(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0066772
(43) 공개일자 2024년05월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/74 (2006.01) *G01N 30/02* (2006.01)
G01N 30/88 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 30/74 (2013.01)
G01N 2030/027 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0147976
(22) 출원일자 2022년11월08일
심사청구일자 2022년11월08일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
김대옥
경기도 용인시 수지구 수지로113번길 16, 103동 203호(성복동, 성동마을 강남빌리지)
김예준
경기도 성남시 분당구 장미로 101, 831동 705호(야탑동, 장미마을)
(74) 대리인
특허법인태백

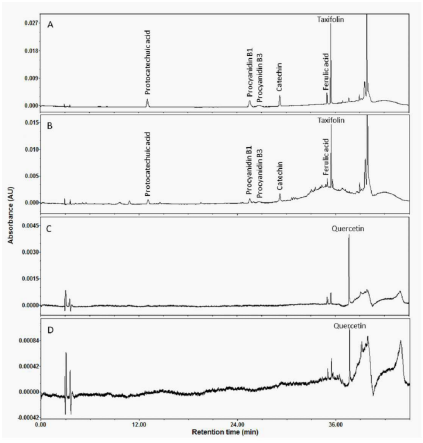
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **송피 추출물의 주요 페놀 화합물 동시분석법**

(57) 요 약

본 발명은 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물의 주요 페놀 화합물 동시분석법에 관한 것으로, HPLC를 통한 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물(프로토카테츄산, 프로시아니딘 B1, 프로시아니딘 B3, 카테킨, 페룰산, 텍시폴린 및 퀘세틴)을 신속하고 효율적으로 분석할 수 있는 방법을 확인함으로써, 송피로부터 페놀 화합물을 동시분석하는 방법으로서 유용하게 활용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 2030/8809 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545025569
과제번호	821017032HD020
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	기술사업화지원
연구과제명	국산 송피추출물을 활용한 기억력 개선 in vitro 효능평가
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교산학협력단(국제캠퍼스)
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물에 유기용매를 가하여 전처리하는 단계(제1단계);

고정상으로서 비극성 컬럼을 갖는 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 상기 제1단계의 전처리한 송피 추출물을 주입하는 단계(제2단계); 및

상기 제2단계의 송피 추출물이 주입된 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 이동상 혼합용매를 흘려주고, 고성능액체크로마토그래피의 흡광도 측정을 통해 송피 추출물이 포함하는 페놀 화합물 함량을 분석하는 단계(제3단계)를 포함하는, 송피로부터 페놀 화합물 동시분석 방법으로서,

상기 이동상은 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세토니트릴을 혼합한 것이고, 상기 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세토니트릴은 95:5의 부피 비율을 시작으로 하여 94:6, 93:7, 91:9, 83:17, 65:35, 15:85 및 95:5의 순서로 시계열적으로 부피 비율을 변화시키는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 동시분석 방법은 프로토카테츄산(Protocatechuic acid), 페룰산(Ferulic acid), 텍시폴린(Taxifolin) 및 퀘세틴(Quercetin)을 동시에 동시분석하는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 동시분석 방법은 프로시아니딘 B1(Procyanidine B1), 프로시아니딘 B3(Procyanidine B3) 및 카테킨(Catechin)을 추가로 더 포함하여 동시분석할 수 있는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 이동상의 유속은 0.4 내지 1mL/min인 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 제3단계는 동시분석된 페놀 화합물의 표준검량선을 이용하여 분리된 페놀 화합물 함량을 산출하는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 제1단계의 송피 추출물을 습윤화하기 위한 용매는 500 내지 2000mL/g의 양으로 첨가되는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 제1단계는 초음파 처리 또는 정용 과정을 포함하는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 제1단계는 전처리한 송피 추출물을 멤브레인 필터로 여과하는 과정을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 컬럼의 충전제는 C14 내지 C20 기능기를 가지는 실리카인 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 컬럼의 길이는 200 내지 300㎜, 컬럼의 내경은 2 내지 6㎜ 및 컬럼에 충전된 입자의 직경은 1.7 내지 5㎛인 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

청구항 11

청구항 9에 있어서, 상기 컬럼의 온도는 20 내지 30℃인 것을 특징으로 하는 페놀 화합물 동시분석 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물의 주요 페놀 화합물 동시분석법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 송피(*Pinus densiflora* bark)는 임업 부산물로, 국내에서 생산되는 송피는 대부분 폐기되고 있는 실정이다. 그러나 송피 추출물에는 프로토카테츄산(Protocatechuic acid), 프로시아니딘 B1(Procyanidine B1), 카테킨(catechin), 택시폴린(taxifolin), 퀘세틴(quercetin) 등 다양한 페놀 화합물들이 함유되어 있고, 항산화, 항염증, 항비만, 항균, 고혈압 예방, 인지기능개선 등의 효과가 있다고 보고된 바 있어, 송피는 생리활성 식의약 소재로 개발하거나 응용상품으로 제품화할 수 있는 고부가가치 소재로서 유용하게 활용될 수 있다.

