



국산 건대추의 외형 등급별 품질특성 연구

방미희¹ · 유혜영² · 배봉석³ · 박철수⁴ · 한민우^{5*}

Studies on Physicochemical Characteristics for Quality Control of *Zizyphi Fructus* by Appearance Grade

Mi Hui Bang¹, Hye Young Yu², Bong Seok Bae³, Chol Su Park⁴ and Min Woo Han^{5*}

ABSTRACT

Received: 2020 March 19
1st Revised: 2020 April 14
2nd Revised: 2020 September 23
3rd Revised: 2020 November 9
Accepted: 2020 November 9

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: The purpose of this study was to analyze the applicability of dried jujube (*Zizyphi Fructus*) distributed by size as a functional food material and herbal medicine by evaluating its physicochemical characteristics and betulinic acid content.

Methods and Results: It was shown that the carbohydrate content of in jujube fruit significantly increased with fruit size; 81.42% for large, 79.83% for medium, and 76.39% for small. Similarly, the dilute ethanol extract content of each group was 72.48% (large), 69.56% (medium), and 64.16% (small). A free sugar analysis indicated that glucose, fructose and sucrose were found in quantities proportional to jujube fruit size, the total free sugar values were 68.85%, 63.93%, and 57.37% for large, medium, and small fruit sizes respectively. The betulinic acid content for large, medium, and small fruit was 0.50 mg/g, 0.54 mg/g, and 0.58 mg/g respectively, indicating that smaller jujube contained a higher amount of betulinic acid.

Conclusions: It is considered that betulinic acid content could be used as a criteria for jujube fruit quality control.

Key Words: *Zizyphus jujuba* var. *inermis* (Bunge) Rehder, Betulinic Acid, Quality Control

서 언

대추 (*Zizyphi Fructus*)는 갈매나무과 (Rhamnaceae)에 속하는 대추나무(*Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis*)의 열매로서 국내에서 식용 또는 약용으로 쓰이고 있는 생약재이다. 대추나무 속에는 대추나무 (*Z. jujuba* var. *inermis* (Bunge) Rehder), 뫇대추나무 (*Z. jujuba* Mill), 야생대추나무 (*Z. spinachrisi* L.) 등 40 여종이 보고되어 있으며, 유럽 남서부, 인도, 중국, 한국 등 주로 온대지역에 분포하고 있다 (Park *et al.*, 2008). 그리고 전통적으로 약재 또는 과실의 한 종류로 널리 사용되어왔으며 강장작용, 이뇨제, 견인통, 근육급박증상, 신체동통, 종통 등의 완화제로 쓰였다. 또한 담즙증, 만성기관지염, 거담제, 결핵, 위의 허한증, 신경쇠약 치료효과 등의 효

능이 있다고 하며 혈압강하, 배뇨촉진, 항염증제 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다 (Kwon *et al.*, 1997).

대추의 주성분은 당으로 생대추는 과중의 24% - 31%, 건조대추는 58% - 65% 정도가 함유되어 있으며, 구성당은 주로 fructose, glucose, sucrose이며 당 외에 아미노산, 비타민 C 및 지방산 등이 보고되어 있다 (Ann *et al.*, 1997). 그 외 성분으로는 pentacyclic triterpenoid 계로 oleanolic acid, maslinic acid, betulonic acid, betulinic acid 및 aliphatic acid 등이 있으며(Bae *et al.*, 1996), dammarane triterpenoid 계로 zizyphus saponin I, II, III, jujuboside B 등이 있으며, benzylalcohol glycosides계로 zizybeoside I, II 등이 보고되었고, vomifoliol glycoside계로 vomifoliol, roseoside, zizyvoside I, II 등이 보고되어 있다 (Okamura *et al.*,

*Corresponding author: (Phone) +82-42-870-3047 (E-mail) greenman@kgc.co.kr

¹한국인삼공사 R&D본부 연구원 / Researcher, KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

²한국인삼공사 R&D본부 연구원 / Researcher, KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

³한국인삼공사 R&D본부 연구원 / Researcher, KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

⁴한국인삼공사 R&D본부 연구원 / Researcher, KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

⁵한국인삼공사 R&D본부 연구원 / Researcher, KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

1981). 이외에도 alkaloid 화합물로 lysicamine, nornuciferine 등이 보고되어 있고 (Han and Park, 1987). 기타 성분으로는 cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP) 등이 분리 보고되어 있다 (Cyong and Takahashi, 1982).

