

민속주 부재료로 이용되는 식물성 방향재료 및 약용재료중의 Asarone, Coumarin, Thujone의 분석

조정옥 · 김선민¹ · 김경수*

¹동신대학교 식품생물공학과, 조선대학교 식품영양학과

초 록 : 전통민속주 제조에 이용되는 부재료 가운데 휘발성 향기성분인 asarone, coumarin, thujone 등 식품에 허용기준이 제한된 독성 관련 향기성분을 함유하고 있는 식물성 방향재료 및 약용재료를 확인, 분류하기 위하여 이들의 20% ethanol 추출액으로부터 고상추출(solid phase extraction) 방법을 이용하여 각 성분을 흡착, 용리시킨 후 GC-FID와 GC/MS로 검출, 확인하였다. 조사대상 87종의 식물성재료 중 창포(*Acorus asiaticus* Nakai), 석창포(*Acorus gramineus* Solander), 당귀(*Angelica gigus* Nakai), 백단향(*Santalum album*) 등 6종에서 asarone이 검출되었으며, coumarin은 소회향(*Anethum graveolens*), 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner), 자초(*Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarini) 등 22종에서 검출되었다. 한편, 우실(*Achyranthes japonica* Nakai), 사인(*Amomum xanthiodes* Wallich), 약쑥(*Artemisia asiatica* Nakai), 대마자(*Cannabis sativa* L.) 씨, 골담초(*Caragana sinica* R.), 국화(*Chrysanthemum morifolium* Ramat), 사삼(*Codonopsis lanceolata* Bentham et flooker), 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner) 등 24종에서는 thujone을 확인하였다. (1999년 4월 20일 접수, 1999년 5월 12일 수리)

서 론

최근 우리 민족 고유의 식문화를 계승, 발전시키기 위한 노력의 일환으로 정부는 그동안 자취를 감추었던 민속주의 제조를 승인하여 해마다 전통민속주의 지정을 확대하고 있으며 그 소비도 증가하고 있는 추세이다.¹⁾ 대부분의 민속주는 주세법에 의한 주원료외에도 풍미나 약효를 증진시키기 위한 목적으로 감초, 구기자, 계피, 쑥잎, 솔잎, 송화가루 등의 방향재료나 음정목, 노나무, 맥문동, 백복령, 오가피, 생지황 등의 약용재료를 첨가해 제조하고 있다.²⁾ 그러나 이러한 가향성 약용재료에는 유용한 생리활성물질이 존재하여 다양한 약효를 발휘하는 반면 독성이 있는 방향성분도 상당량 함유되어 있는 것으로 보고되어^{3,7)} 식품으로서의 안전성에 대한 논란이 제기되고 있다. 특히 asarone, coumarin, thujone과 같은 방향성분은 만성 독작용이나 돌연변이 유발작용을 나타내는 것으로 밝혀져⁸⁾ 선진 각국에서는 이들 성분이 함유된 천연재료가 식품제조에 이용되는 것을 제한하고 있을 뿐만 아니라 식품 중에 이들 성분의 함유량이 허용기준을 초과하지 못하도록 규제하고 있다.⁹⁻¹²⁾ 지금까지 국내에서는 민속주를 제조하는데 사용되는 식물성 약용재료에 관한 연구로 약초의 화학성분,¹³⁾ 약용재료를 이용한 기능성 식품개발,^{14,15)} 약용침출주의 제조 및 침출특성,¹⁶⁾ 몇가지 새로운 물질의 분리와 화학구조의 규명¹⁷⁾ 등에 관한 보고가 있을 뿐 그 독성 관련 향기성분에 대한 연구나 규제가 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구는 전통민속주의 제조에 부재료로 많이 사용되는 식물성 방향재료 및 약용재료 87종을 선별하여 이들 재

료중에 asarone, coumarin, thujone과 같은 독성이 있는 휘발성 향기성분의 존재여부를 확인하고자 하였다. 한편 천연물질에 함유된 독성 관련 방향성분에 대한 분석방법으로는 HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)를 비롯한 여러방법이 보고된 바 있으나^{18,19)} 아직까지 이들 분석법이 완벽하게 정형화 되어 있지 못한 실정이다. 그중 식품의 휘발성 성분을 신속하고 간단하게 분석하기 위해 고상추출(Solid Phase Extraction) 방법^{20,21)}을 독성 관련 방향성분의 분석에 이용할 수 있는지 그 타당성을 검색하고 여러종류의 고상추출컬럼 등을 이용해 이들 성분의 최적분석조건을 모색함으로써 민속주의 부재료로 이용되는 식물성 방향재료 및 약용재료에 함유된 독성 관련 방향 성분의 적절한 분리, 분석법을 확립하고자 하였다. 나아가 그 결과를 토대로 민속주 제조시 독성 관련 성분이 함유된 방향재료 및 약용재료의 무분별한 사용을 지양함으로써 전통민속주에 의한 인체의 위해를 방지하고 안전성을 확보하는데 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

재료

본 실험에 사용한 87가지의 약용재료는 1998년 2월에 광주 양동시장 한약 재료상에서 구입한 것을 실험실에서 수세, 건조하여 시료로 사용하였다.