[0003] 송피 추출물은 특히 프로시아니딘류가 풍부하다고 알려져 있고, 기능성 원료로 등재된 프랑스 해안송 껍질 추출물의 경우, 기능성분으로 프로시아니딘이 설정되어 있을 만큼 프로시아니딘이 다량 함유되어 있다. 최근 일반식품의 기능성 표시가 가능해짐에 따라, 개별인정형 건강기능식품에 대한 관심이 증가하고 있는데, 송피 추출물을 개별인정형 건강기능식품으로 등재시키는 데에는 원료 표준화가 중요하므로, 이를 위하여 송피 추출물에 존재하는 페놀 화합물을 정확히 분석할 수 있는 방법 개발이 요구되고 있다. 그러나 기존의 정량법들은 다양한 프로시아니딘류에 대하여 분석이 제한되어 있어, 건강기능식품 개발을 위한 원료 표준화 및 품질관리에 요구되는 주요 페놀 화합물들의 동시분석 방법이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 1. 중국 공개특허 제101125844호(2008.02.20. 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물에 유기용매를 가하여 전처리하는 단계(제1단계), 고정상으로서 비극성 컬럼을 갖는 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 상기 제1단계의 전처리한 송피 추출물을 주입하는 단계(제2단계) 및 상기 제2단계의 송피 추출물이 주입된 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 이동상 혼합용매를 흘려주고, 고성능액체크로마토그래피의 흡광도 측정을 통해 송피 추출물이 포함하는 페놀 화합물 함량을 분석하는 단계(제3단계)를 포함하는, 송피로부터 페놀 화합물 동시분석 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물에 유기용매를 가하여 전처리하는 단계(제1단계), 고정상으로서 비극성 컬럼을 갖는 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 상기 제1단계의 전처리한 송피 추출물을 주입하는 단계(제2단계) 및 상기 제2단계의 송피 추출물이 주입된 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 이동상 혼합용매를 흘려주고, 고성능액체크로마토그래피의 흡광도 측정을 통해 송피 추출물이 포함하는 페놀 화합물 함량을 분석하는 단계(제3단계)를 포함하는, 송피로부터 페놀 화합물 동시분석 방법을 제공한다.

[0007] 상기 이동상은 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세토니트릴을 혼합한 것이고, 상기 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세

토니트릴은 95:5의 부피 비율을 시작으로 하여 94:6, 93:7, 91:9, 83:17, 65:35, 15:85 및 95:5의 순서로 시계열적으로 부피 비율을 변화시키는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0008] 본 발명에 따르면, HPLC를 통한 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물(프로토카테츄산, 프로시아니딘 B1, 프로시아니딘 B3, 카테킨, 페룰산, 텍시폴린 및 퀘세틴)을 신속하고 효율적으로 분석할 수 있는 방법을 확인함으로써, 송피로부터 페놀 화합물을 동시분석하는 방법으로서 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1A는 6종의 페놀 화합물(프로토카테츄산, 프로시아니딘 B1, 프로시아니딘 B3, 카테킨, 페룰산 및 텍시폴린) 표준물질을 280nm에서 HPLC로 분석한 크로마토그램 결과이다.

도 1B는 송피 추출물을 280nm에서 HPLC로 분석한 크로마토그램 결과이다.

도 1C는 1종의 페놀 화합물(퀘세틴) 표준물질을 365nm에서 HPLC로 분석한 크로마토그램 결과이다.

도 1D는 송피 추출물을 365nm에서 HPLC로 분석한 크로마토그램 결과이다.

도 2는 7종의 페놀 화합물(프로토카테츄산, 프로시아니딘 B1, 프로시아니딘 B3, 카테킨, 페룰산, 텍시폴린 및 퀘세틴) 표준물질의 검량선을 나타낸다.

