

어젠다코드	I - 12 - (2)		구분	완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-01-FR12
과제종류	공동과제		과제번호	PJ015704	
과제명	아스파라거스 전초의 기능성(통풍 등) 소재 및 표준화				
과제책임자	성명		직급	소속기관 및 부서	
	박경철		농업연구사	강원대학교	
연구기간	'20. 5. 1. ~ '20. 12. 31.		참여연구기관	강원대학교 등 3기관	
세부과제명			수행기관	세부책임자	연구기간
1) 아스파라거스 전초 추출물의 기능성 효능 및 독성 평가			강원대학교	박경철	'20.5.1.~ '20.12.31.
2) 아스파라거스 전초 원료 수급 및 원재료 표준화			농식품연구소	이재희	'20.5.1.~ '20.12.31.
3) 아스파라거스 전초의 기능성 물질 대량 추출법 확인			(재)춘천바이오 산업진흥원	유근형	'20.5.1.~ '20.12.31.
색인용어	아스파라거스, 전초, 기능성 소재, 통풍				

ABSTRACT

The objective of this study was to select compounds for the standardization of *Asparagus officinalis* L. roots extracts(ARE), to develop the analysis method using a liquid chromatography-tandem mass spectrometry(LC-MS/MS) and to perform method validation. Sarsasapogenin(SAR) was selected as the standard compounds and developed our own method for analysis. SAR is a steroidal sapogenin that is used as starting material for the industrial synthesis of steroids. It has various pharmacological benefits, such as antitumor and antidepressant activities. For SAR analysis in ARE, the separation was performed on a Restek Rapotr Biphenyl(2.1 mm x 100, particle size 2.7 μm) with a gradient elution of 0.1% formic acid in distilled water and 0.1% formic acid in methanol and a flow rate of 0.5 mL/min. The analyte was ionized by positive ion pneumatically assisted electrospray and detected by HPLC-MS/MS in the multiple-reaction monitoring(MRM) mode using precursor → product ion combinations at m/z 417.14 → 255.21 and 273.23. A calibration curve was obtained from 50 to 1,000 ng/mL with a satisfactory correlation coefficient of 0.9988. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for SAR in the matrix were 7.7 ng/mL to 23.4 ng/mL. The recovery of the seven SAR from spiked samples at 100 ng/mL ranged from 102.8 to 107.7% with a relative standard deviation (RSD) 2.3%. Therefore, SAR as a marker compound in ARE was analyzed. The amount of SAR in ARE was approximately 1.34 μg/mL after triplicate analysis, and the RSD was 0.67% using the validated method. These results suggest that the method is very useful for evaluating the marker compounds in ARE to develop a health functional food material.

1 연구목표

건강에 대한 관심 증가에 따라 전세계적으로 기능성식품 소재 개발에 대한 연구가 꾸준히 증가하고 있다. 비식용 부위인 아스파라거스 전초를 대상으로 기능성을 평가하고 기능성 소재 DB를 구축하였다. 뿐만 아니라 생리활성 검정 및 독성평가를 수행하였으며, 기능성 물질의 대량 추출법 개발을 확립하였으며, 원재료 표준화 및 한시적 식품 원료 등재를 위한 자료 수집을 수행하였다.

2 재료 및 방법

〈제2세부과제: 아스파라거스 전초 원료 수급 및 원재료 표준화〉

(시험 1) 아스파라거스 분류별 시료 수집

본 연구는 2020년도 강원도 양구군 남면에 소재한 아스파라거스 재배지에서 각 분류기준에 따라 아스파라거스 전초를 수집하였다. 2020년 7월 15일 ‘UC157’ 등의 3품종의 전초를 수집하였다. 아스파라거스 뿌리와 줄기를 시기별로 구분하여 수집하였으며, 노지재배된 ‘아틀라스’ 품종을 1, 5, 10년 생의 전초를 수집하여 연생별로 채취하였다. 6년생 ‘아틀라스’ 품종에 대해 노지 및 시설재배의 각각 채취하여 수집하였다.

(시험 2) 아스파라거스 부위별 지표성분 모니터링

본 실험에 사용한 아스파라거스(*Asparagus officinalis* L.)는 ‘Atlas’ 품종으로, 6년생이며 양구 남면에서 2020년 10월 23일에 수집하였다. 40℃ 조건에서 48시간 열풍건조(Daedong, Korea)한 뒤 분쇄기(Daesung Arlon, DA280-S, Korea)를 이용하여 80 mesh 사이즈로 분쇄하여 분말화하였다. 유효성분을 추출하기 위해 증류수 1,000 mL에 아스파라거스를 침지하여 heating mantle(MTOPs, MS-EAM, Korea)에서 100℃, 6시간 가열 후 상온에서 다시 3시간동안 냉각하여 추출액을 원심분리기(Hanil, SUPRA 22K, Korea)에 넣고 원심분리(15℃, 4,500 rpm, 15 min) 하였다. 상층액을 감압여과(Whatman 2# filter paper)한 뒤 여과한 추출물을 0.9 bar, -20℃의 조건에서 48시간 동결건조(Ilshin, Korea)하여 분석 시료로 사용하였다.

아스파라거스 뿌리의 주요 성분인 sarsasapogenin(Negi JS et al. 2010), protodioscin(Schwarzbach, Schreiner, & Knorr, 2006), rutin(J. M. Fuentes Alventosa et al., 2013)을 지표성분으로 설정하였다. sarsasapogenin, protodioscin은 Sigma-Aldrich(St. Louis, Mo 63103, USA, purity ≥98%)에서 구입하였고, 표준품 rutin trihydrate는 HPLC용으로 assay ≥94.0%를 Sigma-Aldrich(St. Louis, Mo 63103, USA)에서 구입하여 사용하였다. 분석용 용매는 모두 HPLC급을 사용하였으며, 이를 제외한 모든 시약은 분석급 시약을 사용하였다. 추출 및 정량분석에 사용한 MeOH(HPLC grade)은 Fisher Scientific Co.(Fairlawn, NJ, USA)로부터 acetic acid는 Merck KGaA (Darmstadt, Germany)로부터 구입하여 사용하였다. Formic acid(LC-MS Grade)은 Thermo scientific(Rockford, IL, USA)에서, acetonitrile (HPLC

Grade)은 Fisher Scientific Co.(Fairlawn, seoul, Korea)에서, ethanol(HPLC Grade)은 Fisher Scientific Co.(Fairlawn, seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 추출액 여과는 0.45 µm Regenerated Cellulose (Satorius, German)를 사용했다. 본 실험에서 사용된 분석용 3차 증류수는 Satorius stedium (S.A., France) 장비를 사용하여 제조된 것을 사용하였다.

