



# Validation of the HPLC Method for the Standardization of Pentagalloylglucose in *Paeonia lactiflora* Root Extract as a Functional Ingredient

Jung-A Lee<sup>1</sup>, In-Chul Lee<sup>2</sup>, Jung-Wook Kang<sup>3\*</sup>

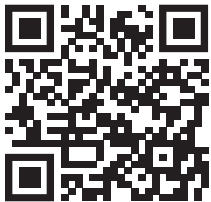
<sup>1</sup>Human Interface Media Center, Jeju National University, Jeju-si, Korea

<sup>2</sup>Department of Cosmetic Science and Technology, Seowon University, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do, Korea

<sup>3</sup>College of Fusion and Convergence, Seowon University, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do, Korea

\*Corresponding author: Jung-Wook Kang,  
College of Fusion and Convergence,  
Seowon University, 377-3, Musimseo-ro,  
Seowon-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-  
do, Korea  
Tel.: +82 43 299 8519  
Fax: +82 43 299 8683  
Email: jwkkang@gmail.com

Received October 05, 2023  
Revised December 04, 2023  
Accepted February 01, 2024  
Published March 30, 2024



## Abstract

**Purpose:** This study established a high-performance liquid chromatography (HPLC) method to standardize pentagalloylglucose as a marker compound in *Paeonia lactiflora* (*P. lactiflora*) root extracts. **Methods:** The analytical procedure for standardizing pentagalloylglucose was optimized using HPLC on a C18 column with a gradient elution of 0.1% trifluoroacetic acid and acetonitrile. The method was validated for specificity, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ), accuracy, and precision. **Results:** The method demonstrated high linearity, as evident from a correlation coefficient  $R^2$  of 0.9999. The LOD and LOQ were 0.92 and 2.78  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Recovery was determined to be in the range of  $101.15 \pm 0.49$ – $102.30 \pm 0.13$ , with the relative standard deviation (RSD) values between 0.12%–0.50%, indicating high accuracy. **Conclusion:** The research lays a foundation for the production of functional foods or cosmetics using pentagalloylglucose derived from *P. lactiflora* root extract.

**Keywords:** *Paeonia lactiflora*, Pentagalloylglucose, High performance liquid chromatography, Validation, Standardization

## Introduction

작약(*Paeonia lactiflora*)는 미나리재비과(*Ranunculaceae*) 작약속(*Paeonia*)에 속하는 허브로 한국, 중국 일본 등 동북아시아에 주로 재배되는 약재로 오랫동안 동양에서 보혈에 사용되어왔다. 작약은 색상과 형태가 다양한 꽃으로 인해 장식용으로 사용되고 있으며 뿌리는 방추형으로 길이가 약 20–30 cm 정도이고 굵기가 1–2 cm 정도로 약재로 사용된다(He & Dai, 2011; Li *et al.*, 2021). 작약으로 호칭되는 식물로서 *Paeonia lactiflora* Pall., *P. albiflora* Pall., *P. ovata* Maxim. 및 *P. japonica* Myabe et Takeda 등이 우리나라 전역에 야생하거나 재배되는 것으로 보고되고 있으며 현재 대부분 *P. lactiflora*이거나 변종으로 분류되고 있다고 보고되었다(Sung *et al.*, 2000). 작약은 전통적으로 복통, 고혈압 및 염증 등

에 치료제로 이용되었으며 항산화 항암 등의 기능성 효능효과를 가진 것으로 보고되었다(Park *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). 작약의 대표적인 성분인 paeoniflorin, oxypaeoniflorin, albiflorin, pentagalloylglucose, benzoyl paeoniflorin 등의 성분이 알려져 있으며 항염효과에 뛰어난 효능을 가지고 있는 물질로 제약, 화장품 및 식품에서 사용되어진다(Choumg *et al.*, 2003; Sung *et al.*, 2020).

천연물의 폴리페놀에 대한 정량적 분석에 대한 연구는 수 십년 동안 진화되었다(Inoue & Hagerman, 1988). 가수분해가 가능한 탄닌은 단백질과 유사한 상호작용을 하지만 구조적으로 생리학적 활성과 기능을 결정할 수 있다(Rira *et al.*, 2022). 식품 폐놀성 중합체 중의 한 종류인 갈로탄닌은 가수분해에 의해 다가가알코올과 갈릭산으로만 분해되는 에스터 계열의 화합물이다. 대표적인 갈로탄

닌 화합물인 pentagalloylglucose는 달맞이꽃 기능성식품 지표성분 뿐만 아니라 망고, 작약, 오배자 등에 함유되어 있는 것으로 보고되었다(Torres-León *et al.*, 2017). Pentagalloylglucose는 항균, 항암, 항바이러스 등의 질환의 치료에 약물로 유의한 효과가 보고되었으며, 특히 항산화, 항염 등의 화장품의 유효성분으로도 보고되었다(Feldman *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2022). 이는 수용체 단백질의 결합과 안정화의 영향 뿐만 아니라 막의 변형에 영향을 주면서 활성을 나타낸다고 알려졌다(Beretta *et al.*, 2011). 특히 달맞이꽃종자추출물은 pentagalloylglucose을 지표성분으로 식이보충에 유효한 기능을 가진 식품 원료로 개발되었다(Torres-León *et al.*, 2016).