도 3은 7종의 페놀 화합물(프로토카테츄산, 프로시아니딘 B1, 프로시아니딘 B3, 카테킨, 페룰산, 텍시폴린 및 퀘세틴) 표준물질 및 송피 추출물의 스펙트럼을 비교 및 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0012] 본 발명은 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물에 유기용매를 가하여 전처리하는 단계(제1단계), 고정상으로서 비극성 컬럼을 갖는 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 상기 제1단계의 전처리한 송피 추출물을 주입하는 단계(제2단계) 및 상기 제2단계의 송피 추출물이 주입된 고성능액체크로마토그래피의 컬럼에 이동상 혼합용매를 흘려주고, 고성능액체크로마토그래피의 흡광도 측정을 통해 송피 추출물이 포함하는 페놀 화합물 함량을 분석하는 단계(제3단계)를 포함하는, 송피로부터 페놀 화합물 동시분석 방법을 제공한다.

[0013] 상기 이동상은 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세토니트릴을 혼합한 것이고, 상기 0.1%(v/v) 포름산 용액 및 아세토니트릴은 95:5의 부피 비율을 시작으로 하여 94:6, 93:7, 91:9, 83:17, 65:35, 15:85 및 95:5의 순서로 시계열적으로 부피 비율을 변화시키는 것일 수 있다.

[0014] 상기 동시분석 방법은 프로토카테츄산(Protocatechuic acid), 페룰산(Ferulic acid), 텍시폴린(Taxifolin) 및 퀘세틴(Quercetin)을 동시에 동시분석할 수 있다.

[0015] 또한, 상기 동시분석 방법은 프로시아니딘 B1(Procyanidine B1), 프로시아니딘 B3(Procyanidine B3) 및 카테킨(Catechin)을 추가로 더 포함하여 동시분석할 수 있다.

[0016] 상기 이동상의 유속은 0.4 내지 1mL/min일 수 있다.

[0017] 상기 제1단계의 송피 추출물은 건조된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 상기 제3단계는 동시분석된 페놀 화합물의 표준검량선을 이용하여 분리된 페놀 화합물 함량을 산출하는 것일 수 있다.

[0019] 상기 제1단계의 송피 추출물을 습윤화하기 위한 용매는 500 내지 2000mL/g의 양으로 첨가될 수 있다.

[0020] 상기 제1단계의 송피 추출물을 습윤화하기 위한 용매는 유기용매를 혼합하여 사용할 수 있고, 바람직하게는 물과 메탄올을 혼합하여 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 상기 제1단계는 초음파 처리 또는 정용 과정을 포함할 수 있다.

[0022] 상기 제1단계는 전처리한 송피 추출물을 맴브레인 필터로 여과하는 과정을 추가로 포함할 수 있고, 상기 멤브레

인 필터의 구멍 크기는 0.2 내지 0.45㎛일 수 있다.

[0023] 상기 컬럼의 충전제는 C14 내지 C20 기능기를 가지는 실리카일 수 있고, 바람직하게는 C18 기능기를 가지는 실리카일 수 있다.

[0024] 또한, 상기 컬럼의 길이는 200 내지 300㎜일 수 있고, 컬럼의 내경은 2 내지 6㎜일 수 있으며, 컬럼에 충전된 입자의 직경은 1.7 내지 5㎛일 수 있다.

[0025] 또한, 상기 컬럼의 온도는 20 내지 30℃일 수 있다.

[0027] 본 발명에서 '메탄올'은 가장 간단한 알코올로 메틸알코올이라고도 한다. 독성이 있는 무색의 휘발성 액체로, 에탄올 비슷한 냄새가 난다. 물, 에탄올, 에테르 등에 임의의 비율로 혼합되는 물질이며, 가연성을 가지고 있다. 유기합성재료, 용재, 세척제, 연료, 에탄올의 변성용으로 쓰인다.

[0028] 본 발명에서 '용매'는 이동상을 의미하며, 상기 '이동상'은 크로마토그래피를 사용하여 성분을 분리할 때, 고정상에 대해 상대적으로 이동하는 기체 또는 액체상을 의미한다. 이동상은 점도가 낮아야 하고, 두 가지 용매를 사용할 경우에는 혼합성이 좋아야 한다. 또한, 칼럼에 충전된 물질이 용매에 녹지 않아야 하나, 분석하는 물질은 반드시 용매에 녹아야 한다. 이동상으로 바람직하게는 아세토니트릴과 0.1% (v/v) 포름산 용매를 사용할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 '고정상'은 크로마토그래피를 사용하여 성분을 분리할 때 흡착제로 사용하는 고체나 액체를 의미하며, 시료의 성분을 분리하는 관(column)에 충전하여 사용한다. 컬럼은 재질, 입자크기, 입자의 형태 및 pore 크기로 구분한다. 바람직하게는 본 발명에서 옥타데실실란(C18)로 충전되고, 입자크기가 3㎛이며, 4.5 ×250 ㎜인 컬럼을 사용하였다.