(시험 3) 한시적 식품 원료 등재를 위한 관련 자료 수집 및 작성

아스파라거스 순 외의 부위에 대한 한시적 식품 원료 등재를 위해 관료 자료 조사를 하였다. 국내 및 해외 특허자료를 조사하였다. 또한, 국내·외 아스파라거스 부위별 활용상품에 대한 시장조사를 하였다.

3 결과 및 고찰

〈제2세부과제: 아스파라거스 전초 원료 수급 및 원재료 표준화〉

(시험 1) 아스파라거스 분류별 시료 수집

품종별(표 1), 채취시기별(표 2), 연생별(그림 1) 수집을 완료하였다. 또한, '20년 7월 15일에 6년생 '아틀라스' 품종에 대해 비가림 유무별(노지, 시설재배) 수집을 완료하였다.

표 1. 품종별 전초 수집

연번	품 종	수집 부위	수집 주수	수집 날짜
1	UC157	전초(全草) 1.뿌리	10	7.15.
2	아틀라스	2.순 3.줄기	10	
3	퍼플패션	4.잎	10	

※ 3품종 모두 5~6년생이며 노지 재배됨.

표 2. 채취시기별 시료 수집: 노지재배 1품종(아틀라스) 뿌리 및 줄기 1-2차 시기별 수집

부위	채취시기(예정)	수집 여부(채집일)	수집 주수
뿌리	4월 상순	○ (04.13.)	10
	10월 하순	○ (10.23.)	10
줄기	7월 중순	○ (07.15.)	10
	9월 중순	○ (09.11.)	10

※ 6년생 '아틀라스' 품종이며 노지재배됨.

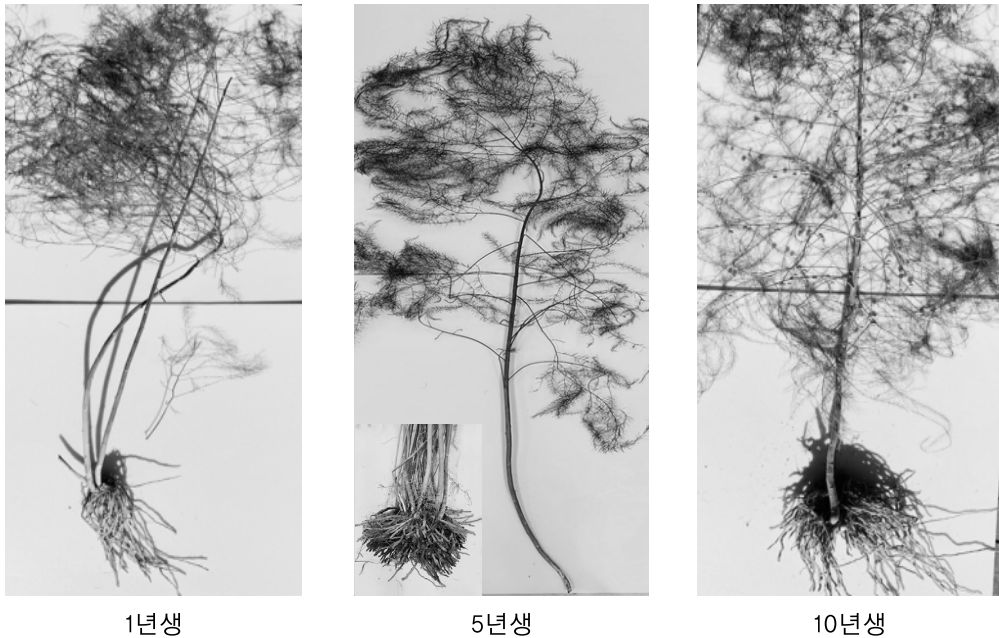


그림 1. 연생별 전초 수집(수집날짜: '20. 7. 15.)

(시험 2) 아스파라거스 부위별 지표성분 모니터링

가. 아스파라거스 줄기의 지표성분의 설정

표준품 Rutin의 peak는 t_R 17.5 min에 검출되었으며, 아스파라거스 줄기의 열수 추출물서도 t_R 및 UV spectrum이 일치하였다(그림 2).

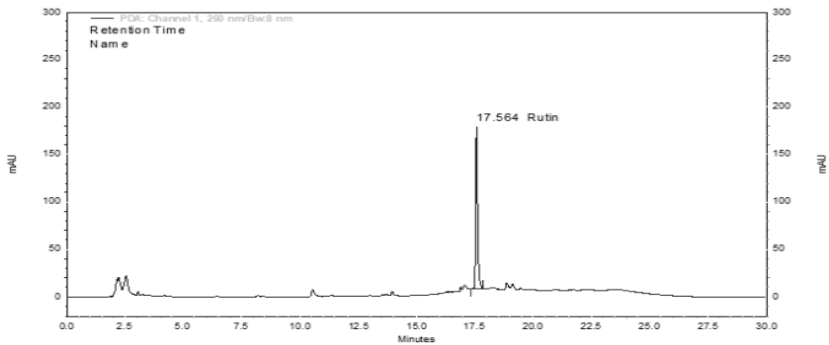


그림 2. 표준품 Rutin의 HPLC chromatogram

나. Rutin에 대한 Method validation 실시

① 특이성(Specificity)

아스파라거스 추출물 중 rutin의 retention time과 peak 분리도를 확인하였다(그림3).

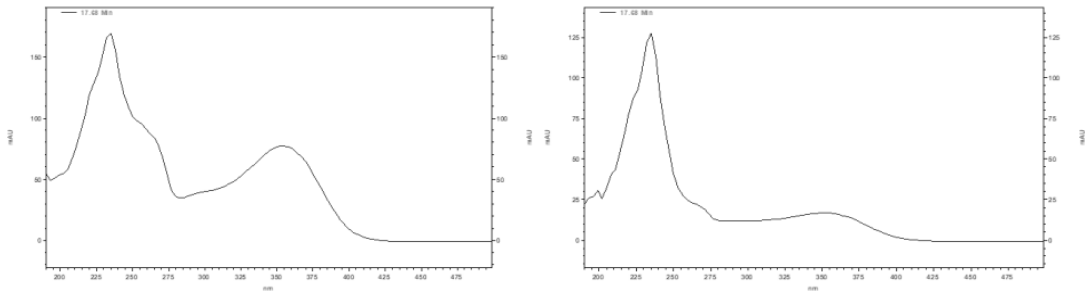


그림 3. Rutin과 아스파라거스 줄기 추출물 시험용액 UV spectrum

약 17 분대 검출된 peak의 spectrum을 확인한 결과 230 nm에서 최대 흡광도를 보였으며 표준용액과 시험용액에서 유사한 패턴의 spectrum을 나타냄을 확인하였다.

