

# 건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안) 행정예고



식품의약품안전처

## 식품의약품안전처 공고 제2017-436호

「건강기능식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처고시 제2016-143호, 2016.12.21.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2017년 11월 30일

식품의약품안전처장

### 「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부 개정고시(안) 행정예고



Ministry of Trade,  
Industry and Energy

#### 1. 개정 이유

「건강기능식품의 기준 및 규격」 중 기능성 원료의 추가 등재 요건에 충족한 개별 인정된 기능성 원료를 고시하여, 다양한 제품 생산·유통 등으로 산업활성화를 도모하고 소비자의 선택 범위를 확대하는데 기여하고자 함

#### 2. 주요 내용

##### 가. 기능성 원료의 추가 등재[안 제 3, 2-68, 2-69]

- 1) 백수오·한속단·당귀열수추출물, 회화나무열매추출물의 기준 및 규격 신설

## 나. 시험법 신설[안 제 4, 3-50-3, 3-82, 3-83, 3-84]

- 1) 기능성 원료 추가에 따른 시험법 신설
- 2) 계피산(제3법 백수오 중 함량), 산지사이드 메틸에스테르, 노다케닌, 소포리코사이드 등 4개 시험법을 신설함

## 3. 의견 제출

「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2018년 1월 30일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처장(우편번호 : 28159, 주소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운 식품의약품안전처, 참조 : 식품기준과, (전화) 043-719-2439, (팩스) 043-719-2400) 에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 이유)

나. 성명(단체의 경우 단체명과 그 대표자의 성명), 주소 및 전화번호

다. 기타 참고사항

식품의약품안전처 고시 제2018- 호

「건강기능식품에 관한 법률」 제14조 및 제15조에 따른 「건강기능식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처 고시 제2017-143호, 2016.12.21.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2018년 월 일

식품의약품안전처장

### 건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)

건강기능식품의 기준 및 규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제 3. 2-68 백수오·한속단·당귀 열수추출물을 다음과 같이 신설한다.

2-68 백수오·한속단·당귀 열수추출물

#### 1) 제조기준

- (1) 원재료 : 백수오(*Cynanchum wilfordi* Hemsl.)의 덩이뿌리, 한속단(*Phlomis umbrosa* Turcz.)의 뿌리, 당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 뿌리
- (2) 제조방법 : 상기 (1)의 원재료를 선별 및 분쇄하여 백수오, 한속단, 당귀를 1:1:1.08의 비율로 혼합하여 95℃ 이상, 4시간동안 열수 추출하여 여과·농축하여 동결건조 또는 분무건조하여 제조하여야 함
- (3) 기능성분(또는 지표성분)의 함량 : 계피산(Cinnamic acid) 0.01~0.04

mg/g, 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester) 0.5~1.5

mg/g, 노다케닌(Nodakenin) 3.9~8.0 mg/g을 함유하고 있어야 함

## 2) 규격

(1) 성상 : 고유의 색택과 향미를 가지며 이미·이취가 없어야 함

(2) 계피산, 산지사이드 메틸에스테르, 노다케닌

(가) 원료성 제품 : 표시량 이상

(나) 최종제품 : 표시량의 80~120%

(3) 대장균군 : 음성

## 3) 최종제품의 요건

(1) 기능성 내용

갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음

(2) 일일섭취량 : 하루 한속단·당귀 열수추출물로서 514 mg

(3) 섭취 시 주의사항

(가) 임신부와 수유부는 섭취에 주의

(나) 항응고제 또는 항혈전제를 복용하는 사람은 의사와 상담 후에 섭취하여야 함

## 4) 시험법

(1) 계피산 : 제 4. 3-50-3 계피산(제3법 백수오 중 함량)

(2) 산지사이드 메틸에스테르 : 제 4. 3-82 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester)

(3) 노다케닌 : 제 4. 3-83 노다케닌(Nodakenin)

(4) 대장균균 : [별표 4] 참조

제 3. 2-69 회화나무열매추출물을 다음과 같이 신설한다.

#### 2-69 회화나무열매추출물

##### 1) 제조기준

(1) 원재료 : 회화나무(*Sophora Japonica L*)의 열매

(2) 제조방법 : 상기 (1)의 원재료를 선별, 세척하고 80℃, 60% 주정으로 2시간 이상 추출하고, 냉각, 농축, 정치, 침전물을 회수한 후 분무 건조하여 제조하여야 함