대추의 효능에 대한 연구로는 대추 열매와 잎의 클로로포름 (chloroform fraction), 부탄올 (*n*-butanol fraction), 물 분획물 (water fraction)을 이용하여 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) 라디칼 소거활성과 fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) 방법으로 항산화성을 측정 한 결과 높은 항산화 효과를 보였으며, 마우스 뇌 homogenata를 이용한 지질과산화 억제활성 측정결과 부탄올 추출물을 첨가한 시료에서 높은 지질과산화 억제활성 보였다 (Kim *et al.*, 2011). 또한 메탄올 추출물로부터 간세포의 괴사와 효소의 유출을 저해하고 간의 저항력 및 간 기능을 유지시키므로 간 보호기능을 할 수 있다는 보고가 있다 (Na *et al.*, 1996). 그리고 ethylacetate 분획물이 장내세균 유해효소인 β -glucuronidase 와 tryptophanase 활성에 미치는 효과를 조사한 결과 대추에 장내세균 기인성 유해효소를 억제하는 성분이 있어 대장암의 발암물질 생성을 낮추어주는 등 강력한 항암활성이 있다는 연구가 수행되었다 (Rhee *et al.*, 1998; Fulda, 2008). 이외에도 진정작용과 항염증 등에도 효능이 있는 것으로 알려져 있다 (Al-Reza *et al.*, 2010).

현재 유통되고 있는 대추는 주로 크기로 구분하여 유통되고 있으며, 별초, 특초, 상초로 구분되어 판매되고 있다. 현재 크기에 대한 기준은 보은황토대추연합회의 경우 외형기준은 왕별품, 왕특품, 별품, 특품, 상품, 중품으로 구분하고 있으며, 충북농업기술원에서는 특대, 대, 중, 소로 구분하는 것을 제안하고 있다 (CARES, 2017). 또한 '산림청 고시「임산물 표준규격」 등급규격 개선방안 연구'에서는 특, 상, 보통의 등급으로 나누어 선별하도록 하고 있다. 또한, 건대추의 경우 경산대추 (산림청공고 제 2007-2호), 보은대추 (산림청공고 제

2010-28호), 밀양대추 (산림청공고 제 2018-73호)에 대한 지리적 표시의 제각기 다른 기준이 제시되어 있다. 그러나 지역별로 자체적인 기준과 관행기준을 혼용하여 운영하고 있다 그러므로 본 연구를 통하여 대추의 외형기준에 따른 영양성분 및 지표성분의 특성을 조사하여 외형등급별 기준을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

실험에 사용한 시료는 국내 대추 (*Zizypui Fructus*)의 주산지인 경북 경산에서 생산되는 건대추를 일반적으로 산지에서 유통하는 외형기준인 별초, 특초, 상초 등급을 직접 생산자 (Gyeongsan, Korea)로부터 구매 하였다 (Fig. 1).

유통품은 국내 유통품으로 대구약령시, 금산약령시에서 유통되는 국내산 별초, 특초, 상초를 구입하여 연구에 사용하였다 (Table 1).

기기분석에 사용된 용매는 HPLC급 (Merck, Darmstadt, Germany)을 구입하여 사용하였다. 정량에 사용되는 betulinic acid 표준품은 Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

Table 1. Sample information for analysis.

Sample No.	Area	Sample No.	Area
1		9	
2		10	Deagu market
3		11	
4	Gyeongsan	12	
5		13	Geumsan market
6		14	
7	15		
8			

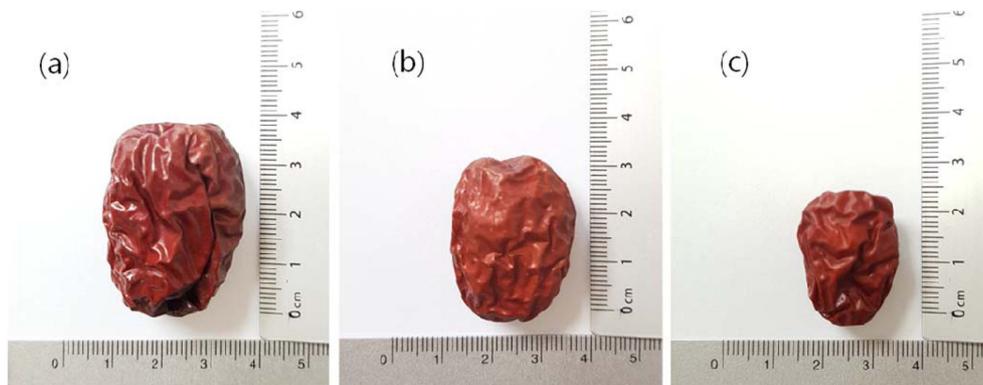


Fig. 1. Photographs of (a) large jujube, (b) medium jujube, (c) small jujube.

2. 수분함량

건조감량시험은 수분함량 측정은 AOAC법 (AOAC, 2005)에 준하여 분석하였으며, 미리 가열하여 항량한 칭량접시에 시료 3 g - 4 g을 정밀히 달아 105°C에서 5 시간 건조한 후 데시케이터에 옮겨 약 30 분간 식힌 후 수분함량을 계산하였다.