② 직선성(Linearity)

표준물질을 농도별로 희석하여 분석한 결과로 직선성을 평가하였다. Rutin의 검출농도 약 5 µg/mL를 목적농도 100%로 설정하여 18.8~188.0% 범위에서 3회 반복 평가하였다(표 3~5). 분석결과 농도별로 직선성을 확인하였다. 기울기 값은 212,908~212,999, R² 값은 0.9997이었다.

표 3. Rutin 표준용액을 이용한 검량선 작성(1회 실험)

농도(%)	검출 농도(µg/mL)	면적(area)	검량선(Calibration Curve)
18.8	0.94	184,089	
47.0	2.35	462,805	
94.0	4.7	993,386	
141.0	7.05	1,454,058	
188.0	9.4	1,988,373	
기울기	212,807		
y 절편	-24150		
R ²	0.9995		

표 4. Rutin 표준용액을 이용한 검량선 작성(2회 실험)

농도(%)	검출 농도(µg/mL)	면적(area)	검량선(Calibration Curve)
18.8	0.94	182,104	
47.0	2.35	457,898	
94.0	4.7	980,492	
141.0	7.05	1,469,727	
188.0	9.4	1,976,782	
기울기	212,999		
y 절편	-27738		
R ²	0.9998		

표 5. Rutin 표준용액을 이용한 검량선 작성(3회 실험)

농도(%)	검출 농도($\mu\text{g/mL}$)	면적(area)	검량선(Calibration Curve)
18.8.	0.94	181,193	
47.0	2.35	457,898	
94.0	4.7	981,258	
141.0	7.05	1,452,070	
188.0	9.4	1,972,608	
기울기	211,862		
y 절편	-26574		
R^2	0.9997		

③ 실험실 내 정밀성(Intermediate precision)

아스파라거스 줄기 추출물 중 rutin 함량 분석 정밀성 시험을 위해 일내분석과 일간 분석을 진행하였다(표 6).

표 6. Precision and accuracy for the determination of rutin in QC sample(n=3 day, rep 3).

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Mean \pm SD($\mu\text{g/mL}$)	Accuracy(%)	RSD ^x (%)	
Intra-day ^y	2.35	2.32 \pm 0.02	98.73	0.82
	4.7	4.61 \pm 0.03	98.05	0.63
	9.4	9.203 \pm 0.02	97.90	0.21
Inter-day ^z	2.35	2.33 \pm 0.03	99.03	1.25
	4.7	4.59 \pm 0.01	97.74	0.31
	9.4	9.13 \pm 0.02	97.08	0.22

x Relative standard deviation

y Intra-day: three times per day

z Inter-day: one time analysis of rutin per day for 3 days

④ 회수율(Recovery)

아스파라거스 줄기 추출물이 혼합된 농도별 표준용액의 검출 농도와 추출물이 혼합되지 않은 농도별 표준용액의 검출 농도 차이를 구하였다. 이 값을 아스파라거스 줄기 추출물만 분석하여 검출된 농도 값으로 나누어 측정하였다. 표준품 농도별 지표성분의 회수율은 96.51~107.56%의 범위였으며 분석 오차 10% 이내로 측정되었다.

표 7. Recovery of rutin.

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery(%)	RSD(%)
2.35	107.561 \pm 0.026	0.026
4.7	98.790 \pm 0.022	0.022
9.4	96.514 \pm 0.060	0.060

⑤ 범위(range)

아스파라거스 추출물 중 rutin 함량을 정량하기 위한 분석법의 정량 범위는 직선성과 정밀도, 정확성을 고려하여, 0.94~9.4 µg/mL 범위로 설정하였다.

다. 아스파라거스 뿌리의 지표성분 설정

아스파라거스 뿌리 내에는 다양한 활성물질이 존재한다. 페놀 성분인 루틴 또는 카프산(Hartung et al., 1990; Huang et al., 2006) 스테로이드사포닌 성분인 사라사사포게닌(sarsasapogenin), 프로토다이오신(protodioscin)이 있다(문관심, 1999)(그림 4). 스테로이드사포닌은 강심작용, 항염증작용, 단백동화작용, 핏속의 콜레스테롤 양을 줄이는 작용을 비롯해 물질대사에 좋은 작용을 한다. 지표성분인 동시에 유효성분의 가능성 또한 염두하여 스테로이드사포닌 중 프로토다이오신 및 사라사사포게닌을 대상으로 분석을 실시하였다.

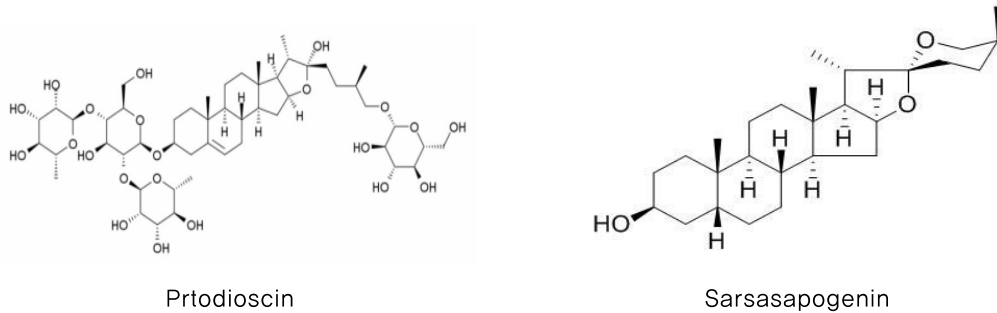


그림 4. 화합물의 구조식

① Protodioscin의 HPLC 분석 조건

표 8. Protodioscin의 HPLC 분석 조건

Parameter	Condition		
HPLC	Nanosapce SI-2 (Shiseido, Tokyo, Japan)		
column	Unison UK-C18 (4.6 X 150mm, 3µm)		
Detector	Photo Diode Array (PDA) 200 nm		
column temp	35 °C		
sample temp	4 °C		
Injection Volume	5 µl		
Flow rate	0.8 mL/min		
Mobile phase	A: D-water	B: Acetonitrile	
Run time	35 분		
Gradient	Time(min)	%B	%A
	Init	10	90
	15	60	40
	20	60	40
	30	10	90
	35	10	90