화장품 및 건강기능식품에서 기능성 원료에 대해 관심이 높아지는 원료를 특정할 수 있는 표준화 작업이 요구된다(Han *et al.*, 2022; Kwon *et al.*, 2022). 자연 유래 원료들의 효능은 지속적으로 보고되고 있으며 high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography (GC) 등을 통해 단일 성분의 규명을 통해 입증되고 있다(Na *et al.*, 2016; Jung & Lee, 2022). 천연물에 기능성 성분을 추출하기 위해 용매 추출 및 초음파 등 추출조건에 따라 유효성분이 달라지기 때문에 목표 물질의 분리 및 설정을 위해 공정의 최적화는 필수적이다(Park *et al.*, 2022; Bezerra *et al.*, 2008; Jo & Choi, 2011). 일반적으로 지표성분을 확인하는 방법이 있으며 고시 외 화장품 및 건강기능식품으로 이용하기 위해 신규 원료를 지정할 때 지표성분을 설정하고 그 함량을 제시하도록 규정되어 있다. 규격은 association of official analytical chemists (AOAC) 등의 국내외 공인된 분석방법 또는 유효성이 검증된 분석법을 이용할 수 있으며 타당성 검토를 통해 확인한다(Han *et al.*, 2022). 청가시덩굴 추출물의 resveratrol과 trans-scirpusin A의 개발 및 검증을 통해 기능성 원료 표준화를 위한 분석법을 보고

하였으며 사군자추출분말의 quiscalic acid 성분의 분석법을 검증을 통한 표준화 연구가 보고되고 있다(Kwon *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2021). 이에 본 연구에서는 국내에서 재배되는 작약의 뿌리를 이용하여 pentagalloylglucose성분을 지표성분으로 설정하고 HPLC기기를 이용하여 최적의 분석법을 개발하고 유효성을 확인하였다.

## Methods

### 1. 작약 뿌리 추출물 제조

본 실험에서 사용된 작약 뿌리는 (주)토종마을에서 구입하였으며, 건조된 작약 뿌리 분쇄물 3 kg을 넣어 50°C에서 24 h 동안 추출하였다. 추출액을 상온으로 냉각 후 여과 및 농축하여 얻어진 농축액을 아세트산에틸 분획 후 감압농축 및 건조하여 분말로 제조한 시료를 약 2.5 g의 파우더를 수득하였다. 지표성분 분석을 위해 사용된 pentagalloylglucose는 Chemfaces (China)에서 구입 후 사용하였다.

### 2. 표준용액 조제

표준물질인 pentagalloylglucose의 제조는 Park *et al.* (2020)의 방법을 변형하였으며 구체적으로는 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 10 mL 용량 플라스크에 넣어 용해하였다. 표준원액을 희석하여 PTFE syringe filter (0.45 µm; Merck Millipore, USA)로 여과한 후 표준원액으로 사용하였다. 검량곡선 작성을 위해 단계적으로 희석하여 표준용액을 제조하여 HPLC 분석을 통해 pentagalloylglucose함량을 측정하였다.

**Table 1. Analysis of HPLC conditions for pentagalloylglucose**

Conditions	Conditions		
	A: acetonitrile B: 0.1% trifluoroacetic acid (v/v)		
	Time (min)	A	B
Solvent	-	80	20
	20	80	20
	25	0	100
	30	0	100
	31	80	20
	40	80	20
Column	Shim-pack GIS C18 (4.6 mm×250 mm, 5 µm)		
Flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	10 µL		
Oven temperature	40 °C		
Detector	PDA detector (280 nm)		

### 3. 시험용액 조제

작약 뿌리 추출물은 Park *et al.* (2022)의 추출방법을 변형하여 조제하였다. 작약 뿌리 추출물 5 mg을 정밀하게 달아 80% 메탄올 50 mL를 가하여 초음파 추출기를 통해 30 min 용해하였다. 시험용액을 PTFE syringe filter (0.45  $\mu$ m)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

