생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
36(3) : 235 ~ 239 (2005)

# 식품학적 가공에 의한 생약의 성분 및 활성 변화 III - Roasting 처리에 의한 천문동 중 HMF의 함량변화 -

곽혜민 · 김자영 · 임정현[1] · 정신교[1] · 권순호 · 정현희 · 허종문 · 송경식*
경북대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, [1]식품공학과

# Changes in Chemical Composition and Biological Activities of Oriental Crude Drugs by Food Processing Techniques III - Changes of HMF Contents from Roasted Asparagi Tuber -

**Hye-Min Kwak, Ja-Young Kim, Jung-Hyun Lim[1], Shin-Kyo Chung[1], Soon-Ho Kwon, Hyun-Hee Jeong, Jong-Moon Hur, and Kyung-Sik Song***
*Division of Applied Biology and Chemistry, and [1]Department of Food Science & Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Deagu 702-701 Korea*

**Abstract** – Changes in chemical composition of the ethanolic extract of roasted Asparagi Tuber were investigated by HPLC. One dramatically increased peak ($t_R$, 14.85 min) was isolated by silica gel column chromatography and identified as 5-hydroxymethyl furfural (HMF) by comparing its $^1$H-NMR data with that of a commercial standard. HMF content reached its maximum level at 190°C for 60 minutes. Under these conditions, HMF contents in the roasted Asparagi Tuber was increased about thirteen times (9.26 mg/g) over the not-roasted control (0.71 mg/g). No significant differences were found in macrophage-activating, prolyl endopeptidase-inhibiting, antioxidative (DPPH), anti-coagulating (activated partial thromboplastin times), and ACE-inhbiting activities between roasted and not-roasted Asparagi Tuber.

**Key words** – Asparagi Tuber, roasting, processing, 5-hydroxymethyl furfural (HMF)

천문동 (Asparagi Tuber)은 백합과(Liliaceae)에 속하는 덩굴성 다년생 초본으로[1,2] steroidal saponins, polysaccharides 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.[3-5] 그리고 지방세포의 glucose uptake의 저해[6]와 지방세포의 지방분해 효과[7] 및 인체에 이로운 장내미생물의 성장을 자극하는 효과[8] 등이 있다고 한다.

식품가공에 있어 roasting은 저장성 증가와 더불어 성분의 변화에 의한 향미를 개선시킬 목적으로 이용되고 있다. 또한 전통약물은 원료상태로만 약용으로 사용하지 않고 꿀이나 술 등을 보조 재료로 사용하여 볶거나 수증기로 찌는 등의 다양한 가공법을 수치, 법제 또는 포제라 하여 약물의 인체에 대한 독성과 부작용을 없애거나 줄이고, 치료효과의 증대, 약성의 변형 및 약물을 장기간 보관할 목적으로 가공하여 사용하였다.[9-15] 한약재를 가열처리하여 볶는 roasting의 경우, 약재에 함유된 어떤 성분을 파괴시키거나 제거하여 약물의 자극성과 부작용을 감소시키거나 방향성 향미를 증가시켜 교취, 교미, 건비 등의 작용을 일으키게 하며 약재의 분쇄, 저장 및 유효성분의 추출을 편리하도록 할 목적으로 행해지고 있다. 그러나 오랜 임상 경험이 축적된 다양한 방법의 한약 가공법의 규격화 및 가공법에 따른 성분의 변화 및 생리활성의 변화에 미치는 영향 및 효과 등에 관한 연구는 산조인, 결명자, 치자, 건강, 감초 등 극히 일부 한약재에 국한되어 있는 실정이다.[16-19] 그러므로 경험이 축적된 한약재 가공법을 토대로 현대적 개념의 식품가공 처리법을 응용할 경우 약효의 상승이나 유용 화합물의 함량증가 등을 기대할 수 있어 질병치료나 예방목적의 신약, 또는 건강기능성 식품개발의 매우 귀중한 자원을 확보하는데 이용될 수 있을 것이다.

본 연구는 빈용 한약재에 roasting, extrusion, 발효 등 식품가공에 이용되는 방법을 적용 시 변화되는 성분과 생리활성에 대한 일련의 연구 중 하나로, 천문동에서 roasting 처

*교신저자(E-mail) : kssong@knu.ac.kr
(FAX) : 053-956-5715

리시의 성분조성 변화를 HPLC를 이용하여 비교분석 한 결과, 증가된 1종의 화합물을 발견하였으며, 이를 분리하여 화학구조를 동정하고 동정된 화합물의 함량 변화에 미치는 가열조건 등을 검토하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**재료 및 시약** – 실험에 사용된 천문동은 대구 약령시에서 구입하였으며, 본 연구실에서 형태학적 특성을 조사하여 동정한 다음 사용하였고, 표본은 본 연구실에 보관하였다 (voucher specimen no. NPC-AC04-01). 5-Hydroxymethyl furfural (HMF) 표준품은 Aldrich (U.S.A. H4, 080-7)사에서 구입하였다. HPLC는 Dionex사의 AS50 Chromatography Compartment, AS50 Autosampler, AD25 Absorbance Detector, GS50 Gradient Pump로 구성하였다. TLC는 precoated silica gel plate (Kieselgel $60F_{254}$, Merck, NJ, USA)를 사용하였으며, silica gel column chromatography는 Kieselgel 60 (Art. 7734, 70-230 mesh, Merck, NJ, USA)을 사용하였다. $^1$H-NMR은 Bruker Avance Digital 400 Spectrometer (Karlsruhe, Germany)로 chloroform-*d*를 용매로 하여 400 MHz에서 측정하였다. Chemical shift는 TMS를 표준물질로 하여 δ (ppm)로 나타내었다. 그 외 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

**Roasting 처리** – 자체 제작한 전기볶음 기계를 이용하여 천문동 (3 kg)을 190°C에서 30분간 roasting처리를 하여 ethanol로 추출한 후, HPLC를 이용하여 무처리 샘플과 비교분석 하였다. 또한 roasting 시간 (5, 10, 30, 60분)과 온도 (150, 170, 190, 210°C)가 HMF 함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 천문동 10 g을 일정 시간별 (5~60분), 온도별 (150~210°C)로 처리하여 변화된 HMF의 함량을 비교 정량하였다.