② Sarsasapogenin의 HPLC 분석 조건

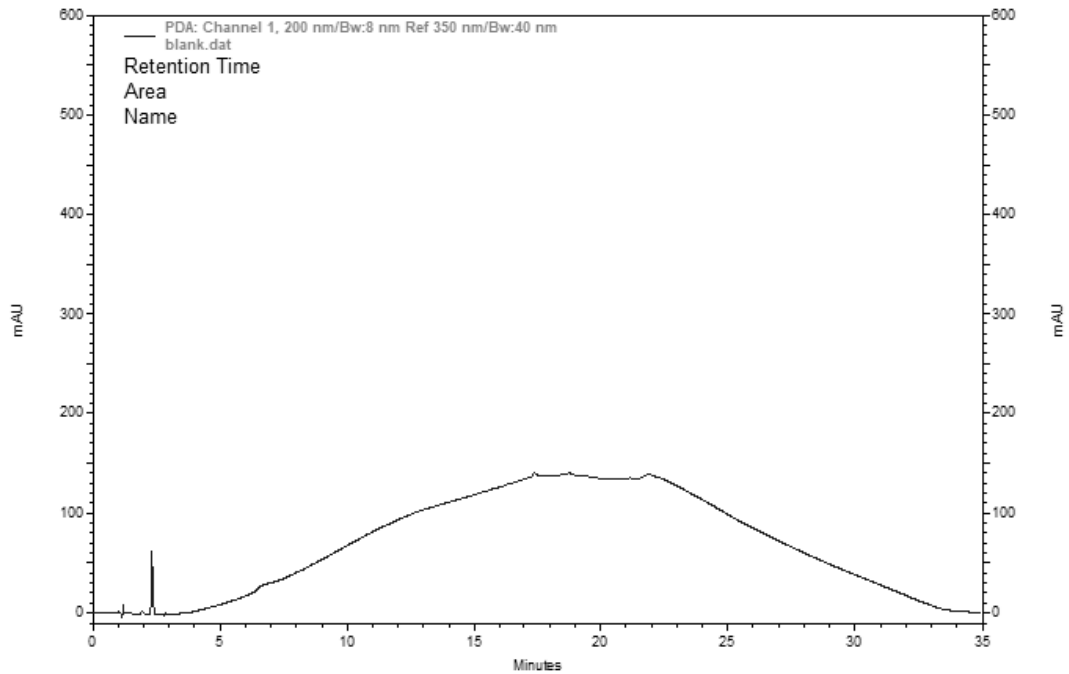
화합물 구조 상 모두 single bond로 되어있어 HPLC-PDA로 분석이 어려울 것으로 판단되었다. LC-MS/MS 장비를 이용하여 분석법을 확립하였다(표 9).

표 9. Sarsasapogenin의 HPLC 분석 조건

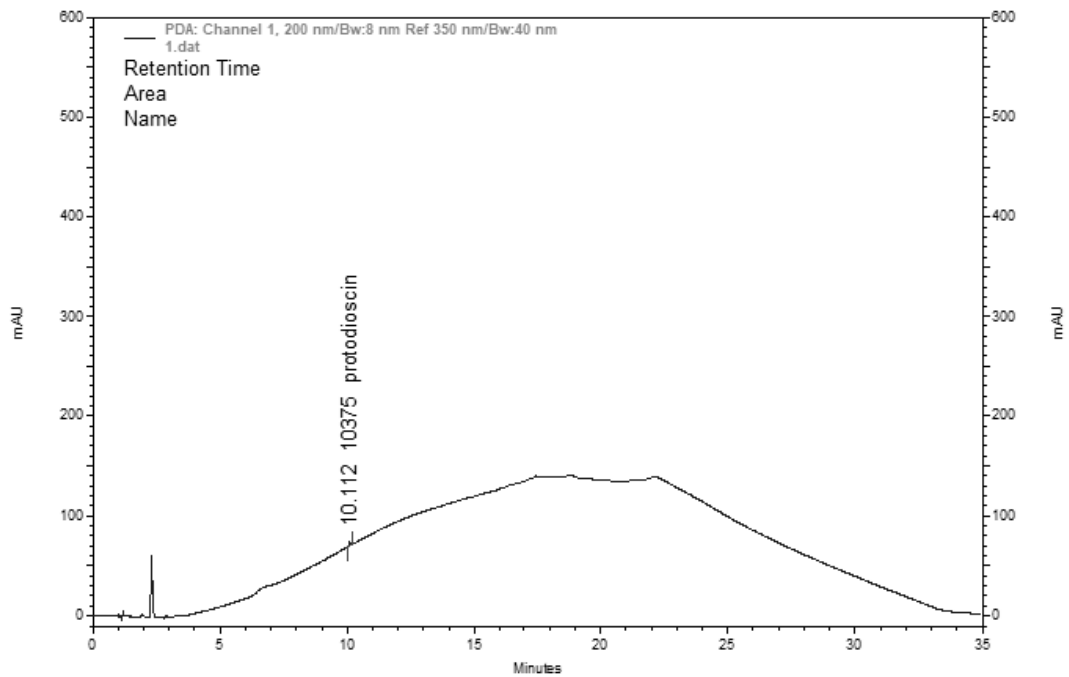
Instrument	LC - Nexera XR 20 Series(Shimadzu, Japan), MS/MS -TSQ Quantum Ultra(Thermo, USA)			
Detector	UV spectrum(260nm)			
Column	Raptor Biphenyl 100 x 2.1mm ID 2.7 mm (Restek, USA)			
Column Oven	40℃			
Injection vol	1 μ L			
Mobile phase	A, 0.1% Formic acid in d-water			
	B, 0.1% Formic acid in methanol			
Gradient	time(min)	flow rate(μ L)	A(%)	B(%)
	0.5	0.5	50	50
	3	0.5	5	95
	7	0.5	0	100
	7.1	0.5	50	50
	10	0.5	50	50
MS condition	Ionization Type		ESI(Electronic Spray Ionization)	
	Sheath Gas Pressure(Arb)		45	
	Aux Gas Pressure(Arb)		20	
	Ion Sweep Gas Pressure(Arb)		2	
	Capillart Temp.		300	
	Vaporizer Temperature		350	
	Spray Voltage(V)		4,000	

라. 지표성분의 설정

아스파라거스 뿌리 표준품 protodioscin의 peak는 t_R 10.12 min에 검출되었으며, 아스파라거스 뿌리의 열수 추출물에서도 t_R 및 UV spectrum이 일치하였다(그림 5). Protodioscin chromatogram의 baseline이 불안정적이므로 method validation을 진행하기엔 무리가 있을 것으로 판단된다(그림 6).