[0030] 본 발명에서 '고성능액체크로마토그래피'(High Performance Liquid Chromatgraphy; HPLC)는 일반적인 액체크로마토그래페에서 입자를 더욱 작게 하고 가는 분리관을 사용하여 압력을 가하여 용매(이동상)를 흘리는 것으로, 뛰어난 분리기능을 얻을 수 있다. 크로마토그래피에서는 분리 능력을 가진 충진물을 컬럼에 충진시킨 후 분리하고자 하는 물질을 이동상에 녹여 용출되어 나오는 물질을 시간별로 분취하여 분리한다. 일반적으로 널리 이용되고 있는 것은 PDA검출기, UV 검출기 등이다. 바람직하게는 본 발명에서는 PDA 검출기를 사용하였다. HPLC에서의 분리는 머무름(Retention), 분리도(Resolutin) 등의 인자가 중요한 영향을 미치게 된다.

[0032] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0034] **[실시예 1] 시료 전처리**

[0035] 송피(*Pinus densiflora* bark) 추출물은 뉴트라팜에서 공급한 분말상태의 국산 송피 물 추출물을 사용하였다. 송피 추출 분말 10㎎을 10㎖ 플라스크에 담아 50%(v/v) 메탄올을 8㎖ 가하여 5분간 초음파 추출한 후, 정용하였으며 이를 2배 희석하여 0.45㎛ 여과지로 여과한 후, 시험용액으로 이용하였다.

[0037] **[실시예 2] 페놀 화합물 동시분석**

[0038] 하기 표 1에 나타난 조건에 따라 송피 추출물의 페놀 화합물 동시분석을 수행하였다. 구체적으로, 상기 전처리한 송피 추출물 5㎕를 25℃에서 이동상(A: 0.1%(v/v) 포름산 용액, B: 아세토니트릴)이 흐르는 Osaka soda(UG 120 C18(4.6 × 250㎜, 3㎛)) 컬럼을 사용하여 페놀 화합물을 분석하였다. 고속액체크로마토그래피(Waters e2695)는 PDA(Waters 2998 detector)를 사용하였으며, 280㎚에서 프로토카테츄산(Protocatechuic acid), 프로시아니딘 B1(Procyanidine B1), 프로시아니딘 B3(Procyanidine B3), 카테킨(Catechin), 페룰산(Ferulic acid) 및 텍시폴린(Taxifolin)을 분석하였고, 365㎚에서 퀘세틴(Quercetin)을 분석하였다. 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 상기 7종의 페놀 화합물 모두 동시분석이 가능하다는 것을 확인하였다.

표 1

[0039]

컬럼	Osaka soda UG 120 - C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 3.0 μm)		
컬럼 온도	25℃		
이동상 (Gradient)	시간(분)	0.1% 포름산 용액(A)	아세토니트릴(B)
	0	95	5
	9	94	6
	19	93	7
	24	91	9
	28	83	17
	33	65	35
	37	15	85
	40	95	5
	45	95	5
검출기	Photodiode array detector(280, 365nm)		
유속	1.0mL/min		
주입량	5μL		

[0041] **[실시예 3] 동시분석법에 대한 검증(Validation)**

[0042] 3-1. 선택성(Selectivity) 분석

[0043] 상기 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물 선택성을 확인하기 위해, 상기 7종의 페놀 화합물 피크의 머무름 시간을 3회 반복실험을 통해 평균을 산출하고, 상기 7종의 페놀 화합물 표준용액과 비교하였다. 그 결과, 도 1 및 표 2에 나타난 바와 같이, 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물의 머무름 시간 모두 표준용액 피크의 머무름 시간과 거의 동일하게 나타나는 것을 확인하였다. 또한, 도 3에 나타난 바와 같이, 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물 스펙트럼 모두 표준용액 스펙트럼과 서로 일치하여 다른 성분들로부터 간섭을 받지 않고 양호하게 분리된 것을 확인하였다.

