치 기능성 제품을 개발하기에 앞서 상지추출물의 건식식 개별인정형 함당노 기능성 원료로 개발하기 위해 HPLC를 이용한 상지추출물의 기능성지표 성분 ORT 분석법 설정과 더불어 확립된 분석법에 대한 확인을 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 뽕나무 가지(상지)는 경상북도 영천시 농가에서 재배된 '청일뽕' 뽕나무로부터 이른 봄 잎이 돌아나기 전 2월에 상지를 채취하여 세절한 후 일주일간 음건한 다음 50°C 열풍건조기(COBP-15S, Shinheung, Seoul, Korea)에서 하룻밤 건조시킨 것을 공시재료로 사용하였다. 상지추출물은 대구가톨릭대학교 해양바이오센터 시제품 공장 파일릿 설비를 이용하여 제조하였으며, 60% 주정수용액으로 2회 반복 환류추출한 후 여과 및 농축하여 조추출물을 얻었다. 다음, 조추출물을 다시 같은 추출액으로 용해한 후 상온에서 하룻밤 방치 후 상층액을 여과 및 최종 농축하여 분말화시켜 -30°C에서 냉동보관한 것을 사용하였다. 이때, 상지추출물은 동일한 제조공정에 따라 3개의 로트를 제조하여 실험재료로 사용하였다.

표준용액의 조제

본 실험에 사용한 ORT (purity 97%) (Fig. 1) 표준품은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, HPLC급 메탄올(MeOH)(Merk, Darmstadt, Germany)에 녹여 사용하였다. ORT를 MeOH에 녹여 1 mg/mL가 되도록 표준원액을 제조한 후 검량곡선 작성을 위해 단계적으로 희석하여 6.25, 12.5, 25, 50 및 100 µg/mL를 조제하였다. ORT의 함량을 구하기 위하여 표준용액의 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 농도별 면적에 대하여 검량곡선을 작성하였다.

HPLC 분석

상지추출물의 ORT 정량분석과 ORT의 확인을 위한 HPLC (Waters e2695 HPLC System, Waters, Millford, MA, USA) 분석은 다음과 같이 실시하였으며, 이때 분석조건은 Table 1과 같다. 즉, 칼럼은 YMC-Pack Pro C₁₈ column (5 µm, 4.6×250 mm, YMC Inc., Allentown, PA, USA), 이동상 용매 A (0.05% H₃PO₄ in H₂O)와 용매 B (acetonitrile)를 기울기 용출하였으며(60 min: 0-4 min (용매 A 90%, 용매 B 10%), 4-12 min (용매 A 85%, 용매 B 15%), 12-25 min (용매 A 80%, 용매 B 20%), 25-34 min (용매 A 60%, 용매 B 40%), 34-42 min (용매 A 40%, 용매 B 60%), 42-50 min (용매 A 20%, 용매 B 80%), 50-60 min (용매 A 90%, 용매 B 10%)), 사용한 검출기는 photodiode array (PDA) 검출기를 사용하여 320 nm에서 측정하였고, 이때 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 10 µL이었다.

시험분석법의 검증

상지추출물의 분석법 확립을 위한 확인은 의약품등 분석법의 확인에 대한 식품의약품안전처의 가이드라인을 참고하여 수행되었다(Food Safety Korea, 2016).

특이성(specificity)은 불순물, 분해물, 배합성분 등의 혼재 상태에서 분석대상물질을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력을 말하는 것으로 표준용액과 전 처리한 상지추출물을 HPLC로

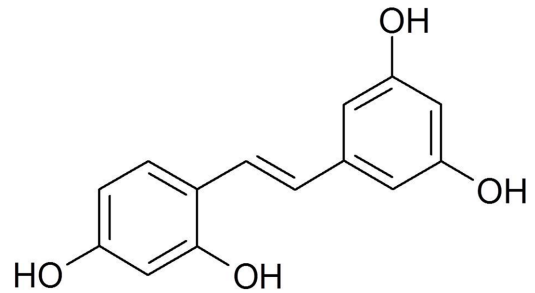


Fig. 1. Chemical structure of oxyresveratrol.