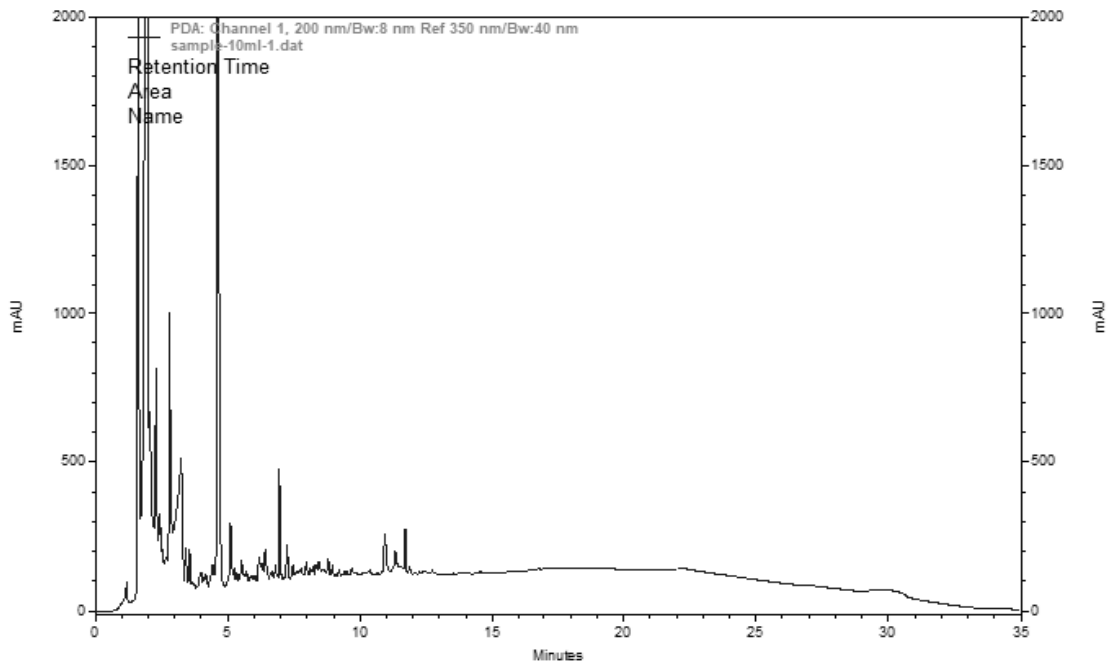


(A)

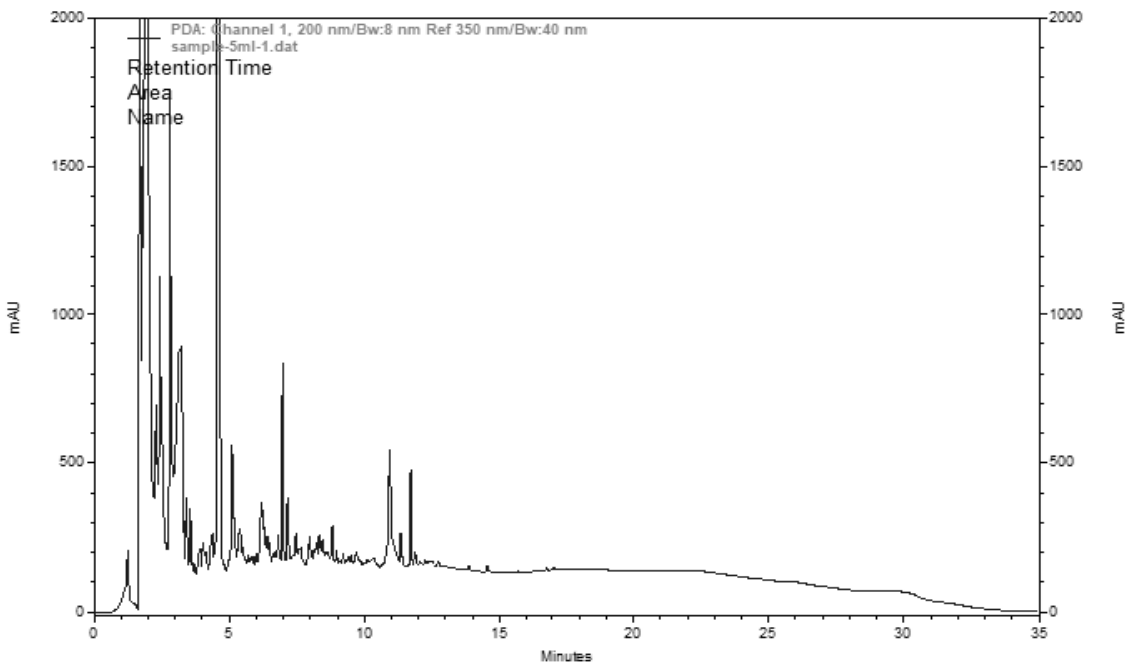


(B)

그림. 5. Prtotoscincin의 (A)표준품 및 (B)열수 추출 시료의 UV spectrum



(A)



(B)

그림 6. 열수 추출한 시료 농도 (A) 100 mg/10mL, (B) 100 mg/5mL의 HPLC chromatogram

아스파라거스 뿌리 표준품 sarsasapogenin의 peak는 tR 4.09 min에 검출되었으며, 아스파라거스 뿌리의 열수 추출물에서도 tR이 일치하여 특이성을 보였다(그림 7). Sarsasapogenin chromatogram의 경우, baseline이 안정적이며 Priya Kashyap 등(2020)이 UPLC-QTOF를 이용하여 아스파라거스 라세모시스(*Asparagus racemosus* L.)에서 sarsasapogenin 분석결과보다 분석시간을 단축하였다.