표 2

[0044]

피크의 머무름 시간(분)		
분석물	송피 추출물	표준용액
프로토카테츄산	13.0	13.1
프로시아니딘 B1	25.2	25.4
프로시아니딘 B3	26.3	26.5
카테킨	29.0	29.1
페룰산	35.0	35.0
텍시폴린	35.4	35.5
퀘세틴	37.7	37.7

[0046] 3-2. 직선성(Linearity) 분석

[0047] 상기 송피 추출물에 존재하는 7종의 페놀 화합물 직선성을 확인하기 위해, 7종의 페놀 화합물에 대하여 표 3에 나타난 농도범위에서 검량선을 작성하였다. 그 결과, 도 2 및 표 3에 나타난 바와 같이, 7종의 페놀 화합물 모두 검량선의 상관계수 R^2이 0.99 이상의 양호한 직선성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0049] 3-3. 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) 분석

[0050] 상기 7종의 페놀 화합물의 검출한계(이하 LOD라 함) 및 정량한계(이하 LOQ라 함)를 확인하기 위해, 상기 7종의 페놀 화합물 표준용액을 적정 농도로 희석하면서 분석하였을 때, 크로마토그램상에서 신호 대 잡음 비(S/N ratio)가 10 이상인 LOD 및 신호 대 잡음 비가 3.3 이상인 LOQ을, 정밀성이 20% 이하이며 정확성이 80~120%인

조건을 만족하는 농도로 설정하였다. 7종의 페놀 화합물 표준용액을 적정 농도로 희석하면서 분석한 결과, 표 3과 같이 나타나는 것을 확인하였다.

표 3

[0051]

분석물	표준용액			
	Range (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
프로토카테츄산	0.31~20	1	0.04	0.13
프로시아니딘 B1	0.78~50	1	0.16	0.49
프로시아니딘 B3	0.31~20	0.9999	0.10	0.29
카테킨	0.78~50	1	0.09	0.28
페룰산	0.08~5	1	0.01	0.02
텍시폴린	0.78~50	1	0.04	0.11
퀘세틴	0.08~5	1	0.02	0.05

[0053] 3-4. 정확성(Accuracy) 및 정밀성(Precision) 분석

[0054] 상기 7가지 페놀 화합물의 정확성 및 정밀성을 확인하기 위해, 7가지 페놀화합물의 함량을 알고있는 송피 추출물에 이미 농도를 알고 있는 표준물질을 저농도, 중간농도 및 고농도로 각각 첨가하였다. 일내(Intra-day) 정밀성 및 정확성을 확인하기 위해, 하루에 3회 반복하여 HPLC로 분석하였으며, 일간(Inter-day) 정밀성 및 정확성을 확인하기 위해, 3일간 반복하여 HPLC로 분석하였다. 정확성은 회수율을 구함으로써 확인하였고, 검량선을 통해 구한 정량 농도의 평균값을 기지농도로 나눈 비의 백분율로 산출하였다. 정밀성은 각 결과값의 표준편차를 결과값의 평균으로 나눈 비인 상대표준편차(%, RSD)로 일내 및 일간 정밀성을 산출하였다. 그 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 7종의 페놀 화합물의 일내 정확성은 회수율 97.51~ 103.59%, 일간 정확성은 97.29~102.04%로 나타나 100±10% 내의 회수율을 보임으로써 분석방법에 문제없음을 확인하였다. 또한, 7종의 페놀 화합물의 일내 정밀성은 RSD(%) 0.24~3.10%, 일간 정밀성 RSD(%) 1.04~3.95%로 나타나 신뢰 구간을 고려할 때 5% 이하로 분석법의 오차가 신뢰할 수 있는 수준이며 분석방법에 문제없음을 확인하였다.

표 4

[0055]

분석물		SC(μg/mL)	Found (μg/mL) (mean±SD)	RSD(%)	Recovery(%)
프로토카테츄산	Intra-day	1	1.02 ± 0.02	2.25	101.82
		2	1.97 ± 0.05	2.63	98.35
		3	3.03 ± 0.05	1.51	100.93
	Inter-day	1	1.00 ± 0.03	3.00	100.18
		2	1.97 ± 0.04	2.22	98.41
		3	2.96 ± 0.07	2.43	98.80
프로시아니딘 B1	Intra-day	2	1.99 ± 0.03	1.64	99.39
		4	3.90 ± 0.08	2.07	97.51
		6	6.10 ± 0.08	1.25	101.69
	Inter-day	2	1.98 ± 0.05	2.27	99.20
		4	3.92 ± 0.07	1.77	97.95
		6	5.97 ± 0.12	1.96	99.45
프로시아니딘 B3	Intra-day	1	0.99 ± 0.01	1.14	99.17
		2	2.01 ± 0.06	3.10	100.54
		3	3.01 ± 0.05	1.60	100.44
	Inter-day	1	0.97 ± 0.04	3.95	97.29
		2	1.98 ± 0.05	2.72	99.20
		3	2.98 ± 0.07	2.32	99.20