3. 회분

회분시험은 대한민국약전 일반 시험법 중 생약시험법에 따라 시험하였다(MFDS, 2014), 대추가루를 도가니에 넣고 회화로 (Wise Therm Digital Muffle Furnace F-05, Daehan Scientific Co., Wonju, Korea)와 mechanical convection VS-1202DS3 (Vision Scientific Co., Daejeon, Korea)에 옮겨 600 ± 25°C에서 5 시간 - 6 시간 가열하여 백색 및 회백색의 회분이 얻어질 때 까지 가열하였다. 회화가 끝난 후 그대로 식혀 온도가 약 200°C로 되었을 때 데시케이터에 옮겨 식힌 후 칭량하여 회분함량을 계산하였다.

4. 조지방

조지방 함량분석은 AOAC법에 준하여 soxhlet법으로 분석하였으며 여과지에 시료 2 g을 정밀히 달아 미리 항량 시킨 수기에 넣은 후 ether를 넣고 조지방 추출장치 (Soxtherm-416, Gerhardt, Königswinter, Germany)에서 3 시간까지 추출하였다. 추출이 끝난 후 수기를 분리하여 원통여과지를 꺼내고 수기를 dry oven에 넣어 건조한 후 데시케이터에 옮겨 식힌 후 칭량하여 조지방 함량을 계산하였다.

5. 조단백

조단백질 분석 (Kjel digester K-446, BUCHI, Flawill, Switzerland)은 단백질 분석기를 이용하여 분석하였으며, 분해용 tube에 시료 0.3 g을 정밀하게 취하여 넣고 여기에 황산 칼륨과 황산구리를 9 : 1로 섞은 분해촉진제와 진한 황산 12 ml 을 넣어 420°C의 분해장치에서 45 분 - 60 분간 분해하여 분해액의 색이 투명한 연푸른색이 되면 상온에서 냉각시켰다.

냉각된 분해액을 조단백질 자동분석장치 (Kjel master K-375, BUCHI, Flawill, Switzerland)를 이용해 증류 및 적정과정을 거쳐 질소의 양을 구하여 이에 질소 계수를 곱하여 조단백질의 함량을 계산하였다. 그리고 탄수화물 함량은 시료 전체를 100%로 하여 수분, 조회분, 조지방 및 조단백질의 함량 (%)을 감하여 탄수화물의 함량 (%)으로 하였다.

6. 유리당

유리당 함량 분석은 시료 0.1 g을 conical tube에 넣은 후 증류수 10 ml을 첨가하여 초음파세척기 (WUC-D03H, Daihan

scientific Co., Wonju, Korea)에 넣어 30 분간 초음파 추출한 후 3,000 rpm에서 10 분간 원심분리 (Avanti J-15, Beckman Coulter, Nyon, Switzerland)하였다. 원심분리 후 얻어진 상정액을 취하여 희석한 후 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 유리당 분석용 시험용액으로 사용하였다.

유리당 분석을 위한 표준물질은 galactose, fructose, glucose, sucrose, lactose, maltose (Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, MO., USA)를 사용하였으며, 증류수로 단계별로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 유리당 분석은 pulsed amperometric detector (PAD)가 연결된 high-performance anion exchange chromatography (HPAEC, Dionex ICS-5000 system, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하였으며, 컬럼은 carbo-pac PA1 (3 mm × 250 mm, Thermo Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA)를 사용하였으며, 분석조건은 Table 2과 같은 조건으로 분석하였다 (Park et al., 2008).

7. 엑스함량

엑스함량시험은 대한민국약전 일반시험법 중 생약시험법, 50%로 희석된 묽은에탄올엑스시험법에 따라 시험하였다 (MFDS, 2014). 대추 열매의 가루 시료 약 2 g - 3 g을 칭량하여 플라스크에 묽은 에탄올 70 ml 을 넣어 흔들어 섞어 주면서 5 시간 침출하였다. 다시 16 시간 - 20 시간 방치한 다음 여과하여, 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때

Table 2. High performance anion exchange chromatography analytical condition for analysis of free sugars.

Instrument	Thermo Scientific ICS-5000 system	
Detector	PAD (pulsed amperometric detector),	
Column	CarboPac PA1 (3 mm × 250 mm)	
Column temp.	30°C	
Sample temp.	10°C	
Injection volume	10 μl	
Flow rate	1.0 ml/min	
Mobile phase	Solvnet A Distilled Water Solvent B 250 mM NaOH in Distilled Water	
Gradient system	Time (min)	Solvnet A
	0	95
	18	95
	30	68
	35	50
	36	100
	45	100
	46	5
	60	5

까지 50%로 희석된 묽은에탄올로 씻었다.