시약

본 실험에 사용한 모든 시약은 Sigma사의 특급표준시약이며 추출 및 크로마토그래피에 사용한 유기용매는 wire sprial

찾는 말 : 약용식품, SPE(solid phase extraction), Asarone, Coumarin, Thujone

*연락처

packed double distilling 장치로 재증류하여 사용하였다. 또한 물은 순수재증류장치(Millipore Milford, USA)에서 얻은 것을 이용하였다.

실험방법

고상추출(Solid Phase Extraction)방법의 최적조건 검토

시료 및 추출용매의 사용량을 최소화하면서 간편하고 신속하게 방향성 독성 관련 성분을 분석하기 위한 고상추출법의 최적분석조건을 수립하기 위하여 고상추출컬럼 및 용리용매의 종류에 따른 영향을 검토하였다.

고상(solid phase)의 종류에 따른 회수율 검토: 약용재료에 존재하는 asarone, coumarin, thujone의 분석에 가장 적합한 고정상을 선정하기 위하여 비극성 column인 solid phase PH(phenyl), solid phase C₁₈(octadecyl), solid phase CH(cyclohexyl)와 극성컬럼인 solid phase 2OH(diol), solid phase C₂(enyl)를 사용하여 10 ppm의 농도로 조제한 asarone, coumarin, thujone 표준용액의 회수율을 검토하였다. 먼저 column별로 5 ml methanol과 5 ml 증류수를 감압하에 1 ml/min의 유속으로 흘려 column을 안정시키고 각 표준용액을 1 ml/min의 유속으로 주입하여 고정상에 흡착시킨후 잔류 알코올을 제거하기 위하여 5 ml의 증류수로 column을 세척하였다.

용리용매의 종류에 따른 회수율 검토: 고정상에 흡착된 asarone, coumarin, thujone의 용리에 가장 효과적인 용매를 선택하기 위하여 *n*-pentane과 diethylether를 몇가지 비율로 혼합하여 추출 효율을 검토하였다. 용리액은 수분을 제거하기 위하여 Na₂SO₄를 넣어 하룻밤 방치하고 Vigreux column을 이용하여 0.2 m까지 농축한 후 GC-FID, GC/MS로 분석하여 성분을 확인하였다.

SPE 방법에 의한 민속주 부재료중의 asarone, coumarin, thujone의 성분 추출

민속주 부재료중의 asarone, coumarin, thujone을 분석하기 위하여 전통 민속주를 제조하는데 이용되는 87가지의 약용재료 각 10 g을 20% EtOH 200 ml에 침지하여 3주간 저온에서 보관하였다. 각 침지 추출액의 pH를 일정하게 하기 위해 각각의 침지 추출액 5 ml를 취해 0.1 N NaOH를 이용하여 pH 6.5로 보정한 후 5 g NaCl을 넣고 증류수 30 ml를 첨가하여 분석용 시료로 사용하였다. 준비된 시료용액 5 ml를 위의 방법으로 수립한 최적분석조건에 맞추어 표준용액과 같은 방법으로 흡착, 용리하였다.

Asarone, coumarin, thujone 분석을 위한 GC-FID 및 GC/MS 분석조건

독성 관련 향기성분을 분석하기 위하여 GC는 FID가 부착된 Hewlett-Packard 5890II plus를 사용하였으며, column은 DB-5(60 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness)을 선택하였다. 온도 program은 90°C에서 5분간 유지한 후, 20°C/min 속도로 200°C까지 승온시켜 10분간 유지한 후 다시 25°C/min 속도로 260°C까지 승온하였다. Injector와 detector의 온도는 각

각 250°C와 300°C로 조정하였으며 carrier gas는 helium을 1.0 ml/min의 유속으로 사용하였다. 분석을 위한 시료는 1 µl를 주입하여 split ratio 1:20의 조건으로 분석하였다. 질량분석을 위한 GC/MS는 Shimadzu GC/MS QP-5000을 사용하였으며, 시료의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하고 정량적인 분석을 위해 total ion chromatogram(TIC) 및 selected ion monitoring(SIM)방법²²⁾으로 질량크로마토그램을 구하였다. GC/MS 분석조건은 ionization voltage를 70 eV로 하였고, ion source temperature는 230°C로 하였다. 또한 분석을 위한 분자량의 범위는 41~350으로 설정하고 그 밖의 다른 조건은 GC의 분석조건과 동일하게 설정하였다.

GC-FID 및 GC/MS 분석에 의한 성분확인

TIC에 분리된 각 peak의 성분은 mass spectrum library (WILEY 139와 NIST 62)와 mass spectral data book^{23,24)}의 spectrum과의 일치 및 GC-FID 분석에 의한 retention index와 문헌상의 retention index^{25,26)}와의 일치 및 표준 물질의 분석 data를 비교하여 확인하였다. 아울러 SIM 방법으로 thujone ion *m/z* 81, 110 및 67과 coumarin ion *m/z* 118과 146 그리고 asarone ion *m/z* 208, 193 및 165를 확인하였다.

Asarone, coumarin, thujone의 표준용액을 이용한 검량선 작성

분석대상물질인 asarone, coumarin, thujone의 정량분석을 위해 stock solution은 표준시약 각 100 mg을 재증류한 20% ethanol 용액 100 ml로 용해하여 1000 ppm의 농도로 제조하였다. 이 stock solution을 동일 용매로 희석하여 각각 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10 ppm의 표준용액을 만들어 SPE로 용리한 후 GC-FID 및 GC/MS로 분석하여 특정 이온을 선택한 SIM 방법에 의한 검량선을 작성하였다.