Table 1. HPLC conditions for analysis of oxyresveratrol of ethanol extract of mulberry (*Morus alba* L.) branches

Parameter	Condition		
Column	YMC-Pack Pro C ₁₈ column (5 µm, 46×250 mm)		
Flow rate	0.8 mL/min		
Injection volume	10 µL		
UV detection	320 nm		
Run time	60 min		
	Time (min)	0.05% H ₃ PO ₄ in water	Acetonitrile
	0	90	10
	4	90	10
	8	85	15
	12	85	15
	15	80	20
Gradient elution	25	80	20
	30	60	40
	34	60	40
	38	40	60
	42	40	60
	45	20	80
	50	20	80
	55	90	10
	60	90	10

분석하여 크로마토그램상의 피크 유지시간(retention time, RT)과 스펙트럼을 비교하였다.

직선성(linearity)은 분석대상물질의 농도에 대해 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 말하며 ORT 표준원액을 MeOH로 단계적으로 희석하여 6.25-100 µg/mL의 시료를 조제한 후 HPLC로 분석하여 농도에 대한 면적에 대하여 검량곡선을 작성하고, R²값을 확인하였다. 최저정량한계(LOQ, limit of quantitation)는 신호 대 잡음비(signal to noise, S/N) 값이 3.3일 때로, 검출한계(LOD, limit of detection)는 S/N 비율이 10일 때로 계산하였다.

정확성(accuracy)은 일내분석(intra-day)과 일간분석(inter-day)의 변이성을 측정하였다. ORT 표준원액을 12.5, 25, 50 및 100 µg/mL로 조제하여 일내분석과 일간분석에서 HPLC 분석의 재현성을 확인하였다. 정확성은 조제한 4가지 농도의 표준품을 3회 반복 측정하여 결과값이 참값에 근접한 정도를 백분율로 나타내었다. 그리고 일내분석의 정확성은 하루 동안 표준용액을 1일 3구간에서 분석하였으며, 일간분석의 정확성은 일내분석의 과정을 3일 동안 반복하여 그 변이성을 측정하였다. 이때, 각 시험은 구간마다 4가지 농도에서 3회 반복하여 측정하였다.

정밀성(precision)은 시료를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때

각각의 측정값들 사이의 근접성(분산정도)을 말하는 것으로 12.5, 25, 50 및 100 µg/mL 농도의 표준용액을 동일한 분석조건으로 각각 5회 반복하여 상대표준편차를 측정하였다. 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 표준편차를 평균으로 나누어 백분율로 계산하였다. 회수율(recovery)은 4가지 농도 표준용액을 5회 반복 시험 후 얻은 면적을 표준용액의 면적과 비교하여 회수율을 구하였다.

상지추출물의 ORT 함량 분석

대구가톨릭대학교 해양바이오센터 시제품 공장에서 제조한 3 가지 로트의 상지추출물을 10 mg/mL의 농도가 되도록 60% 에탄올수용액에 용해하여 상온에서 방치시킨 다음 얻어진 상층액을 10배 희석하여 0.45 µm membrane filter (PVDF syringe filter, Finetech Research and Innovation Corp., Taichung, Taiwan)로 최종 여과한 것을 시험용액으로 사용하였으며, 이때 각 시료는 3회 반복 측정하였다. 이때, 상지추출물의 ORT 함량은 앞서 작성된 표준품의 검량선으로부터 산출하였다.

상지추출물의 이화학적 특성 측정

상지추출물의 pH, 색도, 자외선 최대흡수파장과 수분함량을 측

정하기 위해 추출물의 농도를 일정하게 희석하여 다음과 같이 측정하였다. pH는 pH meter (Seven Easy, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)를 사용하여 측정하였으며, 색도는 색차계 (CM3600D, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 측정 후 Hunter's scale의 L (lightness), a (redness), b (yellowness) 값으로 나타내었다. 자외선 최대흡수파장(λ_{max})은 자외선/가시광선 분광광도계(S-3100, Scinco, Seoul, Korea)로 200-800 nm에서 스캐닝하여 측정하였으며, 수분함량은 적외선수분측정기(XM-60, Precisa instrument Ltd., Zurich, Swiss)를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

특이성 확인

특이성 시험을 통해 ORT가 다른 물질과의 간섭없이 성분이 분리되는지 확인하였다. 표준용액과 상지 주정추출물의 크로마토그램을 비교한 결과, Fig. 2와 같이 다른 물질과 간섭없이 ORT 성분이 잘 분리되었으며, 표준용액의 피크 RT와 상지추출물의 피크 RT가 32.09로 일치하였다. 또한, ORT 표준용액과 상지 주정추출물의 스펙트럼이 동일한 것으로 나타나서 본 시험법의 특이성을 확인하였다.