(3) 기능성분(또는 지표성분)의 함량 : 소포리코사이드(Sophoricoside)으로서 100~150  $\mu$ g/g 함량 이상이어야 함

##### 2) 규격

(1) 성상 : 고유의 색택과 향미를 가지며 이질·이취가 없어야 함

(2) 소포리코사이드

(가) 원료성 제품 : 표시량 이상

(나) 최종제품 : 표시량의 80~120%

(3) 대장균균 : 음성

##### 3) 최종제품의 요건

(1) 기능성 내용 : 갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음

(2) 일일섭취량 : 회화나무열매추출물로서 350 mg

(3) 섭취 시 주의사항

(가) 어린이, 임산부, 수유부는 섭취에 주의

(나) 에스트로겐 호르몬에 민감한 사람은 섭취에 주의

#### 4) 시험법

(1) 소포리코사이드 : 제 4. 3-84 소포리코사이드(Sophoricoside)

(2) 대장균균 : [별표 4] 참조

제 4. 3-50, 3-50-3 계피산(제3법)을 다음과 같이 신설한다.

#### 3-50-3 계피산(제3법)

##### 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 계피산을 수산화나트륨용액으로 환류 가열한 후 에틸 아세테이트로 추출하고 메탄올에 녹여 최대흡수파장인 280 nm에서 액체 크로마토그래프/UV-흡광광도검출기를 이용하여 정량 분석한다.

##### 2. 장비와 재료

###### 2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 둥근바닥플라스크(250 mL, 500 mL)

2.1.2 부피플라스크(50 mL)

2.1.3 분액여두(500 mL)

2.1.4 용매용 일회용 실린지

2.1.5 여과용 멤브레인 필터

2.1.6 환류냉각기

2.1.7 감압농축기

## 2.2 분석장비

### 2.2.1 고속액체크로마토그래프

### 2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

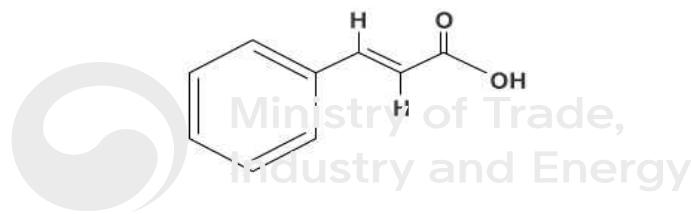
### 2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전제 Octadecyl silica, 충전입자크기 5 $\mu\text{m}$ ) 또는 이와 동등한 것

## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

#### 3.1.1 계피산(Cinnamic acid, *trans*-3-Phenylacrylic acid)

분자식:  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$ , 분자량: 148.16, CAS No.: 140-10-3



### 3.2 일반시약

#### 3.2.1 메탄올(Methanol, HPLC grade)

#### 3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

#### 3.2.3 에틸아세테이트(Ethyl acetate)

#### 3.2.4 수산화나트륨(Sodium Hydroxide)

#### 3.2.5 초산(Acetic acid)

#### 3.2.6 염산(Hydrochloric acid)

## 4. 시험과정

### 4.1 표준용액의 조제



4.1.1 계피산 표준물질 10 mg을 정밀하게 칭량하여 50 mL 부피플라스크에 취한 후 메탄올로 정용하여 표준원액으로 한다.

4.1.2 표준원액을 메탄올로 적절히 희석하여 표준용액으로 사용한다.

## 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 계피산으로 약 0.03 mg에 상당하는 시료를 취하여 둥근바닥플라스크에 넣은 후 100 mL 1 N 수산화나트륨용액을 가한다.

4.2.2 환류냉각기를 이용하여 55 ℃에서 1시간 동안 환류 가열한다.

4.2.3 가수분해한 시료를 6 N 염산용액으로 중화시킨다(pH 3 ~ 4).

4.2.4 이 용액을 분액여두에 취한 후 에틸아세테이트 150 mL을 가하여 진탕한다.

4.2.5 정치 후 하층을 눈길하여 여기에 에틸아세테이트 150 mL을 가하여 추출한다.

4.2.6 에틸아세테이트 층을 합하여 감압농축한다.

4.2.7 위의 용액을 50 mL 부피플라스크에 넣은 후 메탄올로 정용한 후 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

## 5. 분석 및 계산

### 5.1 기기분석

표 1. 고속액체 크로마토그래프/자외부흡광광도검출기 조건

항목	조건
주입량	10 $\mu$ L
칼럼온도	40℃
이동상	A : 0.5% 초산용액, B : 메탄올
검출기 파장	280 nm
유량	1.0 mL/분

표 2. 고속액체 크로마토그래프/자외부흡광광도검출기 이동상 조건

시간(분)	이동상(%)	
	A	B
0	55	45
15	50	50
15.1	0	100
25	0	100
25.1	55	45
35	55	45

## 5.2 계산

5.2.1 계피산의 함량(mg/g) =  $C \times (a \times b) / S$

C : 시험용액 중 계피산의 농도(mg/mL)

a : 시험용액 전량(mL)

b : 회석배수

S : 시료무게(g)

제 4. 3. 3-82 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester)을 다음과 같이 한다.