결과 및 고찰

Asarone, coumarin, thujone의 GC-FID, GC/MS 분석

표준물질을 이용하여 GC-FID, GC/MS 분석을 실시한 결과 GC상의 retention time 10.9분, 15.8분 그리고 19.6분의 peak가 각각 thujone, coumarin, asarone임을 확인할 수 있었다. 세가지 화합물에 대한 TIC와 SIM 방법에 의한 질량 스펙트럼은 Fig. 1에 나타내었다.

Asarone, coumarin, thujone의 검량선

Asarone, coumarin, thujone의 표준용액을 GC/MS로 분석하여 얻은 peak area와 농도의 대비로부터 작성한 각각의 표준 검량선을 Fig. 2에 나타내었다. 세가지 성분 모두 10 ppm 범위까지 농도에 따른 peak 면적비가 비례관계를 유지하였으므로 이들 검량선을 민속주제조에 이용되는 부재료중에 함유된 asarone, coumarin 및 thujone의 정량분석을 위한 표준 검량선으로 이용할 수 있었다.

SPE의 최적조건 수립

고상(Solid phase)의 종류에 따른 영향 : *n*-pentane : diethy-

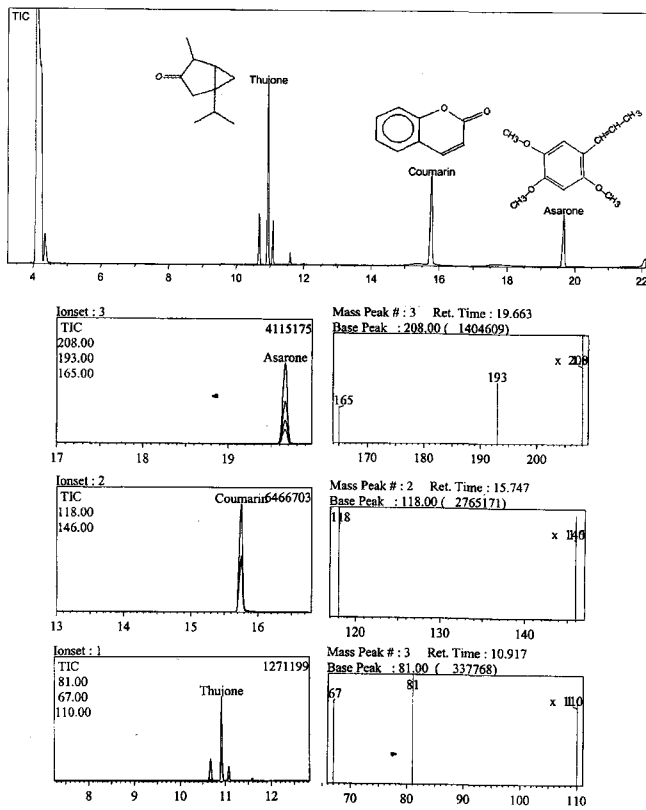


Fig. 1. TIC and mass spectra obtained by SIM of asarone, coumarin and thujone standards.

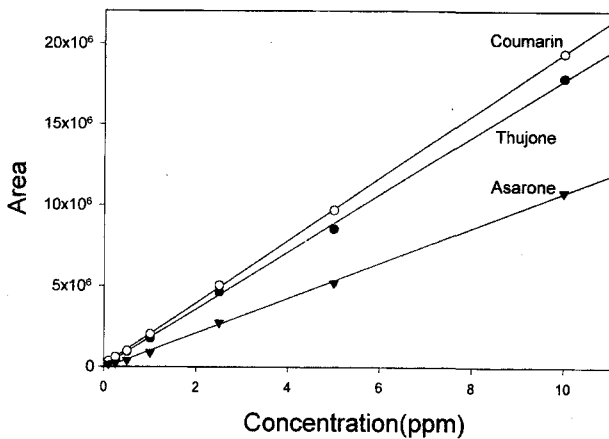


Fig. 2. Standard curves of asarone, coumarin and thujone determined by GC/MS.

lether (7 : 3, v/v)를 용리용매로 하고 solid phase PH, solid phase C₁₈, solid phase CH, solid phase 2OH, 그리고 solid phase C₂을 SPE용 column으로 사용하여 추출실험을 실시한 결과 사용하는 column의 종류에 따라 매우 상이한 회수율을 보였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 asarone, coumarin, thujone 모두 극성계 column인 solid phase C₂에 대해서는 60%이하의 낮은 회수율을 보였고, 특히 solid phase OH에 대해서는 50%를 전후한 매우 낮은 회수율을 보였다. 한편 solid phase C₁₈과 solid phase CH의 경우 asarone은 79%와 79.5%, coumarin은 92.1%와 82.1%의 비교적 높은 회수율을 보인 반면 thujone은

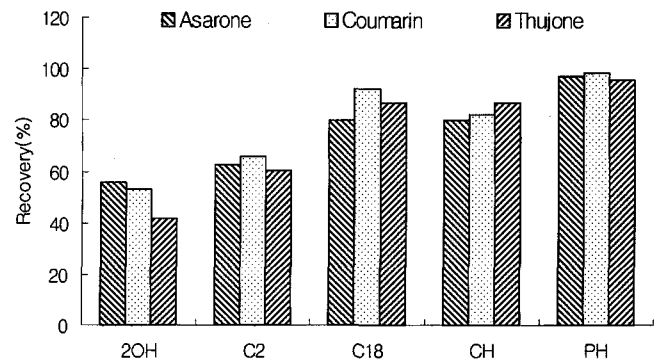


Fig. 3. Effect of adsorbent type on the recoveries of asarone, coumarin and thujone by solid-phase extraction.