여액 50 ml를 water bath에서 증발건고하고 105°C에서 4 시간 건조하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 질량을 정확히 칭량하고 2를 곱하여 50%로 희석된 묽은에탄올엑스의 양으로 계산하였다.

8. Betulinic acid 정량

건조된 대추 열매의 씨를 제거한 후 과육과 껍질 부분으로 나눈 것과 별초, 특초, 상초로 나누어 각각 betulinic acid을 정량하였다. 추출 방법은 가루 약 1 g을 100% 메탄올 50 ml를 넣고 1 시간 초음파 추출한 다음 0.45 µm, syringe filter로 여과하여 검액으로 하였다. 그리고 betulinic acid 표준품 약 10 mg을 100%, 메탄올 100 ml에 녹인 다음 10 ml을 취하여 100%, 메탄올을 첨가하여 10 ml으로 맞춘 용액을 표준검액으로 하였다. 이렇게 만들어진 검액과 표준검액을 HPLC에 10 µl씩 주입하여 분석하였다. 이때 컬럼은 capcell pak C18 5 µm, 4.6 mm × 250 mm (Osaka SODA, Osaka, Japan)을 사용하여 분리하였다 (Table 3).

Table 3. Ultra performance liquid chromatography analytical condition for analysis of betulinic acid.

Instrument	Waters AcQuity System	
Detector	UV 210 nm	
Column	Sunzell C18 (100 mm × 2.1 mm, 2 µm)	
Column temp.	40°C	
Sample temp.	25°C	
Injection volume	2 µl	
Flow rate	0.3 ml/min	
Mobile phase	Solvnet A 0.1% Phosphoric acid Solvent B Acetonitrile	
Gradient system	Time (min)	Solvnet A
	0	60
	15.0	65
	16.0	90
	18.0	90
	18.1	60
	20.0	60

Table 4. Specification of dried jujube samples used in the study.

Components	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)
Length (mm)	34.43±2.19 ^a	29.44±1.82 ^b	25.54±2.17 ^c
Weight (g)	5.58±0.93 ^a	3.43±0.39 ^b	2.21±0.30 ^c

All values are expressed as means ± SD (n = 150). ^{a-c}Values with different superscripts within the row are significantly different at 5% based on Duncan's multiple range test (DMRT, $p < 0.05$).

9. 통계분석

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 사용하여 통계분석을 하였으며, *t*-test와 ANOVA를 이용하여 실험결과의 유의성을 검정하였다 ($p < 0.05$). 사후검정으로 는 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)를 사용하여 실험군 간의 차이를 분석하였다.

또한 betulinic acid 함량기준 제안방법으로 상대표준편차 (relative standard deviation, RSD)의 크기로 구분하여 산출하는 방식을 선택하였다. 생약재는 개체간의 편차가 크므로 분석값의 RSD에 따라 50%를 기준으로 구분하여 이상치를 제외한 신뢰구간으로 산출하였다. RSD가 50%보다 작은 경우는 전체 평균 (M)과 표준편차 (s)를 구하고, 분석 값의 위아래 5% 씩 제한 범위인 $M \pm 1.645 s$ 안의 값만 취하고 (총 분석 값들의 90%), 이 분석값의 평균 (M') 및 표준편차 (s')를 구하여 $M' \pm 1.96 s'$ 로 기준을 정하였다. 또한 RSD가 50%보다 큰 경우는 전체 평균 (M)과 표준편차 (s)를 구하고, 분석값의 위아래 17%를 제거한 범위인 $M \pm s$ 안의 값만 취하고 (총 분석값들의 66%), 이 분석값의 평균 (M') 및 표준편차 (s')를 구하여 $M' \pm 1.645 s'$ 로 기준을 정하였다.

생약 및 시험항목의 특성과 적용 시 부적합률, 국내외 기준 규격 등을 토대로 종합적 판단을 통하여 기준규격을 제안하였다.

결과 및 고찰

1. 등급별 외형

각 시료 별 100 g 씩, 10 개의 개체를 취하여 대추 (Zizypui Fructus)의 길이와 무게를 측정하여 Table 4에 나타내었다. 별초의 경우 길이는 34.43 mm, 특초의 길이는 29.44 mm, 상초의 길이는 25.54 mm로 측정되었다. 무게는 별초는 5.58 g, 특초는 3.43 g, 상초는 2.21 g으로 측정되어 대추의 등급별 길이와 무게에 유의적인 차이가 있었다 ($p < 0.05$).