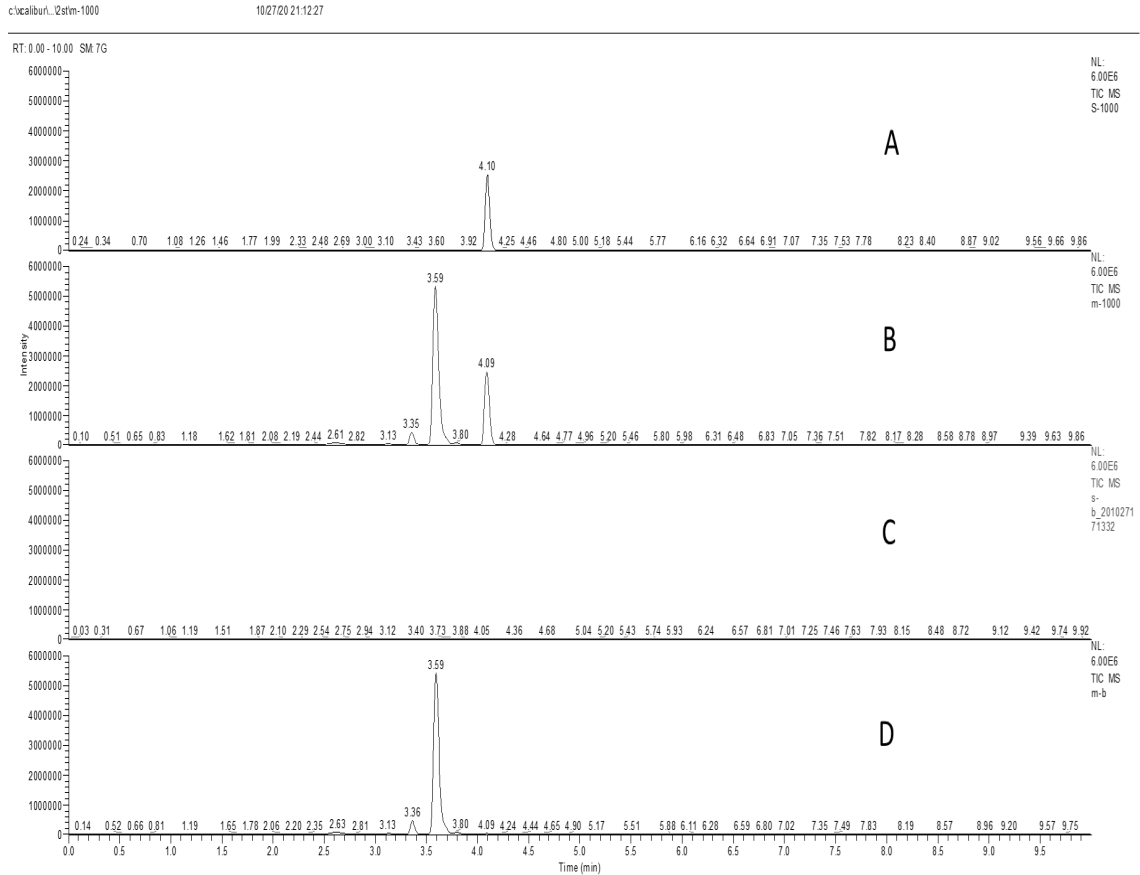


그림. 7. (A)용매 내 sarsasapogenin 1,000 ppb (B) 검체 내 sarsasapogenin 1,000 ppb (C) 용매 (D) 검체

마. Protodioscin과 sarsasapogenin에 대한 Method validation 실시

① 특이성(Specificity)

아스파라거스 추출물 중 sarsasapogenin의 retention time과 peak 분리도 확인하였다.

② 직선성(Linearity)

아스파라거스 뿌리 추출물 시료의 간섭효과(matrix effect)를 고려하여 matrix matched calibration을 적용하였다. 아스파라거스 뿌리 추출물에 sarsasapogenin 50, 100, 200, 300, 500, 700, 1000 ng/mL가 되도록 첨가한 후 시험용액 제조방법에 기술된 바와 같이 처리하였다. Sarsasapogenin의 검량선은

$y = 4273.6x + 66214$ ($R^2 = 0.9988$) 이었다.

건강기능식품 시험법 밸리데이션 가이드라인에 따르면 직선성의 평가 시, R2값이 0.990이상을 기준한다. 이 기준치와 비교해보면 본 실험의 sarsasapogenin은 50 ~ 1000 $\mu\text{g/L}$ 범위에서 우수한 직선성을 나타내었으며, 검출한계(LOD)는 7.7 ng/mL, 정량한계(LOQ)는 23.4 ng/mL 값을 얻었다.

③ 정밀성(Precision), 정확성(Accuracy)

정밀성 측정을 위해 1일에 sarsasapogenin 100, 500, 1000 $\mu\text{g/L}$ 의 시험용액을 만들어 3반복하였으며, 그 다음날부터는 3일간 하루에 각각 3개씩 만들어 LC-MS/MS 분석하였다.

정밀성은 sarsasapogenin의 내부표준물질의 peak 면적비의 표준편차를 sarsasapogenin의 내부표준물질의 peak 면적비의 평균값으로 나눈 비율(% RSD)을 산출하였다(표 10).

표 10. Precision and accuracy for the determination of Sarsasapogenin in QC sample(n=3 day, rep 3).

Concentration (ng/mL)	Intra-day			Inter-day		
	Found (ng/mL)	RSD ¹⁾ (%)	Accuracy (%)	Found (ng/mL)	RSD (%)	Accuracy (%)
100	108.8	3.09	108.79	105.3	3.08	105.27
500	499.7	0.92	99.93	483.1	2.87	96.63
1,000	988.1	1.71	98.81	974.6	1.82	97.46

1) RSD: Relative Standard Deviation

④ 회수율(Recovery)

회수율 시험은 sarsasapogenin 100, 500, 1000 $\mu\text{g/L}$ 농도 및 검체 용액에서의 절대 회수율로 진행하였으며, 분석물질을 가한 시료를 추출하여 얻어진 검출반응과 분석물질의 첨가 전 표준물질의 검출반응을 비교하여 회수율을 구하였다(표 11).

표 11. Recovery of sarsasapogenin (n=7)

Spiked Concentration (ng/mL)	Found (ng/mL)	Recovery (%, mean \pm SD)	mean \pm SD
100	105.26	105.26 \pm 2.46	
500	482.35	96.47 \pm 2.82	100.19 \pm 2.38
1,000	988.40	98.84 \pm 1.87	

라. 아스파라거스 뿌리 추출물 내 sarsasapogenin 함량

본 연구의 rutin 분석법 검증(validation)을 통해 아스파라거스 뿌리 추출물 내의 rutin의 정량에 이용될 수 있는 충분한 감도, 특이성, 정확성 및 정밀성, 직선성 등을 확인하였다. 아스파라거스 뿌리 추출물에 함유된 rutin 함량을 분석하기 위해 양구에서 채취한 아스파라거스 뿌리 추출물 5개 lot를 3반복 측정한다.

결과, 시료 중 rutin의 평균함량은 2.376 µg/mL 였다. 즉, 아스파라거스 추출물 중 0.232 ~ 0.240%의 rutin이 함유되어 있음을 확인하였다. 이상의 분석결과, HPLC/PDA법을 적용하여 아스파라거스 뿌리 추출물의 rutin 정량분석을 신속하고 정확하게 분석할 수 있는 방법을 개발하여 그 타당성을 검증하였다(표 12).

표 12. Amount of sarsasapogenin in Asparagus root extract.

Lot No. (n=3)	Mean±SD (µ g/mL)	RSD (%)	Mean contents (mg/g) ¹⁾
1	1.354±0.011 ²⁾	0.81	0.135
2	1.362±0.007	0.51	0.136
3	1.270±0.015	1.18	0.127
4	1.358±0.004	0.29	0.135
5	1.398±0.008	0.57	0.139

1) Mean contents of sarsasapogenin in Asparagus root extracts.

2) Each data was obtained by triple analysis (n=3).

(시험 3) 한시적 식품 원료 등재를 위한 관련 자료 수집 및 작성

가. 국내·외 특허자료 수집 및 분석

① 국내 특허자료

국내에서 *Asparagus officinalis*의 순은 식품원료로 사용가능 하나, 뿌리는 식품에 사용가능한 원료에 등재되어 있지 않았다(표 13).