### 4. HPLC 분석

Pentagalloylglucose 함량 분석은 Park 등의 방법을 변형하여 측정하였으며 액체크로마토그래피의 측정조건은 Table 1과 같다(Park *et al.*, 2020). 분석 컬럼은 shim-pack GIS C18 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m; Shimadzu, Japan)을 사용하였고 HPLC는 shimadzu nexera lite HPLC-PDA system을 사용하였다. 이동상 용매는 아세토니트릴(Acetonitrile, ThermoFisher, USA)과 0.1% 트리플루오로아세트산(trifluoroacetic acid, ThermoFisher, USA)이 함유된 초순수(water)를 사용하였으며 모든 용매는 사용 전 탈기 및 필터 여과 후 사용하였다. 분석 시간은 0에서 40 min까지 이동상을 조절하였으며 분석 시료는 10  $\mu$ L 주입하였다. 컬럼의 유속은 1.0 mL/min, 온도는 40  $^{\circ}$ C였으며 UV는 280 nm에서 측정하였다.

### 5. 시험방법의 검증

Pentagalloylglucose 분석법 확립은 AOAC 가이드라인등을 근거로 하여 지표성분의 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정확성(accuracy), 정밀성(precision) 분석을 통하여 검증을 실시하였다(Han *et al.*, 2022).

#### 1) 특이성

특이성은 분석 대상이 다른 성분들에 혼재되어 있을 때 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력으로 표준용액과 시험용액의 chromatogram을 통해 지표성분인 pentagalloylglucose의 동일한 peak, retention time 및 spectrum을 나타내는지 HPLC를 통해 확인하였다.

#### 2) 직선성

직선성은 표준용액을 이용하여 농도를 설정한 범위에 있는 분석 대상물질의 농도에 대해 직선적인 측정값을 얻어내는 능력으로 표준용액을 25–500 mg/L 범위로 설정하여 기울기, 상관계수, 등을 통해 평가하였다. 식품의약품안전처의 기능성 원료 인정 가이드라인의 반응 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 검출한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 확인하였다.

#### 3) 정확성

정확성은 측정값과 이미 알고 있는 표준값에 근접한 정도인지 확인하는 수치로 작약 추출물 5 mg에 표준용액을 첨가하고 전처리

진행하였다. 3회 반복 측정하여 지표물질의 회수율을 통해 정확성을 확인하였다.

#### 4) 정밀성

정밀성은 시험 용액을 10번 반복 측정하여 일내 반복정밀성(intra-assay precision)을 확인하였고 실험자와 실험일을 변경하여 분석 후 실험실내 정밀성(intermediate precision)을 평가하였다. 또한, 작약 추출물 시료량에 변화를 주어 농도별로 반복성 실험을 통해 정밀성을 평가하였다.

## Results and Discussion

### 1. Pentagalloylglucose 분석조건의 확립

작약 뿌리 추출물에 함유되어 있는 지표물질인 pentagalloylglucose을 확인하기 위해 분석법 확립을 위해 HPLC 분석에 필요한 컬럼, 이동상의 조성 및 UV 검출 파장을 최적화하고 이에 대한 분석법 검증을 진행하였다.