카테킨	Intra-day	3	3.00 ± 0.09	2.84	99.90
		6	6.03 ± 0.11	1.86	100.43
		9	9.32 ± 0.18	1.94	103.59
	Inter-day	3	3.01 ± 0.09	3.14	100.40
		6	5.97 ± 0.14	2.34	99.53
		9	9.14 ± 0.20	2.14	101.57
페룰산	Intra-day	0.2	0.20 ± 0.00	2.04	102.13
		0.4	0.40 ± 0.01	1.80	99.97
		0.6	0.60 ± 0.01	1.17	100.16
	Inter-day	0.2	0.20 ± 0.00	1.26	102.04
		0.4	0.40 ± 0.01	2.64	99.75
		0.6	0.60 ± 0.02	2.69	99.70
텍시폴린	Intra-day	3	2.98 ±0.03	1.10	99.28
		6	6.00 ± 0.03	0.47	100.02
		9	8.96 ± 0.03	0.33	99.54
	Inter-day	3	3.01 ± 0.08	2.62	100.39
		6	5.96 ± 0.07	1.19	99.35
		9	8.86 ± 0.09	1.04	98.44
퀘세틴	Intra-day	0.2	0.20 ± 0.00	1.21	100.95
		0.4	0.41 ± 0.00	0.24	102.80
		0.6	0.62 ± 0.01	0.82	102.62
	Inter-day	0.2	0.20 ± 0.00	1.78	99.36
		0.4	0.40 ± 0.01	2.97	99.80
		0.6	0.60 ± 0.02	2.72	99.59
SC = Spiked Concentration					

[0057] **[실시예 4] 송피 추출물의 7종의 페놀 화합물 함량 분석**

[0058] 송피 추출물의 페놀 화합물 평균 함량을 상기 분석방법으로 분석하였다. 실험은 3회 반복 수행하여 평균 함량을 산출하였다. 그 결과, 표 5에 나타난 바와 같이, 각 페놀 화합물의 평균 함량은 프로토카테츄산은 3.07mg/g, 프로시아니딘 B1은 8.20mg/g, 프로시아니딘 B3은 3.77mg/g, 카테킨은 10.51mg/g, 페룰산은 1.00mg/g, 텍시폴린은 9.89mg/g 및 퀘세틴은 0.61mg/g로 나타나는 것을 확인하였다.

표 5

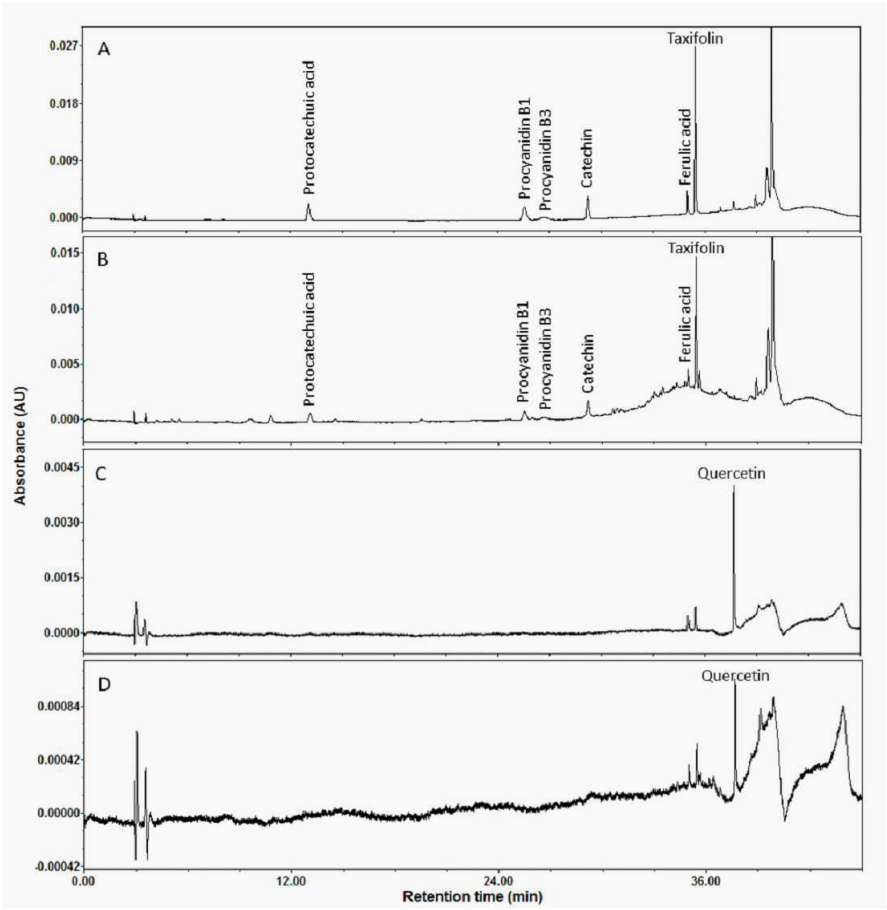
[0059]