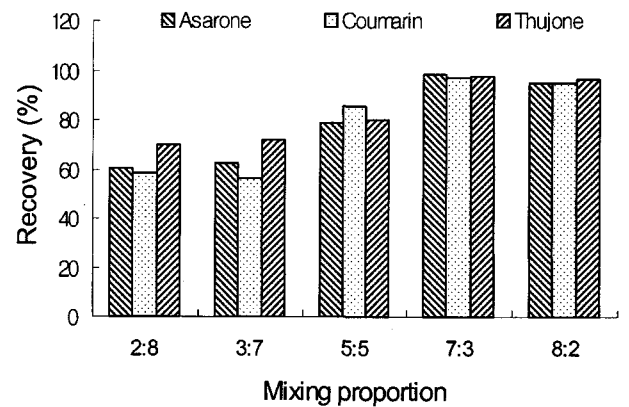


Fig. 4. Effect of varying proportions of mixture for elution solvent (*n*-pentane : diethylether, 7 : 3, v/v) on the recoveries of asarone, coumarin and thujone.

86%와 86.5%의 회수율을 보여 동일 column에 대해서도 성분 간의 차이를 나타내었다. Solid phase PH에서는 asarone, coumarin, thujone이 각각 96.9%, 97.6%, 95.7%로 가장 높은 회수율을 나타내었다. 이것은 비극성 방향족 성분들이 극성 물질 보다는 비극성의 phenyl기와 친화력이 더 크기때문으로 생각된다. 이와 같은 결과를 근거로 민속주제조에 이용되는 부재료에 함유된 독성 관련 향기성분의 분리추출에는 phenyl기를 충전한 column을 선택하였다.

용리용매의 종류에 따른 영향 : Asarone, coumarin, thujone 세가지 성분 모두에 대하여 가장 높은 회수율을 보인 phenyl solid phase에 이들 성분을 흡착시킨 후, Fig. 4에 나타난 바와 같이 *n*-pentane과 diethylether를 단독 혹은 혼합 비율을 달리 한 것을 이용하여 추출 효율을 검토하였다. 용리용매별 회수율의 차이를 분석한 결과 *n*-pentane이나 diethylether를 단독으로 사용했을 경우 고정상에 흡착된 성분들을 효과적으로 회수하지 못하였다. 반면 용매의 극성차를 이용한 *n*-pentane: diethylether (7 : 3, v/v) 혼합용매가 asarone과 thujone에 대해서는 99.1%, coumarin에 대해서는 98.6%로 가장 높은 회수율을 보였다.

고상추출(SPE)방법에 의한 민속주 부재료의 20% ethanol 추출물의 asarone, coumarin, thujone의 분석

민속주를 만드는데 부재료로 사용되는 가향재료 및 약용재

Table 1. Concentration of toxic relevant flavor components in some medicinal plant liquor by SPE method