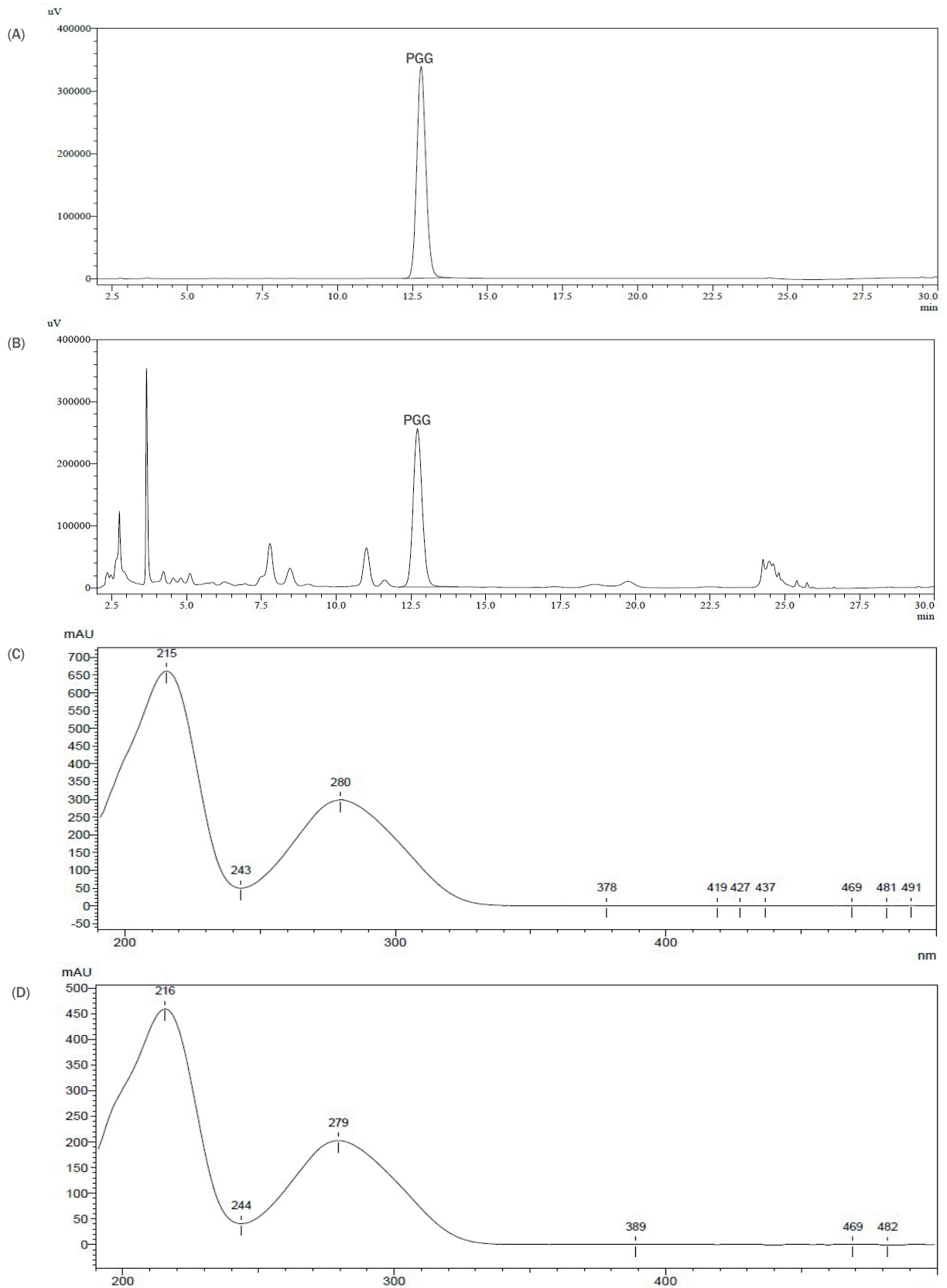
### 2. 특이성 확인

HPLC 조건으로 표준용액과 작약 뿌리 추출물의 시험용액을 크로마토그램을 비교하여 성분분리 여부를 확인하였다. 그 결과 다른 성분과 간섭없이 단일한 피크로 명확히 분리되었으며 표준용액의 피크유지시간(retention time, RT)과 시험용액의 RT가 일치하였다(Figure 1). 또한, 표준용액과 작약 뿌리 추출물의 PDA spectrum을 측정된 결과에서도 215–280 nm의 범위에서 동일한 spectrum을 나타내었다. 감국과 레몬그라스 천연물을 이용하여 지표성분의 분석 조건의 특이성 검증은 UV spectrum을 비교하여 일치함을 통해 확인하였다고 보고되었다(Kim & Leem, 2020). 본 연구에서도 pentagalloylglucose을 확인하기 위한 특이성이 있음을 확인하였다.

### 3. 직선성 확인

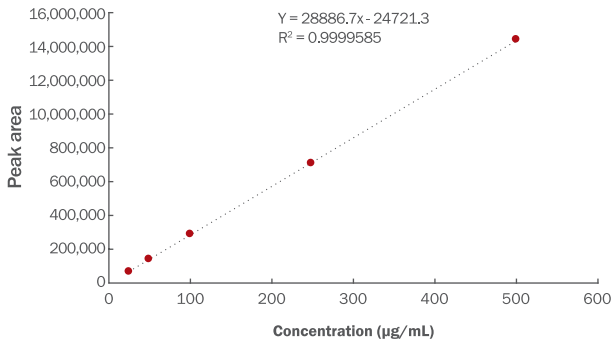
시험방법이 각 농도별로 단계적으로 조제한 표준용액을 HPLC로 분석하여 피크 면적비에 대한 농도비의 관계를 표시하는 표준검량선을 작성하였다. Pentagalloylglucose의 농도 대비 크로마토그램의 피크 면적을 변수로 하여 검량선 및 상관계수( $R^2$ )를 통해 직선성을 확인한 결과 1–500  $\mu$ g/mL의 농도범위에서 3회 분석하여 검량선의 상관계수는 0.9999이상의 높은 직진성을 나타내었다(Figure 2). 반복 측정된 검량선을 통해 도출된 검출한계는 0.92  $\mu$ g/mL, 정량한계는 2.78  $\mu$ g/mL로 나타났다. 선행 연구를 통해 기능성 원료 표준화를 위해 청가시덩굴 추출물의 resevertrol과 trans-scirpusin A 물질의 검량선 상관계수가 모두 0.9999로 우수한 직진성이 보고되었다(Kwon *et al.*, 2022). 이런 결과를 토대로 본 시험법은 직선성이 있음을 확인하였다.