2. 일반성분

대추의 크기에 따른 일반성분을 분석한 결과는 Table 5에 나타내었다. 조지방 함량은 별초는 2.70%, 특초는 3.04%, 상초는 3.37%로 나타났으며, 조지방 함량은 별초가 0.80%, 특초

가 1.74%, 상초가 2.01%로 나타났다. 특초와 상초는 조회분과 조지방 함량에 유의적 차이가 없었다 ($p < 0.05$). 조단백질 함량 또한 별초가 7.12%, 특초가 6.38%, 상초가 8.62%로 유의적 차이는 없었다. 그러나 탄수화물의 함량은 대추 별초, 특초, 상초가 각각 81.42%, 79.83%, 76.39%로 크기별로 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다 ($p < 0.05$).

3. 엑스함량

현재 대추의 지표성분이 설정되어 있지 않아 간접함량 방법인 엑스함량을 측정을 실시하였으며, 별초의 엑스함량이 72.48%로 가장 높았고, 특초는 69.56%, 상초는 64.16%의 함량으로 Table 6에서 보는 바와 같았다. 대추의 크기별 묶은 에탄올 엑스함량에서 유의적인 차이를 보였다 ($p < 0.05$).

4. 유리당 함량

유리당 분석은 glucose, fructose, sucrose, galatose, lactose, maltose의 총 6 종을 분석하였으며, 건대추에서 glucose, fructose, sucrose 3 종이 검출되었고, galatose, lactose, maltose는 검출되지 않았다. Glucose, fructose, sucrose와 같은 당당류와 이당류는 과일과 채소의 품질을 결정하는 중요한 성분이다.

대추의 크기에 따른 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 7

에 나타냈으며, sucrose 함량의 경우 별초가 24.87 mg/g, 특초가, 25.32 mg/g으로 glucose와 fructose 함량 보다 높았다. 상초의 경우는 sucrose 함량이 18.34 mg/g, fructose 함량이 19.23 mg/g 그리고 glucose 함량이 19.80 mg/g으로 세성분의 함량이 유사하였다. 또한 총 유리당 함량은 별초가 68.85%로 가장 높았으며, 특초는 63.93%, 상초는 57.37%로 대추의 크기별로 유의적인 차이를 보였다 ($p < 0.05$).

5. Betulinic acid 함량

대추의 betulinic acid 분석법을 검증하기 위하여 식품의약품 안전처에서 고시한 ‘기능성 원료 인정을 위한 제출자료 작성 가이드라인’에 따라 (MFDS, 2018) validation을 수행하였으며, 특이성 (specificity), 직선성 (linearity), 검출한계 (LOD; limit of detection), 정량한계 (LOQ; limit of quantization), 정밀성 (precision) 및 정확성 (accuracy)을 수행하였다.

5.1. 특이성 (Specificity)

시험용액과 표준용액의 R.T. (retention time)과 UV 흡수파장 스펙트럼 각각 비교하여 특이성을 확인한 결과 피크의 머무름 시간이 9.5 분으로 동일한 것을 확인하였으며, 해당 피크의 UV 흡수파장 스펙트럼 패턴이 서로 일치한 것을 확인하였다 (Fig. 2).

Table 5. Comparison of the general component contents according to dried jujube size. (Unit: %)

Components	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)
Crude ash	2.70±0.16 ^a	3.04±0.30 ^b	3.37±0.22 ^c
Crude fat	0.80±0.39 ^b	1.74±0.99 ^a	2.01±0.99 ^a
Crude protein	6.38±0.82 ^c	7.12±0.57 ^b	8.62±0.67 ^a
Carbohydrate	81.42±1.29 ^a	79.83±1.03 ^b	76.39±1.29 ^c

All values are expressed as means ± SD (n = 15). ^{a-c}Values with different superscripts within the row are significantly different at 5% based on Duncan's multiple range test (DMRT, $p < 0.05$).

Table 6. Comparison of the extract contents according to dried jujube size. (Unit: %, dry basis)

Components	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)
Extract content	72.48±2.32 ^a	69.56±2.03 ^b	64.16±3.82 ^c

All values are expressed as means ± SD (n = 15). ^{a-c}Values with different superscripts within the row are significantly different at 5% based on Duncan's multiple range test (DMRT, $p < 0.05$).

Table 7. Comparison of the free sugar contents according to dried jujube size and part. (Unit: %, dry basis)

Components	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)
Glucose	20.32±2.99	18.15±1.86	19.80±3.03
Fructose	23.66±3.65	20.47±2.80	19.23±2.51
Sucrose	24.87±6.20	25.32±3.14	18.34±7.16
Total	68.85±2.62 ^a	63.93±3.18 ^b	57.37±2.00 ^c

All values are expressed as means ± SD (n = 15). ^{a-c}Values with different superscripts within the samples of large, medium and small are significantly different at 5% based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$). *When compared with flesh samples significantly different at 5% based on *t*-test ($p < 0.05$).