Korean name	Botanical name	pH	Content(ppm) ¹⁾		
			Asarone	Coumarin	Thujone
갈근	<i>Puerariae Raidx</i>	5.67	. ²⁾	-	1.075
감초	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisher	6.26	-	-	0.74
강활	<i>Angelicae Koreanae</i> Kita	4.35	-	-	-
건강	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	7.38	0.086	-	1.044
계지	<i>Cinnamomi</i> Ranulus	5.6	-	-	-
계피	<i>Cinnamomum cassia</i> Blumer	5.17	-	0.095	-
골담초	<i>Caragana sinica</i> R.	5.03	-	-	4.800
곽향	<i>Agastache rugosa</i> O.K.	6.01	-	-	-
구기자	<i>Lycium chinense</i> Miller	6.18	-	0.004	0.390
국화	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat	4.54	-	0.040	6.142
냉이꽃(나시)	<i>Capsella</i> Bursa	5.32	-	0.978	-
노나무	<i>Juniperus rigida</i> Sieb. et Zucc.	5.07	-	-	-
느릅나무	<i>Ulmus macrocarpa</i> H.	4.53	-	-	-
닥나무잎	<i>Broussonetia kozinoki</i> S.	5.32	-	-	-
당귀	<i>Angelica gigas</i> Nakai	6.28	0.126	0.056	1.372
당부자	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx	4.25	-	-	-
대계	<i>Cirsium maackii</i> Maxim	5.55	-	-	-
대추	<i>Zizyphus vulgaris</i> Lamarck	5.78	-	-	-
대마자씨	<i>Cannabis sativa</i> L.	5.24	-	0.036	0.124
독활	<i>Aralia cordata</i> T.	6.21	-	-	-
동백(산차)	<i>Camellia japonica</i> L.	4.31	-	-	-
두충	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	5.35	-	0.058	0.020
마가목	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne	6.01	-	-	-
매화꽃	<i>Prunus mume</i> Siebold	5.42	-	0.018	-
맥문동	<i>Liriope platyphylla</i> Wang et Tang	5.11	-	0.014	-
목과	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	4.17	-	-	-
목향	<i>Saussurea lappa</i> Clarke	5.66	-	-	-
백단향	<i>Santalum album</i> Linne	6.01	0.084	-	4.230
백두옹	<i>Pursatilla koreana</i> Nakai	5.06	-	-	-
백복령	<i>Pachyma Hoelen</i> Rumph.	4.44	-	-	-
백부근	<i>Stemona japonica</i> Mig	4.88	-	-	-
백출	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	6.03	-	-	-
복령	<i>Poria cocos</i> Wolf	4.96	-	-	1.040
복분자	<i>Rubus coreanum</i> Miquel	4.79	-	-	-
사삼	<i>Codonopsis lanceolata</i> Bentham et Hooker	6.53	-	0.066	0.056
사인	<i>Amomum xanthioides</i> Wallich	6.07	-	0.006	-
산사	<i>Crataegus pinnatifide</i> Bunge	3.97	-	-	-
산약	<i>Dioscoreae Japonica</i> Tumb.	4.36	-	-	-
산수유	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarinii	3.14	-	-	-
상삼자	<i>Morus alba</i> L.	3.28	-	-	-
생강	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	9.18	-	-	-
생지황	<i>Rehmannia glutinosa</i> Lib.	5.28	-	-	-
석창포	<i>Acorus gramineus</i> Solander	5.35	6.968	0.006	-
소회향	<i>Anethum graveolens</i>	6.97	-	18.288	-
송화	<i>Pinus densiflora</i> Sieb. et Zucc.	5.83	-	-	-
약쑥	<i>Artemisia gigantea</i> Kita	6.02	-	0.006	3.220
연자육	<i>Nelumbo mueifeera</i> Gaertner	4.31	-	-	-
오가피	<i>Acatopanax sessiliflorus</i> Seemann	7.49	-	0.016	0.166
오미자	<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	3.51	-	-	-
오수유	<i>Evodia officinalis</i> Dode	5.51	-	-	-
용안육	<i>Euphoria longana</i> Lamarck	5.84	-	-	-
우방자	<i>Arctium lappa</i> L.	6.34	-	-	-
우슬	<i>Achyranthes japonica</i> Nakai	7.20	-	-	0.014
울금	<i>Curcumna aromatica</i> Salisb.	6.38	-	-	-
위령선	<i>Clematis mandshurica</i> Max.	4.74	-	-	-

Table 1. Continued.

Korean name	Botanical name	pH	Content(ppm) ¹⁾		
			Asarone	Coumarin	Thujone
유근피	<i>Ulmus macrocarpa</i> Hance	6.16	-	-	-
육 계	<i>Cinnamomum rougui</i>	5.26	-	-	-
음양곽	<i>Epimedium koreanum</i> Nakai	5.54	-	-	0.006
의이인	<i>Coix lachryma-jobi</i> L. var. ma-juen Stapf	6.89	-	-	-
익모초	<i>Leonurus sibiricus</i> L.	5.64	-	-	-
인진호	<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	4.68	-	-	0.810
자 초	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold. et Zuccarinii	4.81	-	0.016	0.080
자단향	<i>Pterocarpus santalinus</i> L.	3.93	-	0.034	1.490
전 호	<i>Anthriscus sylvestris</i> Hoffmann	6.08	-	-	-
종려피	<i>Trachycarpus fortunei</i> W.	6.54	-	-	-
죽 여	<i>Sasa wreana</i> Nakai	4.02	-	-	-
죽 엽	<i>Phyllostachys bambusoides</i> Sieb. et Zucc.	6.36	-	-	-
지골피	<i>Lycii cortex Radicis</i>	6.21	-	0.022	-
진 피	<i>Citrus unshiu</i> Markovich	4.48	-	-	-
진달래꽃	<i>Rhododendron mucroulatum</i> Turcz.	5.71	-	-	-
차전자	<i>Plantago asiatica</i> De Candolle	4.35	²⁾	-	-
창 출	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	5.49	-	-	-
창 포	<i>Acorus asiaticus</i> Nakai	5.86	41.518	0.032	0.056
천 궁	<i>Cnidium officinale</i> Makino	5.95	-	-	-
천 근	<i>Rubiae akane</i> Nakai	5.89	-	-	-
천 초	<i>Rubia cordifolia</i> L. var. Mungista Miquel	4.93	-	-	-
천문동	<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merrill	5.26	-	-	-
청 호	<i>Artemia apicea</i> Hance	5.21	-	-	-
토남성	<i>Arisaema japonicum</i> Blume	6.89	-	0.004	0.112
하수오	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	7.40	-	0.002	0.142
행 인	<i>Prunus armenica</i> L. var. ansu Max.	5.55	-	-	-
홍 화	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	6.54	-	-	-
하 협	<i>Nelumbo nucifera</i> G.	5.68	-	-	-
황 기	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	6.24	-	-	0.578
황 정	<i>Polygonatum falcatum</i> A. Gray	5.27	-	-	-
회 향	<i>Foeniculum vulgare</i> Gaertner	6.44	0.824	8.160	0.748
후 박	<i>Magnolia officinalis</i> Rehe.	5.80	-	-	-

¹⁾: mg/l of medicinal plant liquor obtained by soaking 10 g materials in 200 ml 20% ethanol for 3 weeks at 4°C.

²⁾: Not identified.

료 중의 asarone, coumarin, thujone을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 87종의 약용식물 침지추출액의 분석결과 asarone은 6종, coumarin은 22종, 그리고 thujone는 24종에서 각각 다양한 농도로 검출되었다.