# Validation of Pentagalloylglucose in *P. lactiflora* Root Extract



**Figure 1. HPLC chromatograms of pentagalloylglucose.**

(A) Standard solution, (B) *P. lactiflora* root extract, (C) Photodiode array spectra of pentagalloylglucose in standard solution, and (D) Photodiode array spectra of pentagalloylglucose in *P. lactiflora* root extract.



**Figure 2. Calibration curve of pentagalloylglucose in standard solution.**

**4. 정밀성 확인**

반복성 및 실험실 내 정밀성을 통해 확인하였으며, 반복성 시험은 조제한 시험용액을 10회 반복하여 분석한 결과 평균  $186.61 \pm 0.22\%$ 를 나타냈고 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 0.12%로 나타났다. 실험실 내 정밀성은 동일한 실험실에서 각각 다른 시험자와 실험일에 분석하여 얻은 측정값들 사이의 근접성을 확인하여 실험실 내 정밀성을 확인하였다. 그 결과 RSD가 0.12–0.30%로 확인되었다(Table 2).

**5. 정확성 확인**

지표성분인 pentagalloylglucose를 농도별로 시험용액을 조제하여 각 3회씩 분석한 결과 표준물질 회수율은 50 µg/mL의 농도에서는  $101.15 \pm 0.49\%$ , 100 µg/mL의 농도에서는  $101.71 \pm 0.50\%$ , 150 µg/mL의 농도에서는  $102.30 \pm 0.13\%$ 의 범위의 회수율을 보였으며 RSD는 0.12–0.50%로 나타나 본 시험법의 정확성을 확보하였다(Table 3). 정확성의 검증 시 분석성분 이외의 시료에 존재하는 기질의 영향을 고려하며 지표성분의 검출을 방해하거나 회수율에 영향을 준다고 보고되었다(Park *et al.*, 2020). 본 연구에서는 평균  $101.72 \pm 0.62\%$ 로 100% 회수율에 가까운 수치 통해 정확성을 확인하였다.

**6. 작약 뿌리 추출물의 pentagalloylglucose 함량**

본 시험에서 확립된 분석법을 이용하여 작약 뿌리 추출물의 pentagalloylglucose함량 분석을 진행하였다. 작약 뿌리 추출물에 대해 각 10 mg을 정밀하게 달아 80% 메탄올 50 mL를 가하여 용해 및 여과한 시험용액을 3회 반복 분석한 결과는 Table 4와 같다. 작약 뿌리 추출물 내 pentagalloylglucose의 함량은 약 12.49% 수준으로 함유되어 있었다. 이런 결과를 토대로 기능성 원료로서 작약 뿌리 추출물의 지표성분인 pentagalloylglucose의 분석이 가능함을 확인하였다.

**Table 2. Intra and interday variabilities of pentagalloylglucose**

	Precision	Pentagalloylglucose		
			Mean±SD	RSD (%)
Intraday	Variability	User A (n=10)	186.61±0.22	0.12
Interday	Variability	User A (n=5)	190.17±0.57	0.30
		User B (n=5)	181.24±0.53	0.29

**Table 3. Accuracy of HPLC analysis for pentagalloylglucose**

Parameters	Recovery (%)	
	Pentagalloylglucose	
Concentration (µg/mL)	Mean±SD	RSD (%)
50	101.15±0.49	0.49
100	101.71±0.50	0.50
150	102.30±0.13	0.12

RSD, relative standard deviation; Values for mean±SD is n=3.

**Table 4. Pentagalloylglucose content in the *P. lactiflora* root extract**

Lot No (n = 3)	Content (mg/g)		% (w/w)
	Mean±SD	RSD (%)	
1	125260±719.81	0.57	12.53
2	124385±1524	1.23	12.44
3	124925±1392	1.11	12.49