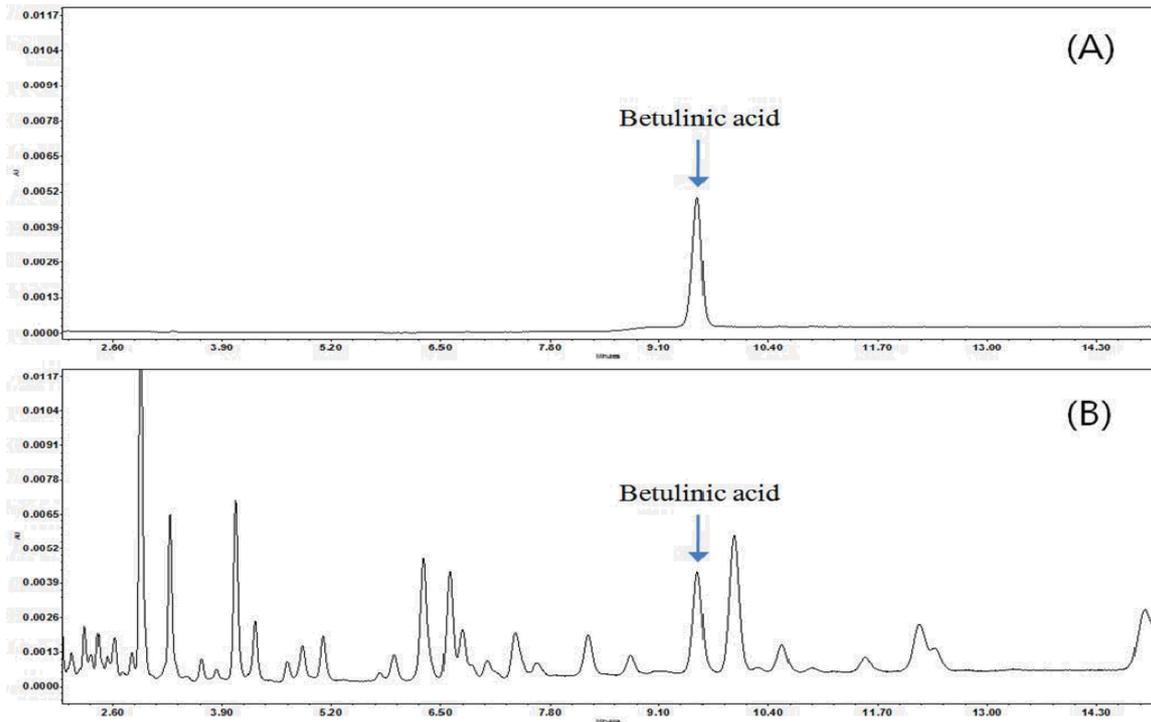


Fig. 2. Comparison of UPLC chromatogram of betulinic acid in standard (A) and dried jujube (B) (detector; UV 210 nm, column; Sencell C18, mobile phase; solvent A; 0.1% phosphoric acid in DW, solvent B; acetonitrile, gradient system; (0 - 15.0 min; 60% solvent B, 16.0 min; 90% solvent B, 18.0 min; 90% solvent B, 18.1 min; 60% solvent B, 20.0 min; 60% solvent B), column temperature; 40°C, injection volume; 2 μ l, flow rate; 0.3 ml/min).

5.2. 직선성 (Linearity)

대추의 betulinic acid에 대하여 2.25 μ g/ml - 144.26 μ g/ml의 농도 범위에서 검량선을 작성하였으며, 검량선의 결정계수 (R^2)가 0.999 이상으로 $y = 2.124x + 0.997$ 이었다 (Fig. 3).

5.3. 정밀성 (Precision)

정밀성은 반복성 (repeatability)과 재현성 (reproducibility)을 확인하였으며, 반복성은 시료의 양을 0.5 g, 1.0 g, 1.5 g의 3개 수준으로 5회 반복 분석하여 측정된 betulinic acid 함량의 근접한 정도 (상대표준편차)를 구하였으며, 재현성은 실험일을 변동요인으로 주어 3일간 측정하여 얻어진 betulinic acid 함량의 근접한 정도를 구하였다. 반복성을 시험한 결과 측정값들의 상대표준편차 (%RSD)는 1.31%이며, 재현성의 상대표준편차 (%RSD)는 2.53%로 나타났다.