이들 독성 관련 방향성분 가운데 asarone은 창포(*Acorus asiaticus* Nakai)에서 41.518 ppm으로 가장 많이 검출되었으며, 석창포(*Acorus gramineus* Solander)에서도 6.968 ppm, 이외에 백단향(*Santalum album*), 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner), 당귀(*Angelica gigas* Nakai), 건강(*Zingiber officinale* Rosc.) 등에서도 아주 소량 검출되었다. Coumarin은 국화(*Chrysanthemum morifolium* Ramat), 냉이(*Capsella Bursa*)꽃, 당귀(*Angelica gigas* Nakai), 대마자(*Cannabis sativa* L.)씨, 두충(*Eucommia ulmoides*), 매화(*Prunus mume* Siebold)꽃, 맥문동(*Liriope platyphylla* Wang et Tang), 사삼(*Codonopsis lanceolata* Benth et flooker), 사인(*Amomum xanthioides* Wallich), 석창포(*Acorus gramineus* Solander), 소회향(*Anethum graveolens*), 약쭉(*Artemisia asiatica* Nakai), 오

가피(*Acathopanax sessiliflorus* Seemann), 자초(*Lithospermum erythrorhizon* Siebold. et Zuccarinii), 자단향(*Pterocarpus santalinus* L.), 지골피(*Lycii cortex Radicis*), 창포(*Atractylodes japonica* Koidzumi), 토남성(*Arisaema japonicum* Blume), 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner), 하수오(*Polygonum multiflorum* Thunberg), 계피(*Cinnamomum cassia* Blumer), 구기자(*Lycium chinense* Miller) 등 총 22종의 약재에서 확인되었다. 이들 약재중 소회향(*Anethum graveolens*)이 18.288 ppm으로 가장 높은 함유율을 보였으며, 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner)에서는 8.160 ppm의 농도로 검출되었으며, 다른 약재들은 미량으로 확인되었다. 한편 thujone은 국화(*Chrysanthemum morifolium* Ramat)에서 6.142 ppm, 약쭉(*Artemisia asiatica* Nakai)에서 3.220 ppm의 농도로 검출되었으며 그 외 골담초(*Caragana sinica* R.), 당귀(*Angelica gigas* Nakai), 대마자(*Cannabis sativa* L.)씨, 두충(*Eucommia ulmoides*), 백단향(*Santalum album*), 사삼(*Codonopsis lanceolata* Benth et flooker), 오가피(*Acathopanax*

sessiliflorus Seemann), 우슬(*Achyranthes japonica* Nakai), 음양곽(*Epimedium koreanum* Nakai), 인진호(*Artemisia capillaris* Thunb.), 자초(*Lithospermum erythrorhizon* Siebold. et Zuccarinii), 자단향(*Pterocarpus santalinus* L.), 창포(*Acorus asiaticus* Nakai), 토남성(*Arisaema japonicum* Blume), 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner), 갈근(*Puerariae Raidx*), 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), 건강(*Zingiber officinale* Rosc.), 구기자(*Lycium chinense* Miller), 하수오(*Polygonum multiflorum* Thunberg), 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge), 복령(*Poria cocos* Wolf)등 24종에서 확인되었다.

이들 약재 가운데 당귀(*Angelica gigas* Nakai)에는 3가지 독성 관련 방향성분이 모두 함유되어 asarone이 0.063 ppm, coumarin이 0.028 ppm, thujone은 0.686 ppm으로 검출되었다. Asarone을 다량 함유하고 있는 창포(*Acorus asiaticus* Nakai)는 미량의 coumarin과 thujone을 함유하고 있는 것으로 확인되었다. 또한 coumarin이 많은 양으로 확인된 회향(*Foeniculum vulgare* Gaertner)은 asarone, thujone이 각각 0.412, 0.374 ppm으로 정량되었다.

Asarone은 생물학적인 유해한 독성을 가지고 있어 유럽에서는 25% alcohol 이하의 주류에서는 1 mg/kg 농도로 규제 허용량을 정하고 있고,⁹⁾ 미국과 캐나다에서는 식품내의 asarone의 함유를 허용하지 않고 있다.¹¹⁾ Asarone은 α 와 β 형태로 존재할 수 있으나 자연계에는 대부분 β 의 형태로 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이는 진정작용을 가지는 동시에 chromosome에 대한 심한 독작용을 나타내며 기형을 유발하는 물질로 보고되었다.²⁷⁾ 본 실험에서 다량의 asarone이 확인된 석창포(*Acorus gramineus* Solander)(Araceae) 정유성분의 효과에 대한 연구²⁸⁾에서는 β -asarone이 해충에 대한 살충효과 및 독성효과도 큰 것으로 보고되어 있다. 반면에 α -asarone은 Mexico에서 hypercholesterolemia에 사용되는 전통약재(*Guatteria gaumeri*)의 주성분으로 고cholesterol혈증(hypercholesterolemic)을 가진 쥐에 아미노산과 함께 α -asarone을 소량 경구 투여한 결과 cholesterol과 triglyceride을 크게 감소시키며 hamster의 gallstorn의 무게 역시 감소하는 것으로 보고되어 있다.²⁹⁾ 그러나 임신한 쥐에 노출되는 기간이 길어질수록 단백질 합성과 분비가 억제되고 triacylglycerol의 축적 및 골격 구조의 결함을 발생시키는 것으로 보고되어 있으며 태아의 뇌무게를 감소시키고 뇌수종증을 유발하는 등 노출기간에 따라 그 독성이 증가되어지는 것으로 발표되어 Mexico에서는 이 약재를 인체에 사용하는데 문제를 제기하고 있는 실정이다.²⁹⁾