3-82 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester)

## 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 메탄올을 이용하여 시료 중 산지사이드 메틸에스테르를 추출하고 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 최대 흡수 파장인 235 nm에서 정량 분석하는 방법이다.

## 2. 장비와 재료

### 2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 둥근바닥플라스크

2.1.2 원심분리관(50 mL)

2.1.3 감압농축기

2.1.4 건조기(Dry oven)

2.1.5 원심분리기

### 2.2 분석 장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전입자크기 3  $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것

## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

3.1.1 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester)

분자식 :  $C_{17}H_{26}O_{11}$ , 분자량 : 406.4, CAS No. : 64421-28-9



### 3.2 일반시약

3.2.1 메탄올(Methanol)

3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile)

3.2.3 인산용액(Phosphoric acid)

## 4. 시험과정

### 4.1 표준용액의 제조

4.1.1 산지사이드 에스테르 10 mg을 정확히 달아 50mL 용량플라스크에 정밀하게 취한 후 메탄올로 용해한 후 적절히 희석하여 사용한다.

### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 1g을 정확히 달아 메탄올 50 mL에 넣고 2시간 동안 초음파 추출한다.

4.2.2 이 용액을 여과하고 감압농축한 후 50mL로 정용하고 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인 필터로 여과한다.

## 5. 분석 및 계산

### 5.1 기기분석

### 5.1.1 고속액체크로마토그래프 조건

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건

항목	조건
주입량	20 uL
검출기 파장	235 nm
이동상	A : 0.5 % 인산용액, B : 아세트니트릴
유속	0.6 mL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액 (%)	B 용액 (%)
0	95	5
20	83	17
30	78	22
40	70	30
40.1	95	5
45	95	5

## 5.2 계산

$$5.2.1 \text{ 산지사이드 메틸에스테르 함량(mg/g)} = C \times \frac{a}{s} \times b$$

C : 시험용액의 농도

a : 시험용액 전량(mL)

s : 시료 채취량(g)

b : 표준물질의 순도

제 4. 3. 3-83 노다케닌(Nodakenin)을 다음과 같이 한다.

### 3-83 노다케닌(Nodakenin)

#### 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 노다케닌을 메탄올로 환류추출한 후 고속액체크로마토그래프/자외분광광도검출기를 이용하여 최대 흡수 파장인 330 nm에서 정량 분석하는 방법이다.

#### 2. 장비와 재료

##### 2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 둥근바닥플라스크

2.1.2 원심분리관(50 mL)

2.1.3 감압농축기

2.1.4 건조기(Drying oven)

2.1.5 원심분리기

Ministry of Trade,  
Industry and Energy

##### 2.2 분석 장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

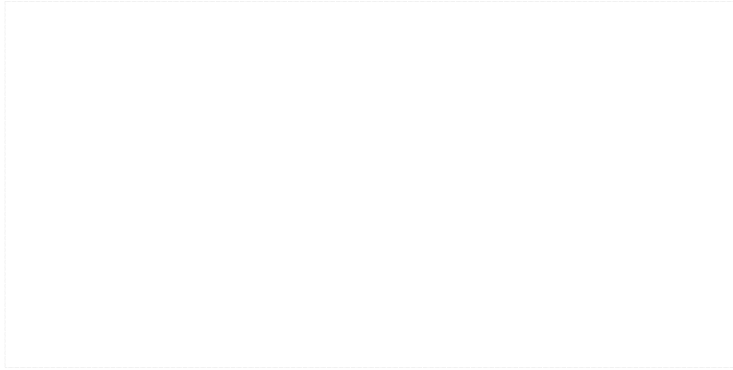
2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전입자크기 5  $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것

#### 3. 표준물질 및 일반시약

##### 3.1 표준물질

3.1.1 노다케닌(Nodakenin)

분자식 :  $C_{20}H_{24}O_9$ , 분자량 : 408, CAS No. : 15291-75-5



### 3.2 일반시약

#### 3.2.1 메탄올(Methanol)

#### 3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile)

### 4. 시험과정

#### 4.1 표준용액의 조제

4.1.1 노다케닌 10 mg을 정확히 달아 50mL 용량플라스크에 정밀하게 취한 후 메탄올로 용해한 후 적절히 희석하여 사용한다.

#### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 0.5g을 정확히 달아 메탄올 20 mL에 넣고 100℃에서 1시간 환류추출한 후 여과한다.

4.2.2 이 용액에 메탄올 20mL을 넣어 같은 방법으로 조작하여 여액을 합한 후 50mL로 정용하고 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인 필터로 여과한다.