## Conclusion

본 연구에서는 작약 뿌리 추출물의 기능성 원료 개발을 위한 원료 표준화로 지표물질인 pentagalloylglucose의 HPLC 분석법을 확립하고 유효성을 검증하였다. Pentagalloylglucose분석은 HPLC 기기를 이용하여 0.1% trifluoroacetic acid와 acetonitrile용매를 이동상으로 하여 C18 역상 컬럼을 사용하여 280 nm파장에서 약 12 min에서 검출하였다. 표준용액과 시험용액의 농도별 검량선의 상관계수는 0.9999이상으로 나타나 높은 직선성을 확인하였으며, 검출한계는 0.92 µg/mL, 정량한계는 2.78 µg/mL로 나타났다. 반복성 시험에서 10회 반복한 RSD가 0.12%로 나타났으며 실험실 내 정밀성은 RSD가 0.12–0.30%로 확인되어 정밀성을 확인하였다. 또한, 정확성 분석을 위해 서로 다른 농도 3개를 선정하여 확인한 결과 RSD가 약 0.12–0.50%로 확인되었다. 결국 작약 뿌리 추출물의 pentagalloylglucose의 분석법을 확립하였으며 3회 반복 측정하여 약 12.49% 함유한 것으로 확인하였다. 본 시험법을 통해 작약 뿌리 추출물의 지표성분에 대한 식품의 개별인정형 원료 및 기능성 화장품 주성분 원료를 위한 pentagalloylglucose의 표준화를 위한 기초자료로 확인하였다. 추가적으로 기존 작약 뿌리 추출물에 함유되어 있는 성분들의 동시분석을 통해 유효 성분의 비교 검증을 통해 과학적으로 신뢰성이 있는 분석법 개발이 필요할 것으로 사료된다.

## Acknowledgements

본 연구는 2022년 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신 사업의 결과입니다 (재단관리번호: 2021RIS-001).

## Author's contribution

JA Lee, IC Lee: Methodology, Formal analysis, Conceptualization, Validation, Funding Acquisition. JW Kang: Conceptualization, Methodology, Supervision, Validation, Writing- Original Draft, Writing- Review & Editing, Funding Acquisition, Project administration. All authors read and confirmed the final version of the manuscript.

## Author details

Jung A Lee (Professor), Human Interface Media Center, Jeju National University, 102 Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju-do, Korea; In Chul Lee (Professor), Department of cosmetic science and technology, Seowon University, 377-3, Musimseo-ro, Seowon-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28674, Korea. Jung Wook Kang

(Professor), College of Fusion and Convergence, Seowon University, 377-3 Musimseoro, Seowon-gu, Cheongju, Chungbuk, 28674, Korea.

## References

- Beretta G, Artily R, Caneva E, Facino RM. Conformation of the tridimensional structure of 1,2,3,4,6- pentagalloyl-β-D-glucopyranose (PGG) by 1H NMR, NOESY and theoretical study and membrane interaction in a simulated phospholipid bilayer: a first insight. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49: 132-136, 2011.
- Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escalera LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76: 965-977, 2008.
- Choung MG, An YN, Kang KH, et al. Comparison on the extract content by different processing method in peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) root. *Korean Journal of Medical Crop Science*, 11: 201-206, 2003.
- Feldman KS, Sahasrabudhe K, Lawlor MD, Wilson SL, Lang CH, Scheuchenzuber WJ. *In vitro* and *In vivo* inhibition of LPS-stimulated tumor necrosis factor-α secretion by the gallotannin β-d-pentagalloylglucose. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11: 1813-1815, 2001.
- Han X, Choi SI, Men X, et al. Improvement and validation of an analytical method for quercetin-3-o-gentiobioside and isoquercitrin in *Abelmoschus esculentus* L. Moench. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 37: 39-45, 2022.
- He DY, Dai SM. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Paeonia lactiflora* Pall., a traditional Chinese herbal medicine. *Frontiers in Pharmacology*, 2: 1-5, 2011.
- Inoue KH, Hagerman AE. Determination of gallotannin with rhodaine. *Analytical Biochemistry*, 169: 363-369, 1988.
- Jung KH, Lee KJ. A comparative analysis of the volatile components of agarwood from Vietnam and other regions. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 20: 481-498, 2022.
- Jo IH, Choi YH. Optimization of extraction of functional components from black rice bran. *Food Engineering Progress*, 15: 388-397, 2011.
- Kim JE, Leem JY. Validation of natural cosmetic resources