표 13. 국내의 아스파라거스 순 사용여부

고유번호	명칭	기타명칭 또는 시장명칭	학명 또는 특성	사용부위 (생약명)
A가116900	아스파라거스	Asparagus	<i>Asparagus officinalis</i> L. / <i>Asparagus officinalis</i> var. <i>alltilis</i> L. / <i>Asparagus polyphyllus</i> Stev.	순

② 국내 관련규정

Asparagus officinalis L.는 식품에 사용할 수 있는 원료이나 사용부위가 “순”으로 한정되어 있고, 줄기 및 뿌리는 등재되어 있지 않았다. 대한민국약전의 한약(생약)규격집에 따르면, 천문동은 식품의 기준 및 규격에 따라, 식품에 부원료로 사용 가능하다.

③ 국외 특허자료

① 미국

FDA는 아스파라거스의 씨와 뿌리의 추출물을 향미증진제로 관리하고 있다(표 14).

표 14. 미국의 아스파라거스 뿌리 식품사용 여부

CAS Reg. No (or other ID)	substance	other name	사용용도 (기술적 효과)
977082-96-4	ASPARAGUS, SEED AND ROOT, EXTRACT	ASPARAGUS SEED AND ROOT EXTRACT	향미 증진제 (FLAVOR ENHANCER), 향미증진제 혹은 보조제

㉠ 영국

아스파라거스 뿌리 및 줄기를 식용으로 인정하였는지 여부는 확인되지 않았다. *Asparagus officinalis* L.의 뿌리를 전통“약초”로 허용하고 있다(표 15).

표 15. *Asparagus officinalis* 뿌리의 전통 약초 등록 목록(영국)

THR Number	Grant date	Registration holder	Product name	Active ingredient	Product indication Traditional use
32294/0005	03/03 /2011	Plantaphile Ltd	Asparaid Film Coated Tablets	Asparagus Root(<i>Asparagus officinalis</i> L.), Parsley Herb (<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) A.W. Hill)	전통적인 요법만을 사용하여 소변의 양을 늘리는 것
32294/0024	05/12 /2013	Plantaphile Limited	Asparflow tablets	Asparagus root (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	전통적인 요법만을 사용하여 소변의 양을 늘리는 것.

㉡ 싱가포르

Asparagus officinalis L.의 뿌리를 식용으로 허가, 인정하였는지 여부는 확인되지 않았다.

㉢ 유럽연합

Asparagus officinalis L. 뿌리를 식용으로 인정한 사례를 찾지 못하였다. EU Novel food catalogue 에서 *Asparagus “racemosus”* L. 만 검색되었다. EU에서 *Asparagus racemosus* L.의 뿌리를 식품보충제로 사용하고 있다.

나. 국내·외 아스파라거스 부위별 활용 상품 조사

① 국내 사용현황

국내 아스파라거스 줄기 및 뿌리를 이용하여 유통·판매되고 있지 않다.

② 국외 사용현황

아스파라거스 뿌리를 일반식품으로 판매하고 있다. 주로 차(tea) 용도로 분말 혹은 개별 포장 loose tea, tea bags, easy brew bags 등의 형태로 판매하고 있다(표 16). 또한, 캐나다, 호주 등에서 식사보충제로 판매되고 있다(표 17).

표 16. 국외의 차 용도로 판매 현황.





제품명 및 제조업체	원재료명	표시사항	제품사진
Asparagus root tea(powder)/TerraVita	Pure Asparagus Root Tea	Loose Tea(2oz, 4oz, 8oz, 1lb) Naturally Caffeine Free Packed to Ensure Freshness Description: Asparagus Root. Botanical Name: Asparagus officinalis	
Asparagus root tea(powder)/TerraVita	Asparagus officinalis L. Other Names :Asperge (French) :Spargel(German) :Asparago(Italian) :Esparrago(Spanish).	Tea Bag(25,50,100, 200) 아스파라거스 뿌리는 예전부터 이뇨제로 사용, 신장 결석의 형성을 피하는 데 효과적	
Asparagus Root Tea (Powder), teahaven.com	Description: Asparagus Root Botanical Name: Asparagus officinalis	Pure Asparagus Root Tea Naturally Caffeine Free Packed to Ensure Freshness Precautions If you are pregnant, nursing or taking any medications, consult your doctor before use. Consult your health care provider before beginning use of any herb.	
Asparagus Root Green Tea Blend Tea Bags/Tea Haven	Green Tea, Asparagus Root (Asparagus officinalis)	Precautions If you are pregnant, nursing or taking any medications, consult your doctor before use. Consult your health care provider before beginning use of any herb.	

표 17. 국외의 식사보충제용으로 판매 현황

제품명 및 제조업체	원재료명	표시사항	제품사진
Asparagus Root 450mg/TerraVita, 미국	Asparagus(root) 450mg/serving, gelatin, water	Serving size. 1 capsule. 1일 3회. 식사와 함께 섭취	
Asparagus Root Powder/TerraVita, 미국	Asparagus(root) 450mg/serving	-	

제품명 및 제조업체	원재료명	표시사항	제품사진
Asparagus Root 1:5 Extract(Strawberry flavor)/TerraVita, 미국	Asparagus root 1:5 extract. Other ingredients: Glycerin(vegetable source), Artificial Strawberry Flavor.	그 외 초콜렛 향, 바닐라향, 민트향 제품이 있음	
Herbalife Cell-U-Loss, 미국	Corn silk extract parsley herb extract, dandelion leaf extract, asparagus root extract, other ingredients: maltodextrin, microcrystalline cellulose, apple cider vinegar powder, croscarmellose sodium, stearic acid,	serv, size: 1tablet (아스파라거스 뿌리 추출물 5mg) 총 90타블릿 Cell-U-Loss는 옥수수 수염으로 만들어지는데, 이것은 물을 건강하게 제거하는데 사용되는 전통허브	
ProFemaTM - Natural Menopause Multivitamin, 미국	Asparagus Extract(Root), Bamboo Extract(Stem and Leaf), Biotin(as D-biotin), Black Pepper Fruit Extract(Bioperine	Serving size 2 capsule, 30 servings 임신수유부는 사용전에 의뢰진과 상담할 것	
Water-AwayTM, 미국	Potassium 33mg Uva Ursi Leaf 3:1 Extract(Arctostaphylos uva ursi) 120mg Juniper Berry 2:1 Extract (Juniperus communis)60mg Buchu Leaf 4:1 Extract (Barosma betulina)30mg	90 Vegetarian Tablets. Herbs plus potassium Serving Size: 1 Vegetarian Tablet	

4 적 요

〈제2세부과제: 아스파라거스 전초 원료 수급 및 원재료 표준화〉

원료의 지표성분 설정은 기능성 원료 인증의 필수 과정이다. 「건강기능식품의 기준 및 규격」에는 기능성 원료와 이들 원료에 대한 지표성분의 규격과 시험방법이 등재되어 있다. 본 연구에서는 아스파라거스 뿌리 추출물의 기능성 원료 등록을 위한 지표성분의 설정과 시험법 개발을 수행하였다.