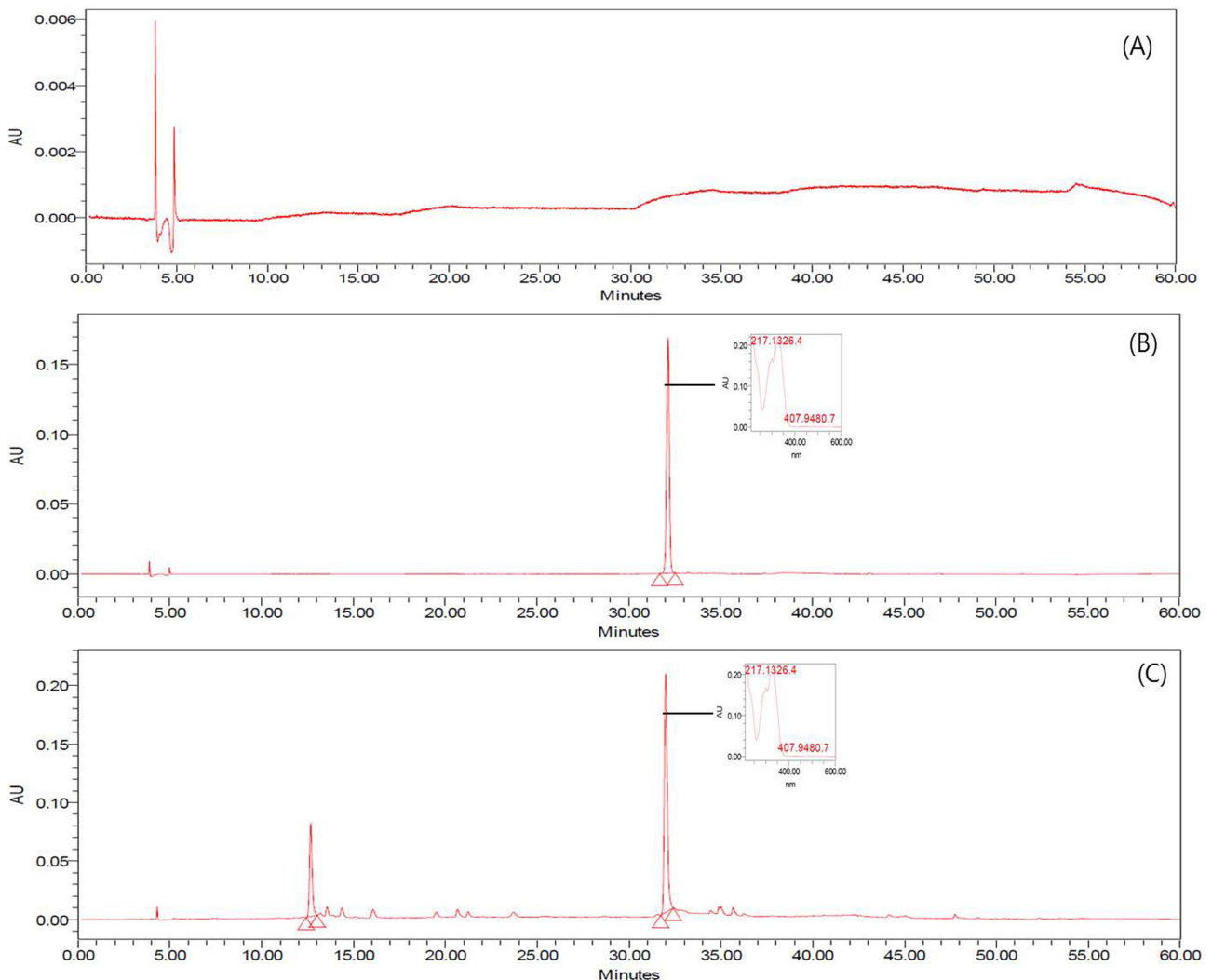


Fig. 2. HPLC chromatograms of blank (A), oxyresveratrol standard solution (B) and ethanol extract of mulberry branch (C).