### 5. 분석 및 계산

#### 5.1 기기분석

##### 5.1.1 고속액체크로마토그래프 조건

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건

항목	조건
주입량	20 uL
검출기 파장	330 nm
이동상	A : 아세토니트릴, B : 물
유속	1.0 mL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액 (%)	B 용액 (%)
0	20	80
3	20	80
8	30	70
18	30	70
19	50	50
40	50	50
41	90	10
50	90	10

## 5.2 계산

$$5.2.1 \text{ 산지사이드 메틸에스테르 함량(mg/g)} = C \times \frac{a}{s} \times b$$

C : 시험용액의 농도

a : 시험용액 전량(mL)

s : 시료 채취량(g)

b : 표준물질의 순도

제 4. 3. 3-84 소포리코사이드(Sophorocside)을 다음과 같이 한다.

3-84 소포리코사이드(Sophoricoside)



## 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 소포리코사이드를 메탄올로 60분 동안 초음파 추출하고, 최대흡수파장인 260 nm에서 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 정량분석한다.

## 2. 장비와 재료

### 2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1. 부피플라스크(100 mL)

2.1.2. 용매용 일회용 실린지

2.1.3. 여과용 멤브레인필터 및 디스크형 멤브레인 필터

2.1.4. 액체크로마토그래피용 유리병

2.1.5. 초음파진탕기

### 2.2 분석장비

2.2.1. 고속액체크로마토그래피

2.2.2. 자외부흡광광도 검출기 (UV Detector) 또는 포토다이오드어레이 검출기(Photodiode array)

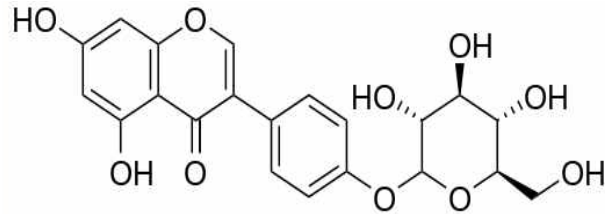
2.2.3. Capcell pak C<sub>18</sub> MG II 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전 입자 크기 5μm) 또는 이와 동등한 것

## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

3.1.1. 소포리코사이드(Sophoricoside)

분자식 : C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>, 분자량 : 432.38 g/mol, CAS No. : 152-95-4



### 3.2 일반시약

- 3.2.1. 메탄올 (Methanol)
- 3.2.2. 아세토니트릴 (Acetonitrile)
- 3.2.3. 증류수 (Distilled water)
- 3.2.4. 초산 (Acetic acid)

## 4. 시험과정

### 4.1. 표준용액의 조제

- 4.1.1. 표준물질 스폐리노사이드를 10 mg을 정밀하게 칭량하여 10 ml 부피 플라스크에 녹인다.
- 4.1.2. 메탄올을 넣어 표선까지 맞춘다.
- 4.1.3. 위의 표준원액을 메탄올로 적절히 희석하여 표준용액으로 한다.

### 4.2 시험용액의 조제

- 4.2.1. 시료 약 25 mg을 100 mL 부피플라스크에 정밀히 취하여 메탄올로 정용한다.
- 4.2.2. 위의 용액을 60분 동안 초음파 추출한다.
- 4.2.3. 위의 용액을 메탄올로 적절히 희석한 후 0.45  $\mu$ m 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험용액으로 한다.

## 5. 분석 및 계산

### 5.1 기기 분석

표 1. 고속액체크로마토그래피 조건

항목	조건
주입량	5 uL
칼럼온도	30 ℃
이동상	A - 증류수 : 초산 = 100 : 0.1 B - 아세토니트릴 : 초산 = 100 : 0.1
검출기 파장	260 nm
유속	1.0 mL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	A 용액(%)	B 용액(%)
0	85	15
5	85	15
15	55	45
17	50	50
21	50	50
23	85	15
25	85	15

## 5.2 계산

5.2.1. 소포리코사이드 함량 (mg/g) =  $C \times (a \times b) / S$

C : 시험용액중의 소포리코사이드 농도( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

S : 시료 채취량(mg)

a : 시험용액의 전량(ml)

b : 희석배수

## 부칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시 후 1년이 경과한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 이후 최초로 제조·가공 또는 수입한 건강기능식품(원료를 포함한다)부터 적용한다.

제3조(경과조치) ① 이 고시 시행 당시 검사가 접수되어 진행 중인 사항에 대하여는 종전의 규정에 따른다.

② 이 고시 시행 당시 종전의 규정에 따라 제조·가공·수입(선적일을 기준으로 한다)한 건강기능식품은 종전의 규정에 따른다. 이 경우 해당 건강기능식품은 그 유통기한까지 판매할 수 있다.