3개의 후보물질을 선정하여 아스파라거스 뿌리 추출물의 지표성분 가능성 여부 등을 분석법 검증을 통해 판단하였다. Sarsasapogenin의 분석은 고감도 정량·정성분석이 가능한 LC-MS/MS를 적용하여

적합한 분석법을 제시하고자 하였다. 분석물질은 전기분무이온화방법의 positive mode에서 이온화하여 MRM 조건을 확립하여 분석하였다. 개발된 분석법은 건강기능식품 분석법 밸리데이션 가이드라인 따라서 정확성, 정밀성, 직선성, 정량한계에 대한 검증을 통하여 유효성을 확인하였다. 실험에서 정량 한계는 23.4 $\mu\text{g/L}$ 수준이며, 정량한계를 포함하는 표준시료에서 얻어진 상관계수(R^2)는 0.9988 이상으로 직선성이 유효함을 판단할 수 있었다. Protodioscin 분석의 경우, 특이성과 직선성의 유효성을 검증하였으나, HPLC chromatogram에서의 베이스라인 불안정으로 peak의 면적 산출이 불명확했기 때문에 지표성분의 요건에 적합하지 않았다. 마지막으로, rutin의 분석법 검증은 정확성, 정밀성, 직선성, 정량한계 등 모든 항목이 유효함을 나타냈다. 정량한계는 0.0987 $\mu\text{g/mL}$ 이며, 표준시료에서 얻어진 상관계수(R^2)는 0.9997 이상의 직선성을 나타냈다. 하지만, 정확성 및 정밀성 항목, 분석시간의 단축 등을 고려한다면, sarsasapogenin이 rutin보다 지표성분으로서 더 적합하다. 또한, 지표성분으로서 대표성 여부를 확인해보았다. 아스파라거스 뿌리 내에는 스테로이드 사포닌계열의 성분이 매우 많고, 이들에 대한 생리활성 등의 유효성 관련 연구도 많이 이루어지고 있다. Rutin의 경우, 운향과의 루타속 식물, 콩과식물, 마디풀과의 메밀 등 많은 종류의 식물에 분포되어 있다. 그러므로 다양한 식물에 포함된 rutin과 비교하면, sarsasapogenin은 아스파라거스 뿌리를 대표할 수 있는 특이적인 물질인 것이다.

본 연구를 통해 아스파라거스 뿌리 추출물의 지표성분은 sarsasapogenin으로 설정하였으며, 확립한 분석법은 기능성 원료로서의 아스파라거스 뿌리 추출물 등록을 위한 제출자료 및 향후 건강기능식품 품질관리의 목적으로 활용될 것으로 사료된다.

5 인용문헌

- 관세청. (2020). 수출입물류통계연보 2019. 관세청·한국무역통계진흥원 편. 대전: 관세청
- 김윤정, 한송희, 전지영, 황민호, 임용진, 채수완, & 김민걸. (2012). 고창 복분자의 기능성원료 표준화를 위한 지표성분으로서 Ellagic Acid 의 분석법 개발. 한국식품영양과학회지, 41(11), 1554-1558.
- Adouni, K., Zouaoui, O., Chahdoura, H., Thouri, A., Lamine, J. B., Santos-Buelga, C., ... & Neffati, F. (2018). In vitro antioxidant activity, α -glucosidase inhibitory potential and in vivo protective effect of Asparagus stipularis Forssk aqueous extract against high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Functional Foods*, 47, 521-530.
- Ahmed, S., Salehi, S., Ezeakacha, C. P., & Teodoriu, C. (2019). Evaluation of liner hanger seal assembly and cement sheath as a dual barrier system: Implications for industry standards. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 178, 1092-1103.
- Alexander, E. K., Pearce, E. N., Brent, G. A., Brown, R. S., Chen, H., Dosiou, C., ... & Peeters, R. P. (2017). 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum. *Thyroid*, 27(3), 315-389.
- Applezweig, N. (1987). U.S. Patent No. 4,680,289. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

- Brueckner, B., Schwarzbach, A., & Schrödter, R. (2010). Correlation between sugar and saponin contents and sensory attributes of white asparagus. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5(3-4), 305-311.
- Chitrakar, B., Zhang, M., & Adhikari, B. (2019). Asparagus (*Asparagus officinalis*): Processing effect on nutritional and phytochemical composition of spear and hard-stem byproducts. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 1-11.
- Chua, L. S. (2013). A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of ethnopharmacology*, 150(3), 805-817.
- Denton, O. A., Schippers, R. R., & Oyen, L. P. A. (2004). Plant resources of tropical Africa, 2: Vegetables. *Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/CTA, Wageningen Pays-Bas*, 522-526.
- Elsaid, F. G., Shati, A. A., & Sarhan, M. A. (2015). Role of *Matricaria recutita* L. and *Asparagus officinalis* L. against the neurotoxicity of diazinon in rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 72, 26-35.
- Fadda, A., Barberis, A., & Sanna, D. (2018). Influence of pH, buffers and role of quinolinic acid, a novel iron chelating agent, in the determination of hydroxyl radical scavenging activity of plant extracts by Electron Paramagnetic Resonance (EPR). *Food chemistry*, 240, 174-182.

6 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2020(1년)	영농정보	LC-MS/MS를 활용한 아스파라거스 뿌리의 지표성분 분석법 개발(중앙)
	특허출원	아스파라거스 뿌리 지표성분 분석
	학술발표	Standarization of a functional food ingredient using roots of <i>Asparagus officinalis</i> L. extract
	지도·컨설팅	아스파라거스 전초 활용 관련 현장컨설팅
	홍보	강원도농업기술원 아스파라거스 뿌리줄기로 기능성 개발 연구 착수

성과지표명		연 도	1년차(2020)		계	
			목표	실적	목표	실적
특허	출원		1	1	1	1
	등록					
학술 발표	국제					
	국내		1	1	1	1
영농 활용	기술					
	정보		1	1	1	1

성과지표명	연 도	1년차(2020)		계	
		목표	실적	목표	실적
농가 기술지도/ 컨설팅/현장기술지원		1	3	1	3
홍 보		1	9	1	9
계		5	15	5	15

7 연구원 편성

구 분	소 속	직 급	성 명	수행업무	참여년도
					'20
과제책임자	강원대학교	교 수	박경철	과제 총괄	○
2세부책임자	농식품연구소	농업연구사	이재희	세부주관 수행	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구사	이기연	시험수행 및 평가	○
	농식품연구소	"	박아름	품질조사 지원	○
	농식품연구소	농업연구관	최성진	품질조사 지원	○
	농식품연구소	공무직	김다솜	평가분석 지원	○
	농식품연구소	공무직	김태희	평가분석 지원	○
	농식품연구소	공무직	정은자	시료 전처리	○