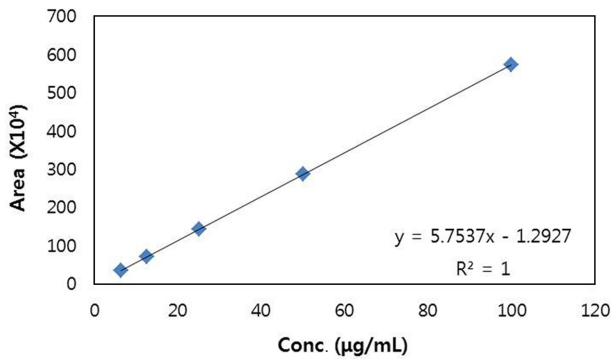


Fig. 3. Calibration curve for oxyresveratrol solution.

Table 2. Intra- and inter-day accuracy of oxyresveratrol

	Nominal concentration (µg/mL)	Mean measured concentration (µg/mL)	Accuracy (%)	RSD ¹⁾ (%)
Intra-day ²⁾	12.50	12.43	99.44	0.14
	25.00	25.46	101.84	1.27
	50.00	51.00	102.00	3.52
	100.00	103.47	103.47	1.71
Inter-day ³⁾	12.50	12.20	97.60	2.51
	25.00	26.43	105.72	3.64
	50.00	52.90	105.81	2.97
	100.00	103.80	103.80	4.70

Each value is presented as mean ($n=3$).

¹⁾Relative standard deviation.

²⁾Intra-day: three times per day.

³⁾Inter-day: one time analysis of ORT per day for 3 days.

직선성, 검출한계 및 정량한계

ORT 표준원액을 6.25-100 µg/mL로 단계적으로 희석한 후 HPLC로 분석한 결과, Fig. 3과 같이 검량곡선의 상관계수(R^2)는 1로 높은 직선성을 보였으며, 검출한계와 정량한계는 각각 0.3 µg/mL와 1.0 µg/mL 수준으로 나타났다. 본 연구는 상지 주정추출물의 표준화를 위해 설정된 지표성분의 분석을 위한 검출한계와 정량한계를 검증한 것으로 본 연구에서의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

정확성, 정밀성 및 회수율

정확성 측정 결과는 Table 2와 같이 ORT의 일내분석에서는 99.44-103.47%, 일간분석에서는 97.60-105.81%로 참값에서 10%를 벗어나지 않는 정확성을 보였으며, 일내와 일간의 RSD는 각각 0.14-3.52%, 2.51-4.70%로 나타나 RSD 5% 이하로서 정확성이 있음을 알 수 있었다. 정밀성은 4가지 농도를 각각 5회 반복 후 RSD값을 분석하였으며, 회수율은 4가지 농도를 각각 5회 반복 후 얻은 시료 면적을 검량선에 근거하여 회수되는 시료 양을 백분율로 계산하였다. Table 3과 같이 ORT 표준품의 회수율은 97.64-103.69%였으며, RSD는 0.89-1.14%로 나타나 RSD 2% 이하로서 정밀성이 있음을 확인하였다. 농도별로 12.5 µg/mL에서는 97.64%, 25 µg/mL에서는 99.32%, 50 µg/mL에서는 99.76%, 100 µg/mL에서는 103.69%의 회수율을 보였다. 이와 같이 시험법의 검증과정을 통하여 확립된 상지추출물의 기능성 원료 표준화를 위한 지표성분 ORT의 HPLC 분석법은 충분한 감도, 특이성, 직선성, 정확성과 정밀성을 갖고 있음을 확인할 수 있었다. 지금까지 HPLC에 의한 식물추출물의 ORT 분석에 대한 많은 연구가

Table 3. Precision of oxyresveratrol

Nominal concentration (µg/mL)	Mean measured concentration (µg/mL)	Recovery (%)	RSD ¹⁾ (%)
12.50	12.21	97.64±1.11	1.14
25.00	24.83	99.32±0.91	0.92
50.00	49.88	99.76±1.01	1.01
100.00	103.69	103.69±0.92	0.89

Each value is presented as mean±SD ($n=5$).

¹⁾Relative standard deviation.

Table 4. Content of oxyresveratrol in mulberry branch extract

Lot number	Content (%)	RSD ¹⁾ (%)
1	3.58±0.06	2.16
2	3.65±0.08	0.27
3	3.99±0.13	2.01

Each value is presented as mean±SD ($n=3$).

¹⁾Relative standard deviation.