분석물	농도(mg/g) (mean±SD)	RSD(%)
프로토카테츄산	3.07 ± 0.09	2.84
프로시아니딘 B1	8.20 ± 0.07	0.88
프로시아니딘 B3	3.77 ± 0.16	4.14
카테킨	10.51 ± 0.09	0.85
페룰산	1.00 ± 0.01	0.68
텍시폴린	9.89 ± 0.03	0.34
퀘세틴	0.61 ± 0.02	2.52

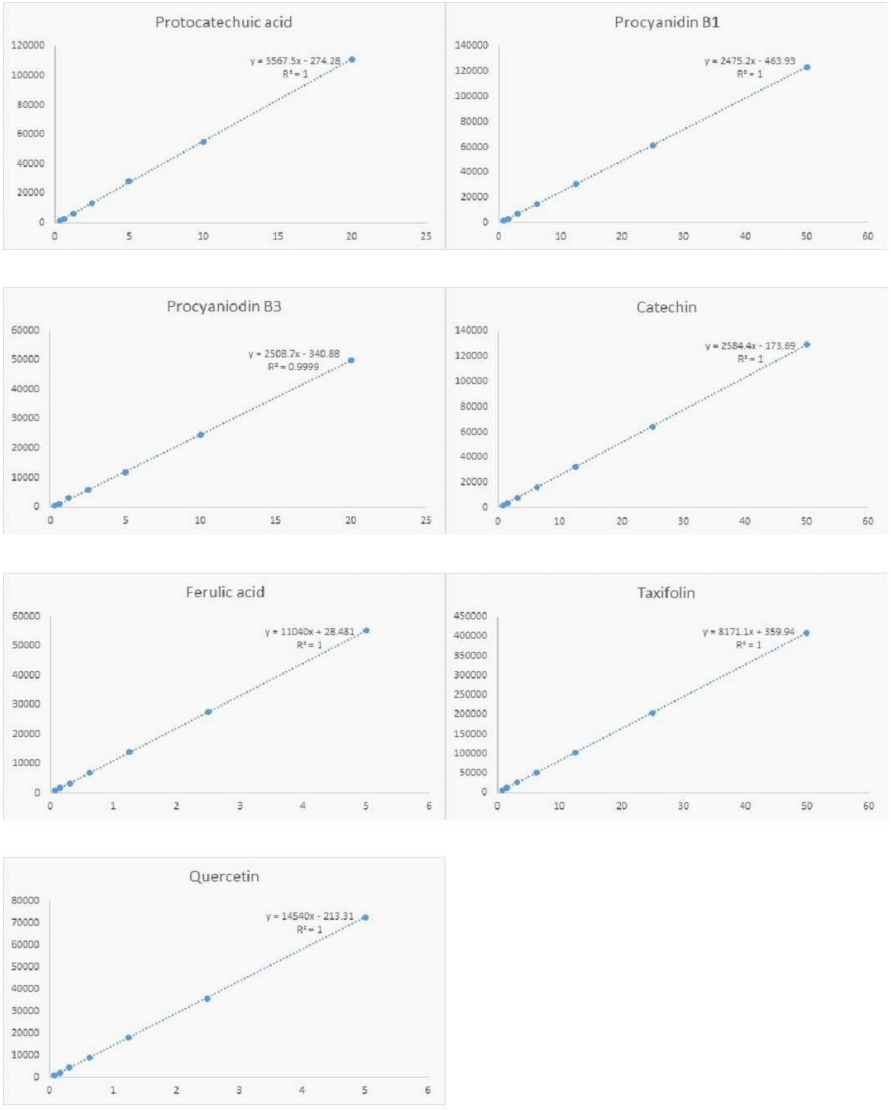
[0061] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