Ministry of Trade,  
Industry and Energy

## 신 · 구조문대비표

현 행	개 정 안
제 1. 총칙 (생 략)	제 1. 총칙 (현행과 같음)
제 2. 공통 기준 및 규격 (생 략)	제 2. 공통 기준 및 규격 (현행과 같음)
제 3. 개별 기준 및 규격	제 3. 개별 기준 및 규격
1. 영양소	1. 영양소
1-1 ~ 1-28 (생 략)	1-1~1-28 (현행과 같음)
2. 기능성 원료	2. 기능성 원료
2-1 ~ 2-67 (생 략)	2-1 ~ 2-67 (현행과 같음)
<u>&lt;신 설&gt;</u>	<u>2-68 백수오·한속단·당귀 열수추출물</u>
	1) <u>제조기준</u>
	(1) <u>원재료 : 백수오(<i>Cynanchum wilfordi</i> Hemsely)의 덩이뿌리, 한속단(<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz)의 뿌리, 당귀(<i>Angelica gigas</i> Nakai)의 뿌리</u>
	(2) <u>제조방법 : 상기 (1)의 원재료를 선별 및 분쇄하여 백수오, 한속단, 당귀를 1:1:1.08의 비율로 혼합하여 95℃ 이상, 4</u>

시간동안 열수추출하여 여과·  
농축하여 동결건조 또는 분무  
건조하여 제조하여야 함

(3) 기능성분(또는 지표성분)의 함  
량 : 계피산(Cinnamic acid)  
0.01~0.04 mg/g, 산지사이드  
메틸에스테르(Shanzhiside  
methylester) 0.5~1.5 mg/g,  
노다케닌(Nodakenin) 3.9~8.0  
mg/g을 함유하고 있어야 함

## 2) 규격

(1) 성상 : 고유의 색택과 향미를  
가지며, 이미·이취가 없어야  
함

(2) 계피산, 산지사이드 메틸에스  
테르, 노다케닌

(가) 원료성 제품 : 표시량 이상

(나) 최종제품 : 표시량의 80~1  
20%

(3) 대장균군 : 음성

## 3) 최종제품의 요건

(1) 기능성 내용

갱년기 여성의 건강에 도움을  
줄 수 있음

(2) 일일섭취량 : 백수오·한속단·

당귀 열수추출물로서 514 mg(계피 산으로서 0.00514~0.02056 mg, 산 지사이드 메틸에스테르로서 0.257 ~0.771 mg, 노다케닌으로서 2.004 6~4.112 mg)

(3) 섭취 시 주의사항

(가) 임신부와 수유부는 섭취에 주의

(나) 항응고제 또는 항혈전제를 복용하는 사람은 의사와 상담 후에 섭취하여야 함

4) 시험법

(1) 계피산 : 제 4. 3-50, 3-50-3 계피산(제3법)

(2) 산지사이드 메틸에스테르 : 제 4. 3-82 산지사이드 메틸에스테르 (Shanzhiside methylester)

(3) 노다케닌 : 제4. 3-83 노다케닌 (Nodakenin)

(4) 대장균균 : [별표 4] 참조

2-69 회화나무열매추출물

1) 제조기준

(1) 원재료 : 회화나무(*Sophora Japonica L*)의 열매

(2) 제조방법 : 상기 (1)의 원재료

<신 설>

를 선별, 세척하고 80℃, 60% 주  
정으로 2시간 이상 추출하고, 냉  
각, 농축, 정치, 침전물을 회수한  
후 분무 건조하여 제조하여야 함  
(3) 기능성분(또는 지표성분)의 함  
량 : 소포리코사이드(Sophoricoside)  
으로서 100~150 mg/g 함유하고 있  
어야 함

## 2) 규격

(1) 성상 : 고유의 색택과 향미를  
가지며 이미·이취가 없어야 함

(2) 소포리코사이드

(가) 원료성 제품 : 표시량 이상

(나) 최종제품 : 표시량의 80~1  
20%

(3) 대장균군 : 음성

## 3) 최종제품의 요건

(1) 기능성 내용 : 갱년기 여성의  
건강에 도움을 줄 수 있음

(2) 일일섭취량 : 회화나무열매추  
출물로서 350 mg(소포리코사이드  
로서 35~52.5 mg)

(3) 섭취 시 주의사항

(가) 어린이, 임산부, 수유부는  
섭취를 주의해야 함



제 4. 건강기능식품 시험법

1. ~2. (생 략)

3. 개별성분별 시험법

3-1 ~ 3-49 (생 략)

3-50 (생 략)

3-50-1 ~ 3-50-2(새 략)

<신 설>

(나) 에스트로겐 호르몬에 민감한 사람은 섭취에 주의

4) 시험법

(1) 소포리코사이드 : 제 4. 3-84

소포리코사이드(Sophoricoside)