보고(Anh 등, 2017; Hwang 등 2015; Li 등 2007; Zheng 등 2012)된 바가 있으나 상지추출물의 제조와 기능성원료 표준화를 위한 지표성분 ORT 분석법 검증은 본 연구가 처음이다. 그리고 뽕나무의 주된 기능성성분으로 알려진 레스베라트롤의 유도체인 ORT은 상백피에는 아글리콘인 ORT 보다 글리코사이드인 mulberroside A (MSA)가 거의 대부분 함유되어 있으며, 그 외 뽕나무 열매(오디), 잎(상엽)에도 함유되어 있으나 미량으로 존재한다(Chan 등, 2016; Choi 등, 2015). 그러나 상지에는 비록 부위와 수확시기에 따라 다르지만 글리코사이드(MSA)보다 아글리콘(ORT)이 대부분 함유되어 있는 것이 특징이다. 그리고 ORT은 뽕나무 이외에도 열대성 작물 Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam, 뽕나무과)의 열매, 잎, 뿌리에도 존재하지만 ORT 함량이 상지보다 매우 낮고 또 상지에는 거의 존재하지 않은 prenylflavonoid 성분이 다량 함유하고 있어 상지와 차이가 있다(Fang 등, 2008). 그리고 중등산 *Schoenocaulon officinale* 근경(식용보다 장식용으로 사용)에도 ORT 성분이 함유되어 있으나 거의 대부분 글리코사이드로 존재하는 것으로 알려져 있다(Kanchanapoom 등, 2002). 이와 같이 다른 식물과 달리 상지에 함유된 ORT 성분은 거의 대부분 아글리콘으로 존재하고, ORT 함량(3-10%, 추출물)도 상당히 높은 편이었으며, 본 연구진의 사전연구(Ahn 등, 2017; Park 등, 2016)에서 ORT의 항당뇨 효능을 확인한 바가 있기에 기능성 지표성분으로서 설정할 수 있었다.

상지추출물의 ORT의 함량

본 시험법의 검증과정을 통하여 상지 HPLC 분석법이 상지추출물내 기능성지표성분 ORT의 정량분석법으로 충분한 감도, 특이성, 직선성, 정확성과 정밀성을 갖고 있음을 확인할 수 있었다. 검증된 분석법으로 3가지 로트로 제조된 상지추출물의 ORT 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 로트 1은 3.58%, 로트 2는 3.65%, 로트 3은 3.99%이었으며, 상지추출물의 ORT 평균함량은 3.74%로 분석오차 20%를 고려하여 향후 상지추출물을 기능성 원료로 개발하고자 할 때 ORT 기준규격을 2.99-4.49%로 설정하고자 한다(KFDA, 2018). 한편, 본 연구에서 확립된 HPLC 정량분석법에 따라 국내 시중에서 판매되고 있는 여러 상지의 ORT 함량을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 산지별 상지 에탄올추출물

Table 5. Oxyresveratrol contents of mulberry branches on the market

Product	ORT (% , EtOH ext.)
A (Jeongseon)	2.29±0.26
B (Wonju)	1.21±0.07
C (Wuljin)	8.58±0.94
D (Jecheon)	1.49±0.09
E (Sancheon)	0.48±0.05
F (Seocheon)	5.39±0.04
G (Yeongcheon)	7.32±0.85

Each value is presented as mean±SD (n=3).

의 ORT 함량 범위가 0.48-8.58%로 상당히 차이가 있었으며, 특히 굵은 상지(직경 1-3 cm)로 구성된 울진산과 영천산 상지추출물 ORT 함량이 8.58%와 7.32%로 높았다. 반면, 작은 상지(직경 1 cm 이하)로 구성된 산천, 원주와 제천 상지추출물의 함량은 각각 0.48, 1.21, 1.49%로 낮게 나타났으며, 그 외 상지추출물도 생산지에 따라 상당히 함량 차이가 있었다. 이러한 상지추출물의 ORT 함량 차이는 뽕나무 품종, 산지, 부위와 수확시기에 따라 상지의 기능성물질의 함량 차이가 있다는 전보의 연구결과(Anh 등, 2017; Choi 등, 2013; Choi 등, 2015; Hwang 등, 2015; Li 등, 2007; Zheng 등, 2012)를 뒷받침 해 준다. 또한, 상지의 굵기에 따라 ORT 함량이 크게 차이가 나는 결과는, 주가지(stem)가 어린가지(twig) 보다 ORT 함량이 높으며, 어린가지도 먼저 나온 가지(old twig)가 나중에 나온 가지(young twig)보다 ORT 함량이 높다는 사전연구(Zheng 등, 2010; Zheng 등, 2012) 결과와 유사함을 알 수 있었다. 이러한 상지의 ORT 함량 차이를 근거로 해서 본 연구에서 사용한 상지는 국내에서 누에 사육용 뽕잎으로 가장 많이 재배하고 있는 '청일뽕' 뽕나무 가지를 2월말경에 부위별과 크기별로 골고루 채취하여 혼합한 상지를 시료로 사용하였다.