- containing EtOH extracts of *Chrysanthemum indicum* and *Cymbopogon cirtratus* by the simultaneous analysis of their marker compounds using high performance liquid chromatography-diode array detector. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 18: 657-667, 2020.
- Kim M, Yoon J, Oh M, Son R, Yeon S., Validation of analytical method of quisqualic acid for standardization of quisqualis indica extract powder (HU033). *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 50: 204-209, 2021.
- Kwon JG, Jung YW, Choi YH, Lee JE, Jeong W, Lee JA, Choi CW, Ahn EK, Choi Y, Hong SS. Development and validation of an analytical method for the detection of resveratrol and trans-scirpusin A as functional ingredients *Smilax sieboldii* extract. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 51: 1171-1177, 2022.
- Li B, Ge J, Liu W, Hu D, Li P. Unveiling spatial metabolome of paeonia suffruticosa and paeonia lactiflora roots using MALDI MS imaging. *New Phytologist*, 231: 892-902, 2021.
- Liu L, Yuan Y, Zuo J, Tao J. Composition and antioxidant activity of *Paeonia lactiflora* petal flavonoid extract and underlying mechanisms of the protective effect on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in BRL3A cells. *Horticultural Plant Journal*, 9: 335-344, 2023.
- Na EJ, Jang HH, Kim GR. Review of recent studies and research analysis for anti-oxidant and anti-aging materials. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 14: 481-491, 2016.
- Park GD, Park JJ, Olawuyi IF, Yun JH, Lee SH, Choi WS, Lee CH, Lee WY. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from pony root (*Paeonia japonica*). *Korean Journal of Food Preservation*, 29: 301-310, 2022.
- Park SW, Kim KJ, Lee W. Development and application of a validated determination of penta-o-galloyl-β-D-glucose in extract of evening-primrose seeds as dietary supplement by high-performance liquid chromatography. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 35: 143-149, 2020.
- Rira M, Morgavi DP, Popova M, Maxin G, Doreau M. Microbial colonisation of tannin-rich tropical plants: interplay between degradability, methane production and tannin disappearance in the rumen. *Animal*, 16: 100589, 2022.
- Sung WY, Yoon GR, Jang SM. Comparison of effective constituents of Korean paeony roots (*Paeoniae radix*) cultivated in different regions. *Korean Journal of Food Preservation*, 7: 297-302, 2000.
- Sung YY, Yuk HJ, Kim DS. Comparison of ingredient quantities and anti-fatigue effects of jakyakgamcho-tang according to extraction solvent. *The Korea Journal of Herbology*, 35: 31-38, 2020.
- Torres-León C, Rojas R, Contreras-Esquivel JC, Serna-Cock L, Belmares-Cerda RE, Aguilar CN. Mango seed: functional and nutritional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 55: 109-117, 2016.
- Torres-León C, Ventura-Sobrevilla J, Serna-Cock L, Ascacio-Valdés JA, Contreras-Esquivel J, Aguilar CN. Pentagalloylglucose (PGG): a valuable phenolic compound with functional properties. *Journal of Functional Foods*, 37: 176-189, 2017.
- Zhang Q, Cheng S, Xin Z, Deng H, Wang Y, Li Q, Wu G, Chen W. 1,2,3,4,6-O-Pentagalloylglucose protects against acute lung injury by activating the AMPK/PI3K/Akt/Nrf2 pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 14423, 2002.

## 국문초록

## 작약 뿌리 추출물의 Pentagalloylglucose 분석법 확립 및 유효성 검증

이정아<sup>1</sup>, 이인철<sup>2</sup>, 강정욱<sup>3\*</sup><sup>1</sup>제주대학교 휴먼인터페이스미디어센터, 제주시, 한국<sup>2</sup>서원대학교 바이오코스메틱학과, 충청북도 청주시, 한국<sup>3</sup>서원대학교 융복합대학, 충청북도 청주시, 한국

**목적:** 본 연구는 HPLC를 이용하여 작약 뿌리 추출물의 pentagalloylglucose을 지표물질로 설정하고 분석법을 확립하여 유효성 검증을 하였다. **방법:** Pentagalloylglucose 분석을 위해 C18컬럼을 이용하여 이동상 용매를 통해 HPLC 분석을 진행하였다. 분석법의 유효성 검증은 특이성, 직선성, 정확도, 정밀도, 검출한계 및 정량한계 등을 통해 분석법의 신뢰성을 검증하였다. **결과:** 작약 뿌리 추출물과 pentagalloylglucose 표준용액 간의 HPLC 크로마토그램 및 UV spectrum의 비교를 통해 다른 물질들의 간섭 없이 피크가 분리된 것으로 특이성을 확인하였으며 상관계수( $R^2$ )는 0.9999로 매우 우수한 직선성을 관찰되었다. 검량선의 기울기 및 표준편차를 이용한 검출한계는 0.92 µg/mL였고 정량한계는 2.72 µg/mL로 확인되었다. 또한, 정확성 분석을 위해 서로 다른 농도 3개를 선정하여 확인한 결과 RSD가 약 0.12–0.50%로 확인되었다. **결론:** 이상의 분석결과를 통해 확립된 작약 뿌리 추출물의 지표성분인 pentagalloylglucose의 HPLC 분석법은 적합한 시험법으로 검증되었으며 원료 표준화를 통해 기능성 원료 자료로 활용될 것으로 사료된다.