(2) 대장균균 : [별표 4] 참조

제 4. 건강기능식품 시험법

1. ~2. (현행과 같음)

3. 개별성분별 시험법

3-1 ~ 3-49 (현행과 같음)

3-50 (현행과 같음)

3-50-1 ~ 3-50-2(현행과 같음)

3-50-3 계피산(제3법)

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 계피산을 수산화나트륨용액으로 환류가열 후 에틸아세테이트로 추출하고 메탄올에 녹여 최대흡수파장인 280 nm에서 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 정량 분석한다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 둥근바닥플라스크(250 mL, 500 mL)

2.1.2 부피플라스크(50 mL)

2.1.3 분액여두(500 mL)

2.1.4 용매용 일회용 실린지

2.1.5 여과용 멤브레인 필터

2.1.6 환류냉각기

2.1.7 감압농축기

## 2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV  
Detector)

2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지  
름 4.6 mm, 길이 250 mm,  
충전제 Octadecyl silica, 충  
전입차크기 5  $\mu$ m) 또는 이  
와 동등한 것

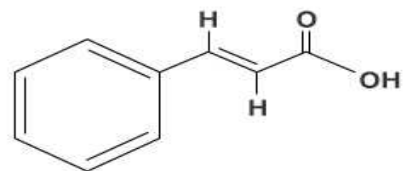
## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

3.1.1 계피산(Cinnamic acid,  
*trans*-3-Phenylacrylic acid)

분자식:  $C_9H_8O_2$ , 분자량: 148.16,

CAS No.: 140-10-3



### 3.2 일반시약

3.2.1 메탄올(Methanol, HPLC grade)

3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

3.2.3 에틸아세테이트(Ethyl acetate)

3.2.4 수산화나트륨(Sodium Hydroxide)

3.2.5 초산(Acetic acid)

3.2.6 염산(Hydrochloric acid)

#### 4. 시험과정

##### 4.1 표준용액의 조제

4.1.1 계피산 표준물질 10 mg을 정밀하게 칭량하여 50 mL 부피 플라스크에 취한 후 메탄올로 정용하여 표준원액으로 한다.

4.1.2 표준원액을 메탄올로 적절히 희석하여 표준용액으로 사용한다.

##### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 계피산으로 약 0.03 mg에 상당하는 시료를 취하여 등근 바닥플라스크에 넣은 후 100 mL 1 N 수산화나트륨용액을 가한다.

4.2.2 환류냉각기를 이용하여 55℃에서 1시간 동안 환류 가열한다.

4.2.3 가수분해한 시료를 6 N 염산

용액으로 중화시킨다(pH 3 ~ 4).

4.2.4 이 용액을 분액여두에 취한 후 에틸아세테이트 150 mL을 가하여 진탕한다.

4.2.5 정치 후 하층을 분리하여 여기에 에틸아세테이트 150 mL을 가하여 추출한다.

4.2.6 에틸아세테이트 층을 합하여 감압농축한다.

4.2.7 위의 용액을 50 mL 부피플라스크에 넣은 후 메탄올로 정용한 후 0.45 µm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

## 5. 분석 및 계산

### 5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기 조건

항목	조건
주입량	10 µL
칼럼온도	40℃
이동상	A : 0.5% 초산용액, B : 메탄올
검출기 파장	280 nm
유량	1.0 mL/분

<신 설>

표 2. 고속액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기 이동상 조건

시간(분)	이동상(%)	
	A	B
0	55	45
15	50	50
15.1	0	100
25	0	100
25.1	55	45
35	55	45

## 5.2 계산

$$5.2.1 \text{ 계피산의 함량(mg/g)} = C \times (a \times b) / S$$

C : 시험용액 중 계피산의 농도 (mg/mL)

a : 시험용액 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료무게(g)

3-82 산지사이드 메틸에스테르(Shanzhiside methylester)

### 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 메탄올을 이용하여 시료 중 산지사이드 메틸에스테르를 추출하고 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 최대 흡수 파장인 235 nm에서 정량 분석하는 방법이다.