상지추출물의 이화학적 특성

상지를 60% 주정수용액으로 환류 추출 후 여과 및 농축하여 최종 상지추출물(6.58±0.45 kg, 수율: 5.00-7.20%)을 얻었다. 상지추출물은 약간의 특이취를 지니고 있는 갈색분말로서, 약간 떼고 쓴맛을 지니고 있었다. 상지추출물의 pH는 5.82±0.02 (50% aq. EtOH)로 약산성을 나타내었고, 색도는 L값 42.10±0.50, a값 9.61±0.02, b값 32.99±0.05로 각각 나타내었다. 그리고 자외선 최대흡수파장(λ_{max})은 325±0.86 nm이었으며, 건조중량은 4.35±1.23%이었다.

요 약

상지추출물을 식약처 개별인정형 건강기능식품 기능성원료로 개발하기 위한 연구의 일환으로 상지추출물의 표준화를 위한 기능성지표성분 ORT 분석법 설정과 분석법에 대한 확인을 실시한 결과는 다음과 같다. 먼저 HPLC를 이용하여 0.05% 인산이 첨가된 물과 아세트나이트릴을 이동상으로 하고 YMC-Pack Pro C₁₈ column (5 μ m, 4.6×250 mm)을 사용하여 기울기용출(gradient elution)으로 ORT 분석법을 확립한 후 분석법에 대하여 특이성, 직선성, 정확성, 회수율과 정밀성을 각각 측정하였다. ORT 검량선의 상관계수($R^2=1$)은 좋은 선형성을 보였으며 LOQ와 LOD는 각각 1.0와 0.3 μ g/mL 나타났다. 정확도는 일내분석과 일간분석에서 각각 99.44-103.47%, 97.60-105.81%로 나타내었으며, 상대표준

편차(RSD)는 각각 3.52, 4.70% 이었다. 회수율은 97.64-103.69%이었으며, RSD는 0.89-1.14%으로 나타나서 RSD 2.00% 이하로 정밀성이 있음을 확인할 수 있었다. 위의 결과로부터 HPLC를 이용한 ORT의 분석법은 상지추출물의 기능성원료 표준화를 위한 지표성분 분석법으로 적합함을 확인하였다. 본 시험법에 따라 3회 제조한 상지추출물의 ORT 함량은 평균 3.74%로 나타내었다. 따라서 본 연구를 통하여 확립된 ORT의 분석법이 향후 상지추출물의 기능성원료 표준화와 규격화를 위한 기초자료로서 크게 활용될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 대구가톨릭대학교 교내학술연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