도면

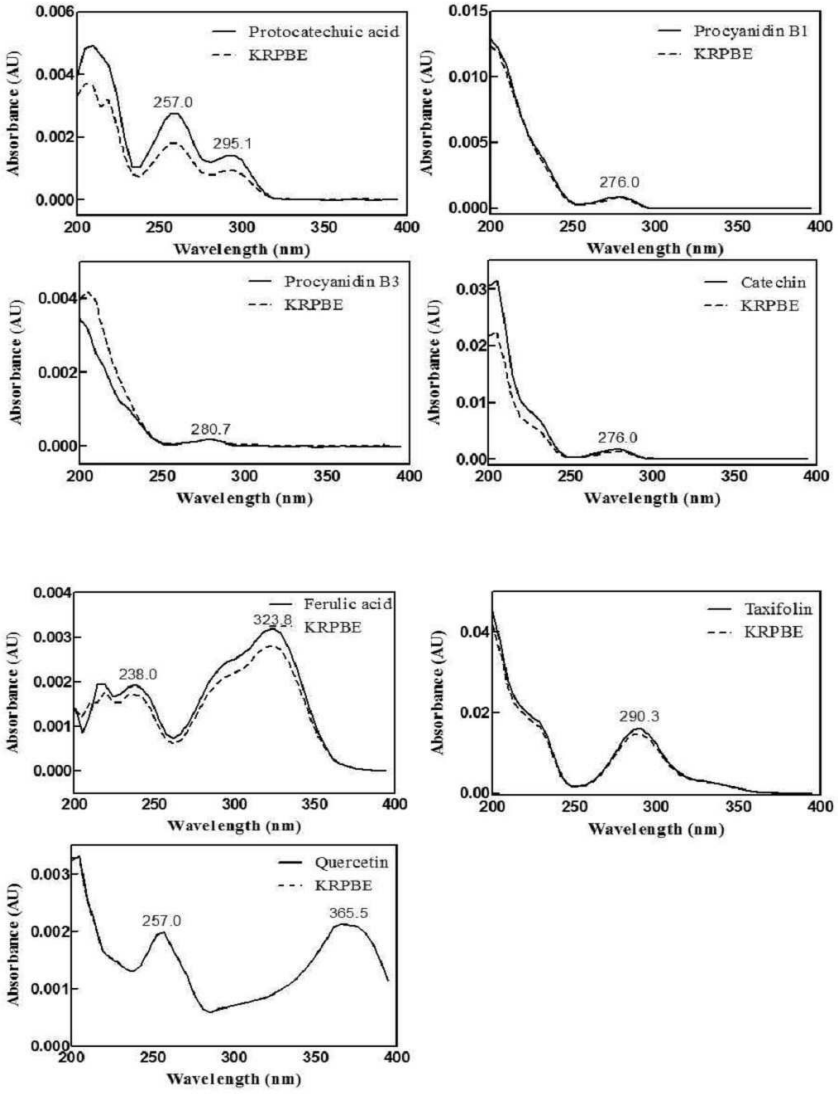
도면1


A
B
C
D
Protocatechuic acid
Procyanidin B1
Procyanidin B3
Catechin
Ferulic acid
Taxifolin
Quercetin
Absorbance (AU)
Retention time (min)
0.00
12.00
24.00
36.00

도면2


Protocatechuic acid
y = 5567.5x - 274.28
R² = 1
Procyanidin B1
y = 2475.2x - 463.93
R² = 1
Procyaniodin B3
y = 2508.7x - 340.88
R² = 0.9999
Catechin
y = 2584.4x - 173.69
R² = 1
Ferulic acid
y = 11040x + 28.481
R² = 1
Taxifolin
y = 8171.1x + 359.94
R² = 1
Quercetin
y = 14540x - 213.31
R² = 1

도면3


Protocatechuic acid
KRPBE
257.0
295.1
Absorbance (AU)
Wavelength (nm)
Procyanidin B1
KRPBE
276.0
Procyanidin B3
KRPBE
280.7
Catechin
KRPBE
276.0
Ferulic acid
KRPBE
323.8
238.0
Taxifolin
KRPBE
290.3
Quercetin
KRPBE
257.0
365.5