5.4. 정확성 (Accuracy)

회수율 평가를 위하여 표준물질 대신 대추분말 추출물을 농축시킨 대추농축액을 첨가하여 시험하였으며, 첨가한 대추농축액의 농도는 0.44 mg/g이었다. 시료 1g을 정밀히 취한 후 대추농축액을 0.5 ml (0.22 mg/g), 1.0 ml (0.44 mg/g), 1.5 ml (0.66 mg/g)의 3개 수준으로 첨가하였으며, 5회 반복 분

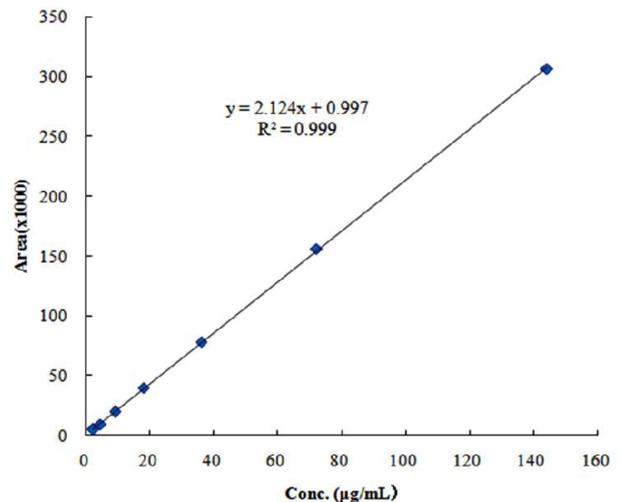


Fig. 3. Calibration curve of betulinic acid.

석하여 얻어진 함량의 회수율을 구하였다. 회수율은 96.0% - 98.7%로 나타났으며, 이 결과 값은 기능성 원료 인정을 위한 제출자료 작성 가이드라인에 고시된 기준 중 함량이 0.1% (1 mg/g)일 때의 기준 (회수율: 90% - 108%)을 만족하였다.

Table 8. Comparison of the betulinic acid contents according to dried jujube size and part. (Unit: mg/g, dry basis)

Components	Size			Part	
	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)	Peel	Flesh
Betulinic acid	0.50±0.03 ^c	0.54±0.03 ^b	0.58±0.03 ^a	1.00±0.09*	0.05±0.01

All values are expressed as means ± SD (n = 15). ^{a-c}Values with different superscripts within the samples of large, medium and small are significantly different at 5% based on Duncan`s Multiple Range Test (DMRT, *p* < 0.05). *When compared with flesh samples significantly different at 5% based on *t*-test (*p* < 0.05).

5.5. 검출한계 (LOD)와 정량한계 (LOQ)

Betulinic acid의 표준용액을 적정 농도로 희석한 뒤 3 회 반복 분석하였고, 검출한계와 정량한계는 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법을 사용하여 구하였으며, 검출한계 (LOD)는 0.24 µg/ml, 정량한계 (LOQ)는 0.74 µg/ml로 설정하였다.

대추의 betulinic acid의 함량을 분석한 결과 별초는 0.50 mg/g으로 가장 낮았고, 특초는 0.54 mg/g, 상초는 0.58 mg/g으로 대추의 크기에 따라 유의적인 차이를 보였다 (*p* < 0.05). 또한 대추 껍질에서 1.00 mg/g, 과육에서 0.05 mg/g으로 나타났다 (Table 8).

이러한 결과는 작약의 경우 유·거피근 및 코르크층에 함유된 생리활성인 성분인 albiflorin과 paeoniflorin의 함량이 껍질 부위인 코르크층에 가장 많이 함유되어 있다고 보고된바 있으며 (Choung, 2002). 사과 부위에 함유되어 있는 betulinic acid와 같은 pentacyclic triterpenoid 화합물 중 하나인 ursolic acid를 측정된 결과 과육 보다는, 껍질에서는 측정 되었다는 보고가 되어 있어 위와 같은 연구결과를 뒷받침하고 있다 (Lee *et al.*, 2018).

따라서 대추의 지표성분인 betulinic acid의 경우도 껍질부위에 많이 함유되어있는 것을 알 수 있었다. 그러므로 동일한 중량에 경우 개수가 많은 상초가 별초, 특초에 비하여 betulinic acid의 함량이 높게 측정 된것으로 판단된다. 그러나 대추 10 개당 betulinic acid 함량을 비교하면 계산하면 별초의 경우 betulinic acid의 함량이 27.19 mg/g, 특초의 경우 18.52 mg/g, 상초의 경우 12.81 mg/g으로 별초의 betulinic acid의 함량이 높을 것으로 나타났다.

6. Betulinic acid 함량 기준제안

건대추 중 betulinic acid 함량 기준치를 설정하기 위하여 상대표준편차에 따른 신뢰구간을 이용한 방법을 이용하여 기준을 도출하였다. Betulinic acid 함량 분석에서 분석된 값을 함량 기준치를 설정에 적용하였다. 분석시료들의 함량 결과가 정규분포를 따름으로 표준편차법을 사용하여 함량 기준을 설정하여, 건대추의 betulinic acid의 함량기준을 0.46 mg/g 이상으로 제안하였으며, 제안된 기준을 적용하였을 때 별초 중 2 개 시료가 기준치에 미달하여 4.4%의 탈락률을 보였다

Table 9. Betulinic acid contents in dried jujube. (Unit: mg/g, dry basis)