References

- Ahn EY, Lee JM, Jeon YH, Choi SW, Kim EJ. Anti-diabetic effects of mulberry (*Morus alba* L.) branches and oxyresveratrol in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Sci. Biotechnol.* 26: 1693-1702 (2017)
- Chan EWC, Lye PY, Wong SK. Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*. *Chinese J. Nat. Med.* 14: 17-30 (2016)
- Chang LW, Juang LJ, Wang BS, Wang MY, Tai HM, Hung WJ, Chen YJ, Huang MH. Antioxidant and antityrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. *Food Chem. Toxicol.* 49: 785-790 (2011)
- Choi SW, Jang YJ, Lee YJ, Leem HH, Kim EO. Analysis of functional constituents in mulberry (*Morus alba* L.) twigs by different cultivars, producing areas, and heat processings. *Prev. Nutr. Food Sci.* 18: 256-262 (2013)
- Choi SW, Lee YJ, Ha SB, Jeon YH, Lee DH. Evaluation of biological activity and analysis of functional constituents from different parts of mulberry (*Morus alba* L.) tree. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 823-831 (2015)
- Chuanasa T, Phromjai J, Lipipun V, Likhitwitayawuid K, Suzuki M, Pramyothin P, Hattori M, Shiraki K. Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of oxyresveratrol derived from thai medicinal plant: Mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice. *Antivir. Res.* 80: 62-70 (2008)
- Chung KO, Kim BY, Lee MH, Kim YR, Chung HY, Park JH, Moon JO. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from *Morus alba* L. *J. Pharm. Pharmacol.* 55: 1695-1700 (2003)
- Fang SC, Hsu CL, Yen GC. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *J. Agr. Food Chem.* 56: 4463-4468 (2008)
- Food Safety Korea. Guidelines for the recognition of functional ingredient. <https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/board/board-Detail.do>. Accessed Dec. 30, 2016.
- Guo C, Li R, Zheng N, Xu L, Liang T, He Q. Anti-diabetic effect of Ramulus mori polysaccharides, isolated from *Morus alba* L. on STZ-diabetic mice through blocking inflammatory response and attenuating oxidative stress. *Int. Immunopharmacol.* 16: 93-99 (2013)
- Hur J. *Donguibogam*, Dongguk Institute. Ryogang Pub. Co., Seoul, Korea, pp. 2803-2805 (1994)
- Hwang DH, Jo SP, Lee JY, Kim JK, Kim KH, Lim YH. Antihyperlipidaemic effects of oxyresveratrol containing *Ramulus mori* ethanol extract in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Functional Foods* 19: 353-362 (2015)
- Kanchanapoom T, Suga K, Kasai R, Yamasaki K, Kamel MS, Mohamed MH. Stilbene and 2-arylbenzofuran glucosides from the rhizomes of *Schoenocaulon officinale*. *Chem. Pharm. Bull.* 50: 863-865 (2002)
- KFDA. Korean Food and Drug Administration. Standards and specifications of health functional foods. <http://www.mfds.go.kr/index>.

- do?mid=687&pageNo=1&seq=13842&sitecode=2018-02-28&cmd=v. Accessed Feb. 28, 2018.
- Lee SI. *Mori Fructus*. Bonchohak. Suseowon, Seoul, Korea. pp. 136-137 (1981)
- Li H, Cheng KW, Cho CH, He Z, Wang M. Oxyresveratrol as an antibrowning agent for cloudy apple juices and fresh-cut apples. *J. Agr. Food Chem.* 55: 2604-2610 (2007)
- Lorenz P, Roychowdhury S, Engelmann M, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: Effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric Oxide* 9: 64-76 (2003)
- Mouihate A, Horn TF, Pittman QJ. Oxyresveratrol dampens neuroimmune responses *in vivo*: A selective effect on TNF- α . *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 291: R1215-1221 (2006)
- Park SY, Jin BR, Lee YR, Kim YJ, Park JB, Jeon YH, Choi SW, Kwon OR. Postprandial hypoglycemic effects of mulberry twig and root bark *in vivo* and *in vitro*. *J. Nutr. Health* 49: 18-27 (2016)
- Park SY, Jin BR, Shin JH, Adisakwattana SC, Kwon OR. Standardized *Mori ramulus* extract improves insulin secretion and insulin sensitivity in C57BLKS/J db/db mice and INS-1 cells. *Biomed Pharmacother.* 92: 308-315 (2017)
- Song UI. Medicinal Plant Experiment Station of Agricultural Research Center in Gyeongbuk, Korea. Illustrated book of medicinal plants. p. 120 (2000)
- Tan HY, Iris MY, Li ETS, Wang M. Oxyresveratrol supplementation to C57bl/6 mice fed with a high-fat diet ameliorates obesity-associated symptoms. *Nutrients* 9: 147 (2017)
- Ye F, Shen Z, Xie M. Alpha-glucosidase inhibition from a Chinese medical herb (*Ramulus mori*) in normal and diabetic rats and mice. *Phytomedicine* 9: 161-166 (2002)
- Zheng ZP, Cheng KW, Zhu Q, Wang XC, Lin ZX, Wang M. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*: A structure-activity relationship study. *J. Agr. Food Chem.* 58: 5368-5373 (2010)
- Zheng ZP, Tan HY, Wang M. Tyrosinase inhibition constituents from the roots of *Morus australis*. *Fitoterapia* 83: 1008-1013 (2012)