## 2. 장비와 재료

### 2.1 실험실 장비 및 소모품

#### 2.1.1 둥근바닥플라스크

#### 2.1.2 원심분리관(50 mL)

#### 2.1.3 감압농축기

#### 2.1.4 건조기(Dry oven)

#### 2.1.5 원심분리기

### 2.2 분석 장비

#### 2.2.1 고속액체크로마토그래프

#### 2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

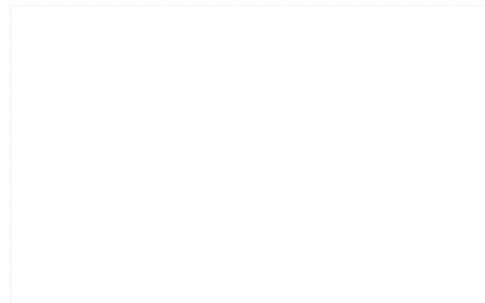
#### 2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지 름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전입자크기 3 $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것

## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

#### 3.1.1 산지사이드 메틸에스테르 (Shanzhiside methylester)

분자식 :  $C_{17}H_{26}O_{11}$ , 분자량 :  
406.4, CAS No. : 64421-28-9



### 3.2 일반시약

3.2.1 메탄올(Methanol)

3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile)

3.2.3 인산용액(Phosphoric acid)

#### 4. 시험과정

##### 4.1 표준용액의 조제

4.1.1 산지사이드 메틸에스테르  
10 mg을 정확히 달아  
50mL 용량플라스크에 정  
밀하게 취한 후 메탄올로  
용해한 후 적절히 희석하  
여 사용한다.

##### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 1g을 정확히 달아 메  
탄올 50 mL에 넣고 2시간  
동안 초음파 추출한다.

4.2.2 이 용액을 여과하고 감압농  
축한 후 50mL로 정용하고  
0.45  $\mu$ m 멤브레인 필터로 여  
과한다.

#### 5. 분석 및 계산

##### 5.1 기기분석

5.1.1 고속액체크로마토그래프 조  
건

<신 설>

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건

항목	조건
주입량	20 uL
검출기 파장	235 nm
이동상	A : 0.5 % 인산용액, B : 아세토니트릴
유속	0.6 mL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액 (%)	B 용액 (%)
0	95	5
20	83	17
30	78	22
40	70	30
40.1	95	5
45	95	5

## 5.2 계산

### 5.2.1 산지사이드 메틸에스

$$\text{테르 함량(mg/g)} = \frac{C}{s} \times \frac{a}{s} \times b$$

C : 시험용액의 농도

a : 시험용액 전량(mL)

s : 시료 채취량(g)

b : 표준물질의 순도

### 3-83 노다케닌(Nodakenin)

#### 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 노다케닌을 메탄올로 환류추출한 후 고속액체 크로마토그래프/자외분광광도검출



기를 이용하여 최대 흡수 파장인 330 nm에서 정량 분석하는 방법이다.

## 2. 장비와 재료

### 2.1 실험실 장비 및 소모품

#### 2.1.1 둥근바닥플라스크

#### 2.1.2 원심분리관(50 mL)

#### 2.1.3 감압농축기

#### 2.1.4 건조기(Dry oven)

#### 2.1.5 원심분리기

### 2.2 분석 장비

#### 2.2.1 고속액체크로마토그래프

#### 2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

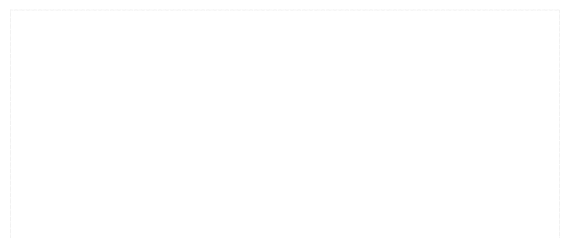
#### 2.2.3 옥타데실실릴화한 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전입자크기 5 $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것

## 3. 표준물질 및 일반시약

### 3.1 표준물질

#### 3.1.1 노다케닌(Nodakenin)

분자식 :  $C_{20}H_{24}O_9$ , 분자량 : 408,  
CAS No. : 15291-75-5



### 3.2 일반시약

#### 3.2.1 메탄올(Methanol)

#### 3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile)

### 4. 시험과정

#### 4.1 표준용액의 조제

4.1.1 노다케닌 10 mg을 정확히 달아 50 mL 용량플라스크에 정밀하게 취한 후 메탄올로 용해한 후 적절히 희석하여 사용한다.

#### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 0.5g을 정확히 달아 메탄올 20 mL에 넣고 100℃에서 1시간 환류추출한 후 여과한다.

4.2.2 이 용액에 메탄올 20mL을 넣어 같은 방법으로 조작하여 여액을 합한 후 50mL로 정용하고 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인 필터로 여과한다.