Samples	Byeol-cho (large)	Teuk-cho (medium)	Sang-cho (small)
1	0.51	0.52	0.57
2	0.51	0.51	0.57
3	0.54	0.50	0.53
4	0.48	0.62	0.56
5	0.52	0.56	0.57
6	0.47	0.60	0.53
7	0.51	0.52	0.65
8	0.46	0.51	0.61
9	0.51	0.54	0.60
10	0.44	0.54	0.62
11	0.44	0.51	0.56
12	0.49	0.51	0.55
13	0.52	0.53	0.59
14	0.51	0.56	0.60
15	0.52	0.53	0.58
Mean		0.54	
Stdev		0.05	
%RSD		8.81	

(Table 9).

본 연구의 결과를 통하여 대추의 관능적 특성에 영향을 주는 탄수화물과 유리당, 아미노산의 함량, human immunodeficiency virus (HIV)와 anti-inflammatory 작용이 (Lee *et al.*, 2004) 있다고 알려진 betulinic acid의 함량이 대추의 크기에 따라 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, betulinic acid의 함량이 대추의 껍질 부위에 많이 함유되어 있음을 확인할 수 있었다. 또한 대추의 품질관리를 위한 betulinic acid 함량기준을 제안하여 생약이나 기능성 소재로 사용하고자 할 때 품질 관리에 활용할 수 있을 것이라 생각된다.

REFERENCES

Al-Reza SM, Yoon JI, Kim HJ, Kim JS and Kang SC. (2010).

- Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. Food and Chemical Toxicology. 48:639-643.
- Ann YG, Kim SK and Shin CS.** (1997). Sugars in Korean jujube fruit and jujube fruit drink. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 10:314-319.
- Association of Official Analytical Chemists(AOAC).** (2005). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Tacoma, WA, USA. p.114-118.
- Bae KH, Lee SM, Lee ES, Lee JS and Kang JS.** (1996). Isolation and quantitative analysis of betulinic acid and aliphatic acid from *Zizyphi fructus*. Yakhak Hoeji. 40:558-562.
- Choung MG.** (2002). Variation of bioactive component contents in plant parts of *Paeonia lactiflora* Pall. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 10:392-398.
- Chungcheongbukdo Agricultural Research and Extension Services (CARES).** (2017). Jujube cultivation techniques. Chungcheongbukdo Agricultural Research and Extension Services. Cheongju, Korea. p.3-13.
- Cyong JC and Takahashi M.** (1982). Identification of guanosine 3':5'-monophosphate in the fruit of *Zizyphus jujuba*. Phytochemistry. 21:1871-1874.
- Fulda S.** (2008). Betulinic acid for cancer treatment and prevention: A review. International Journal of Molecular Sciences. 9:1096-1107.
- Han BH and Park MH.** (1987). Sedative activity and its active components of *Zizyphi fructus*. Archives of Pharmacal Research. 10:208-211.
- Kim IH, Jeong CH, Park SJ and Shim KH.** (2011). Nutritional components and antioxidative activities of jujube(*Zizyphus jujuba*) fruit and leaf. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 18:341-348.
- Kwon YI, Jung IC, Kim SH, Kim SY, Lee JS and Lee JS.** (1997). Changes in properties of pitted jujube during drying and extraction. Agricultural Chemistry and Biotechnology. 40:43-47.
- Lee KH, Yoon YJ, Kwon HW and Lee EH.** (2018). Antioxidant component and activity of different part extracts in apple(*Malus domestica* cv. Fuji). Korean Journal of Food and Nutrition. 31:858-864.
- Lee SM, Park JG, Lee YH, Lee CG, Min BS, Kim JH and Lee HK.** (2004). Anti-complementary activity of triterpenoides from fruits of *Zizyphus jujuba*. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 27:1883-1886.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS).** (2014). The Korean pharmacopoeia, General tests processes and apparatus. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. p.57-73.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS).** (2018). Guidelines for preparation of submission data for recognition of functional. Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. p.25-32.
- Na HS, Kim KS and Lee MY.** (1996). Effect of Jujube methanol extract on the hepatotoxicity in CCl₄-treated rats. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 25:839-845.
- Okamura N, Nohara T, Yagi A and Nishioka I.** (1981). Studies on the constituents of *Zizyphi fructus*. III. Structure of dammarane-type saponins. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 29:676-683.
- Park BH, Chae KY and Hong JS.** (2008). Physicochemical characteristics of Jujube concentrates prepared by boiling. Journal of the East Asian Society of Dietary Life. 18:190-197.
- Rhee YK, Kim DH and Han MJ.** (1998). Inhibitory effect of *Zizyphi fructus* on β -glucuronidase and tryptophanase of human intestinal bacteria. Korean Journal of Food Science and Technology. 30:199-205.