Coumarin은 간에 대한 만성적인 독작용 때문에 유럽에서는 주류에서는 10 mg/kg의 농도로 규제하고 있으며 일반음료와 식품에서는 2 mg/kg의 농도로 규제하고 있다.⁹⁾ Coumarin은 phenylalanin에서 유도되는 물질로서 sulfhydryl group과 관계된 간장의 비단백을 감소시키고 간의 무게를 증가시키며 single dose가 125 mg/kg으로 강한독성을 나타내며, 투여 후 24시간 이후에는 간장의 centrilobular 회저를 나타내는 것으로 보고되었다.³⁰⁾ 또한 coumarin의 독성 대사는 간세포의 cytochrome P450-dependent enzyme에 의한 생화학적 활동에 관계가 있는 것으로 발표되어 있다.³⁰⁾

Thujone은 돌연변이 유도 작용으로 유럽에서는 25% alcohol 이하의 주류에는 5 mg/kg의 농도로, 일반음료와 식품에서는 0.5 mg/kg의 농도로 규제하고 있다.⁹⁾ Thujone은 limonene으로부터 유도되는 물질로서 LD50이 α -thujone은 87 mg/kg, β -thujone은 100 mg/kg으로 중독성이 매우 강한 것으로 알려져 있다. 그리고 썩(*Salmonella typhimurium*)에 대한 돌연변이 작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있는데 썩 추출물이 세균의 생육에 미치는 영향에 대한 연구에서는 썩 추출물이 항균효과가 있는 것으로 알려져 있지만, thujone성분이 첨가되지 않은 썩 추출물이 더 항균력이 뛰어나다는 사실을 보고하고 있다.³¹⁾ 또한 thujone은 4-5월에 수확한 것 보다 3월초에 수확한 썩에 훨씬 더 많은 양이 함유²⁵⁾되어 있다고 알려져 있어, 이렇게 수확시기에 따라 정유성분이 변화함으로써 그 독성성분의 양이 변화되어지므로 전통민속주의 제조에 사용되는 썩의 재료 역시 수확시기에 유의할 필요가 있을 것 같다.

따라서 우리나라에서 제조되는 전통민속주 역시 이러한 방향성분을 함유하고 있는 가향재료 및 방향재료를 사용하는 것에 극히 유의하여야 할 것이며, 지금 현재 전통민속주의 제조에 사용하고 있는 부재료인 약썩(*Artemisia asiatica* Nakai), 국화(*Chrysanthemum morifolium* Ramat) 등 독성 관련 성분을 함유하고 있는 방향재료 및 약용재료의 경우 그 사용량을 규제하여 전통민속주에 의한 인체의 위해 방지 및 식품의 개방화 시대에 대비하여 우리의 전통 민속주를 외국법의 규격과 기준에 적합하게 함으로써 고품질을 유지하면서 안전한 제품으로서 제조하는데 기초자료로 이용하고자 하였다.

감사의 글

이 연구는 보건의료기술연구기획평가단의 보건의료기술연구개발사업(HMP-96-F-1-1004)의 일환으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Jung, H. G. (1989) Manufacture conditions and characteristics of traditional folk wine. *Kor. J. Dietary Culture* **4**, 311-318.
2. Choi, J. H. and Lee, H. G. (1989) To investigate for traditional wine of chosun dispensation. *Kor. J. Dietary Culture* **2**, 117-119.
3. Henschler, W., Forth, D. and Rumel, W. (1983) *Allegmeine und spezielle, Phamakologie und toxikologie*, 4. Auflage, B.I.-Wissenschaftsverlag, Zürich.
4. Hazleton, L. W., Tusing, T. W., Zeitlin, B. R., Thiessen, R. Jr. and Murer, H. K. (1956) Toxicity of coumarin. *J. Pham, Exp. Ther.* **118**, 348-350.
5. Lake, B. G., Collins, M. A., Harris, R. A., Phillips, J. C., Evans, J. G. and Gangoll, S. D. (1984) Studies on the hepatotoxicity and metabolism of coumarin in the rat. *Biochem./Soc. Trans.* **8**, 96-99.
6. Rashid, M. A., Gray, A. I. and Waterman, P. G. (1992) Coumarins from *Phebalium tuber culosum* ssp. *Megaphyllum* and *Phebalium filifolium*. *J. Natural Products* **55**(7), 851-858.