### 5. 분석 및 계산

#### 5.1 기기분석

5.1.1 고속액체크로마토그래프 조건

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건

항목	조건
주입량	20 uL
검출기 파장	330 nm
이동상	A : 아세토니트릴, B : 물
유속	1.0 mL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액 (%)	B 용액 (%)
0	20	80
3	20	80
8	30	70
18	30	70
19	50	50
40	50	50
41	90	10
50	90	10

## 5.2 계산

### 5.2.1 산지사이드

$$\text{메틸에스테르 함량(mg/g)} = \frac{C}{s} \times \frac{a}{b}$$

C : 시험용액의 농도

a : 시험용액 전량(mL)

s : 시료 채취량(g)

b : 표준물질의 순도

## <신 설>

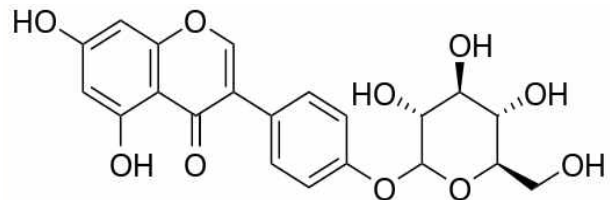
### 3-84 소포리코사이드(Sophoricoside)

#### 1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 소포리코사

	<p><u>이드를 메탄올로 60분 동안 초음파 추출하고 최대 흡수파장인 260 nm에서 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 분석하는 방법으로 정량분석한다.</u></p> <p><u>2. 장비와 재료</u></p> <p><u>2.1 실험실 장비 및 소모품</u></p> <p><u>2.1.1. 부피플라스크(100 ml)</u></p> <p><u>2.1.2. 용매용 일회용 실린지</u></p> <p><u>2.1.3. 여과용 멤브레인필터 및 디스크형 멤브레인 필터</u></p> <p><u>2.1.4. 액체크로마토그래피용 유리병</u></p> <p><u>2.1.5. 초음파진탕기</u></p> <p><u>2.2 분석장비</u></p> <p><u>2.2.1. 고속액체크로마토그래프</u></p> <p><u>2.2.2. 자외부흡광광도 검출기 (UV Detector) 또는 포토다이오드 어레이 검출기 (Photodiode array)</u></p> <p><u>2.2.3. Capcell pak C<sub>18</sub> MG II 칼럼 (안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전 입자 크기 5μm) 또는 이와 동등한 것</u></p> <p><u>3. 표준물질 및 시약</u></p> <p><u>3.1 표준물질</u></p> <p><u>3.1.1. 소포리코사이드(Sophoricoside)</u></p>
--	---

분자식 :  $C_{21}H_{20}O_{10}$ , 분자량 :  
432.38 g/mol, CAS No. :  
152-95-4



### 3.2 일반시약

3.2.1. 메탄올 (Methanol)

3.2.2. 아세토니트릴 (Acetonitrile)

3.2.3. 증류수 (Distilled water)

3.2.4. 초산 (Acetic acid)

### 4. 시험과정

#### 4.1. 표준용액의 조제

4.1.1. 소포리코사이드 표준물질 10 mg을 정밀하게 칭량하여 10 ml 부피플라스크에 취한 후 메탄올로 정용하여 표준원액으로 한다.

4.1.2. 표준원액을 메탄올로 적절히 희석하여 표준용액으로 한다.

#### 4.2 시험용액의 조제

4.2.1. 시료 약 25 mg을 100 mL 부피플라스크에 정밀히 취하여 메탄올로 정용한다.

4.2.2. 위의 용액을 60분 동안 초

음파 추출한다.

4.2.3. 위의 용액을 메탄올로 적절히 희석한 후 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험용액으로 한다.

## 5. 분석 및 계산

### 5.1 기기 분석

표 1. 고속액체크로마토그래피 조건

<u>항목</u>	<u>조건</u>
<u>주입량</u>	<u>5 μL</u>
<u>칼럼온도</u>	<u>30 °C</u>
<u>이동상</u>	<u>A - 증류수 : 초산 = 100 : 0.1</u> <u>B - 아세토니트릴 : 초산 = 100 : 0.1</u>
<u>검출기 파장</u>	<u>260 nm</u>
<u>유속</u>	<u>1.0 mL/분</u>

표 2. 이동상 조건

<u>시간(분)</u>	<u>A 용액(%)</u>	<u>B 용액(%)</u>
<u>0</u>	<u>85</u>	<u>15</u>
<u>5</u>	<u>85</u>	<u>15</u>
<u>15</u>	<u>55</u>	<u>45</u>
<u>17</u>	<u>50</u>	<u>50</u>
<u>21</u>	<u>50</u>	<u>50</u>
<u>23</u>	<u>85</u>	<u>15</u>
<u>25</u>	<u>85</u>	<u>15</u>

### 5.2 계산

5.2.1. 소포리코사이드 함량  
(mg/g) = C × (a × b)/S  
C : 시험용액중의 소포리코사이드

	<p><u>농도(<math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>)</u></p> <p><u>S : 시료 채취량(mg)</u></p> <p><u>a : 시험용액의 전량(ml)</u></p> <p><u>b : 희석배수</u></p>
--	---



Ministry of Trade,  
Industry and Energy