**핵심어:** 작약, 펜타갈로일포도당, 밸리데이션, 고성능액체크로마토그래피, 표준화

본 연구는 2022년 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신 사업의 결과입니다(재단관리번호: 2021RIS-001).

## 참고문헌

- 권진관, 정연우, 최윤혁, 이지은, 정원식, 이정아, 최춘환, 안은경, 최용문, 홍성수. 청가시덩굴 추출물의 기능성 원료 표준화를 위한 지표성분 Resveratrol, trans-Scirpusin A의 분석법 개발 및 검증. *한국식품영양과학회지*, 51: 1171–1177, 2022.
- 김명일, 윤지수, 오명환, 손락호, 연성흠. 사군자추출분말(HU033)의 Quisqualic Acid 성분 분석법 검증. *한국식품영양과학회지*, 50: 204–209, 2021.
- 김주은, 임재윤. 감국과 레몬그라스 에탄올 추출물을 함유한 천연화장품 소재의 HPLC-DAD를 이용한 지표 성분 동시 분석 밸리데이션. *아시아뷰티화장품학술지*, 18: 657–667, 2020.
- 나은주, 장현희, 김규리. 자연유래 항산화 원료와 제품개발을 위한 항산화 및 항노화 연구의 최신동향. *아시아뷰티화장품학술지*, 14: 481–491, 2016.
- 박광덕, 박종진, 이부쿠눌루와 플라 올라위, 윤준현, 이소현, 최원석, 이창호, 이원영. 작약 뿌리의 유용성분 추출을 위한 초음파 추출조건 최적화. *한국식품저장유통학회지*, 29: 301–310, 2022.
- 박상욱, 김광준, 이원재. 고성능 액체크로마토그래피를 이용한 식이보충제 달맞이꽃종자추출물의 펜타갈로일-β-D-글루코스의 검증된 분석법 개발과 응용. *한국생물공학학회지*, 35: 143–149, 2020.
- 성원용, 윤광로, 장상문. 한국산 작약의 산지별 유효성분 비교. *한국식품저장유통학회지*, 7: 297–302, 2000.
- 성윤영, 육홍주, 김동선. 작약감초탕의 추출용매에 따른 성분 분석 및 항피로 효능 비교. *대한본초학회지*, 35: 31–38, 2020.



- 정광호, 이근재. 베트남 등 산지별 칩향의 휘발성 성분 분석 연구. *아시아뷰티화장품학술지*, 20: 481-498, 2022.
- 정명근, 안영남, 강광희, 조영순, 김재현. 작약 품종의 가공방법에 따른 엑스 함량 비교. *한국약용작물학회지*, 11: 201-206, 2003.
- 조인희, 최용희. 흑미 미강의 기능성 성분 추출 공정 최적화. *산업식품공학*, 15: 388-397, 2011.
- 한응호, 최선일, 문호, 이세정, 진희구, 오현지, 조세행, 이부용, 이옥환. 오크라 분말의 Quercetin-3-O-Gentiobioside 및 Isoquercitrin의 분석법 개선 및 검증. *한국식품위생안전성학회지*, 37: 39-45, 2022.

## 中文摘要

### 芍药根提取物的Pentagalloylglucose分析方法的建立和验证

李禎娥<sup>1</sup>, 李仁澈<sup>2</sup>, 姜政旭<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>济州大学人机界面媒体中心, 济州, 韩国

<sup>2</sup>西原大学生物化妆品系, 忠清北道清州市, 韩国

<sup>3</sup>西原大学融合大学, 忠清北道清州市, 韩国

**目的:** 本研究采用HPLC方法建立芍药根提取物的五没食子酰葡萄糖作为指标, 建立分析方法, 并验证其有效性。**方法:** 对于五没食子酰葡萄糖分析, 使用C18色谱柱通过流动相溶剂进行HPLC分析。通过特异性, 线性, 检测极限(LOD), 定量极限(LOQ)验证了分析方法的可靠性。**结果:** 通过对比芍药根提取物与五没食子酰葡萄糖标准溶液的HPLC色谱图和紫外光谱, 不受其他物质干扰, 峰分离, 确认了特异性, 且线性良好, 相关系数( $R^2$ )为0.9999。使用校准曲线的斜率和标准差的检测限为0.92  $\mu\text{g/mL}$ , 并且定量限被确认为2.72  $\mu\text{g/mL}$ 。另外, 选择3个不同浓度进行精度分析, 结果确认RSD约为0.12-0.50%。**结论:** 通过上述分析结果建立的芍药根提取物指示成分五没食子酰葡萄糖的HPLC分析方法, 经验证是一种合适的检测方法, 有望通过原料标准化作为功能性原料数据。

**关键词:** 芍药, 五没食子酰葡萄糖, 高效液相色谱, 验证, 标准化