7. Wirth, W. and Gloxhuber, C. (1985) *Toxikologie thieme*, Für ärzte, naturwissenschaftler und aptheker, 4 durchgesehene Auflage Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York
8. Deutsche Lebensmittel, Recht (1997) Aromenverordnung §2.1.2. p.145 Berk's verlag, Muenchen.
9. Codex Alimentarius (1968) Auslaendische Lebensmittelecht Behr's verlag.
10. Code of Federal Regulations Title (1996) 21, §172. 510. a, b,(FR33, 6967).
11. Code of Federal Regulations Title (1996) 21, §189. 110. a, b, c,(FR33, 6967).
12. Code of Federal Regulations Title (1996) 21, §189. 130. a, b,(FR33, 6967).
13. Choi, W. S., Lee, S. E., Lee, H. S., Lee, Y. H. and Park, B. S. (1998) Antioxidative activities of methanol extracts of tropical and oriental medicinal plants. *Agric. Chem. Biotechnol.* **41**(7), 556-559.
14. Park, M. H., Lee, B. Y., Kim, H. M. and Kim, C. J. (1992) Rheological of hot-water extractable concentration of boxthorn(*Lycii Fructus*) and mixed boxthorn. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**(6), 597-602.
15. Park, M. H. (1994) Development of processed foods and jujube and yam. *Korea Food Research Institute Reports* G1034-0306.
16. Min, Y. G. and Jung, H. S. (1995) Manufacture of some korean medicinal herb liquors by soaking. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**(2), 210-215.
17. Ryu, K. S., Hong, N. D., Kim, M. J. and Kong, Y. Y. (1990) Studies on the coumarin constituents of the root of *Angelica gigas* Nakai. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**(1), 64-68.
18. Hahn, F., Obrien, E. R., Ciak, L. J., Allison, J. L. and Olenick, J. G. (1966) Studies on modes of action of chloroquine, quina-crine and quinine and on chloroquine resistance. *Mil. Med.* **131**, 1071-1089.
19. Eder, E., Henschler, D. and Neudecker, T. (1982) Mutagenic properties of allylic and α , β -unsaturated compounds : Consideration of alkylating mechanisms. *Xenobiotica* **12**, 831-848.
20. Eisenbrand, G., Kamp, E. and Schuhmacher, J. (1990) Toxische stoffe in lebensmitteln kosmetischen mitteln und bedarfsgegenständen lebensmittelchem. *Gerichtl. Chem.* **44**, 82-89.
21. Ohloff, G. (1990) Scent and fragrances, the fascination of odors and their chemical perspectives, Springer-Verlag, Berlin.
22. Galli, C. L., Galli, G., Tragni, E., Caruso, D. and Fiecchi, A. (1984) Quantitative analysis of α , β -thujone, pulegone, safrole, coumarin, and α , β -asarone in alcoholic beverages by selected-ion monitoring. *J. Appl. Toxicol.* **4**, 273-276.
23. Robert, P. A. (1995) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Corporation, N.Y., U.S.A.
24. Sterhagen, E., Abrahamsom, S. and McLafferty, F. W. (1993) NBS Registry of Mass Spectral Data, Wiley, N.Y., U.S.A.
25. Davies, N. W. (1990) Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesqui-terpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chrom.* **503**, 1-24.
26. Sadtler Research Laboratories (1986) The sadtler standard gas chromatography retention index library, Sadtler, N.Y., U.S.A.
27. Tsai, T. H., Chen, C. M. and Chen, C. F. (1992) Disposition of asarone after intravenous administration to rabbits assessed using HPLC. *J. Pharm. Pharmacol.* **44**, 620-622.
28. Gerhard, H. S. and Strelake, M. (1994) Effect of *Acorus calamus* (L.) (Arceae) oil and its main compound beta-asarone on *Prostephanus truncatus*(Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *J. Stored Prod. Res.* **30**(3), 227-235.
29. Chamorro, G., Salazar, M., Salazar, S. and Mendoza, T. (1993) Pharmacology and toxicology of *Guatteria gaumeri* and alpha-asarone. *Rev Invest Clin.* **45**(6), 597-604.
30. Lake, B. G., Gray, T. J., Evans, J. G., Lewis, D. F., Beamand, J. A. and Hue, K. L. (1989) Studies on the mechanism of coumarin-induced toxicity in rat hepatocytes : Comparison with dihydrocoumarin and other coumarin metabolites. *Toxicol Appl. Pharmacol.* **97**(2), 311-323.
31. Kim, Y. S., Kim, M. N., Kim, J. O. and Lee, J. H. (1994) The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**(6), 994-1000.

Analysis of Asarone, Coumarin and Thujone in Medicinal Plants Used in Brewing a Korean Traditional Folk Wine

Jung Ok Jo, Sun Min Kim¹ and Kyong Su Kim* (¹*Department of Food & Biotechnology, Dongshin University, Chun-nam, Naju, 520-714, Korea; *Department of Food & Nutrition, Chosun University, Kwang-ju, 501-759, Korea*)

Abstract : To detect the toxic relevant components, asarone, coumarin and thujone, in the 87 medicinal plants used in brewing a Korean traditional folk wine, their 20% ethanol extracts were prepared and purified by a SPE(solid phase extraction) method. The toxic components in the purified extracts were identified by GC-FID and GC/MS analysis. On analyses, asarone was detected in 6 species, *Acorus gramineus* Solander, *Acorus asiaticus* Nakai, *Angelia gigus* Nakai, *Santalum album*, etc.; coumarin in 22 species, *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* Gaertner, *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarinii, etc.; thujone in 24 species, *Achyranthes japonica* Nakai, *Amomum xanthiodes* Wallich, *Artemisia asiatica* Nakai, seed of *Cannabis sativa* L., *Caragana sinica* R., *Chrysanthemum morifolium* Ramat, *Codonopsis lanceolata* Bentham et Hooker, *Foeniculum vulgare* Gaertner, etc.

Key words : asarone, coumarin, folk wine, medicinal plants, SPE(solid phase extraction), thujone

*Corresponding author