**HMF의 정량** – Aldrich에서 구입한 HMF (순도 99.0% 이상)를 표준물질로 하여 HPLC에서의 peak area와 농도간의 상관관계를 이용하여 검량선 [Y(peak area) = 0.0357X (concentration in μg) – 0.0056, $r^2$ = 0.9889]을 작성하였으며 미지농도의 peak area를 상관관계식에 대입하여 HMF의 함량을 정량하였다. Roasting 전, 후의 HMF 함량을 정량하기 위하여 각각의 천문동 에탄올 추출물 10 mg을 1 ml의 에탄올에 녹여 4.5 μm membrane filter로 여과하고, 여액 10 μl를 취하여 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC 이동상은 1%의 acetic acid를 포함한 water(A)와 acetonitrile(B)로 B를 0%에서 20%가 되도록 50분간 농도구배를 주어 분석하였다. 사용된 column은 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm, Agilent, USA)이며, 유속은 0.8 ml/min, 검출은 280 nm에서 하였다.

**추출 및 분리** – 190°C에서 30분간 roasting 처리한 천문동 (3 kg)을 에탄올 (2 *l*)로 2회 반복 열탕추출한 후, 감압 농축하여 추출물 194.5 g을 얻었다. 이 추출물을 증류수 (1 *l*)에 분산시킨 다음, $CH_2Cl_2$로 분획한 후, $Na_2SO_4$로 수분을 제거하고 여과 후 감압 농축하여 $CH_2Cl_2$ 가용성 분획 1.53 g을 얻었다. 이 분획을 silica gel column chromatography [3×39 cm, $CH_2Cl_2$-MeOH (100:1→1:1)]를 실시하여 14개의 fraction (AC1-14)을 얻었다. 14개의 fraction을 대상으로 함량이 증가한 화합물의 함유여부를 HPLC로 분석한 결과, fraction AC3 (80.3 mg)에서 증가된 피크와 일치되는 화합물이 있는 것으로 나타나 이 분획을 silica gel column chromatography [1.2 × 29.5 cm, $CH_2Cl_2$-MeOH (200:1→1:1)]하여 3개의 fraction (AC3A-C)으로 나누었다. 이 중 AC3B fraction (74.5 mg)을 Hexane-EtOAc 혼합용매 (20:1→1:1)로 다시 silica gel column chromatography (1.2 × 29.5 cm)하여 compound **1** (16.7 mg)을 얻었으며, 이 화합물을 천문동 추출물과 HPLC로 co-chromatography한 결과 증가된 화합물과 retention time이 정확히 일치하였고, LC-UV 분석에서도 증가된 화합물과 UV 흡수 pattern이 정확히 일치하였다.

**Compound 1** – compound **1**은 백색 분말상태로 얻어졌으며, $FeCl_3$에 음성, 10% $H_2SO_4$에 양성을 나타내었다. $^1$H-NMR (chloroform-$_d$, 400 MHz); δ 9.59 (1H, s, C<u>H</u>O), 7.23 (1H, d, *J*=3.56 Hz, H-3), 6.53 (1H, d, *J*=3.56 Hz, H-4), 4.73 (2H, s, C<u>H</u>$_2$), 2.73 (1H, brs, O<u>H</u>).

## 결과 및 고찰

**Roasting 처리에 의한 천문동 추출물의 HPLC pattern 변화** – Roasting 전, 후의 천문동 에탄올 추출물의 성분 변화를 관찰하기 위하여 HPLC chromatogram pattern을 비교하였다. 그 결과, 190°C에서 30분간 roasting처리한 경우 미처리군에 비하여 강도가 크게 증가한 peak ($t_R$, 14.85 min)를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

**가열처리에 의하여 증가한 화합물의 구조 동정** – Roasting 처리에 의해 증가한 화합물을 분리하기 위해 천문동을 에탄올로 환류추출한 다음 여기서 얻은 추출물을 $CH_2Cl_2$로 분획한 후, 분획물을 대상으로 silica gel column chromatography를 행하여 1종의 화합물을 순수 분리하였다. 분리된 화합물은 HPLC-UV 분석에서 증가된 화합물과 retention time 및 UV 흡수 pattern이 정확히 일치하는 것으로 관찰되었다. Roasting 처리에 의하여 증가한 화합물은 $^1$H-NMR 분석결과, δ 9.59 (1H, s)에서 알데하이드 수소에 기인한 proton 및 aromatic region의 δ 7.23 (1H, d, *J*=3.6 Hz)과 6.53 (1H, d, *J*=3.6 Hz)의 proton signal 등이 검출되어 furfural 골격을 가질 것으로 예상하였다. 또한 δ 4.73 (2H, s)과 δ 2.73 (1H, brs)에서 나타난 proton으로 미루어 furfural C-5에 hydroxymethyl기가 결합된 화합물임을 추측할 수 있었다. 상기 결

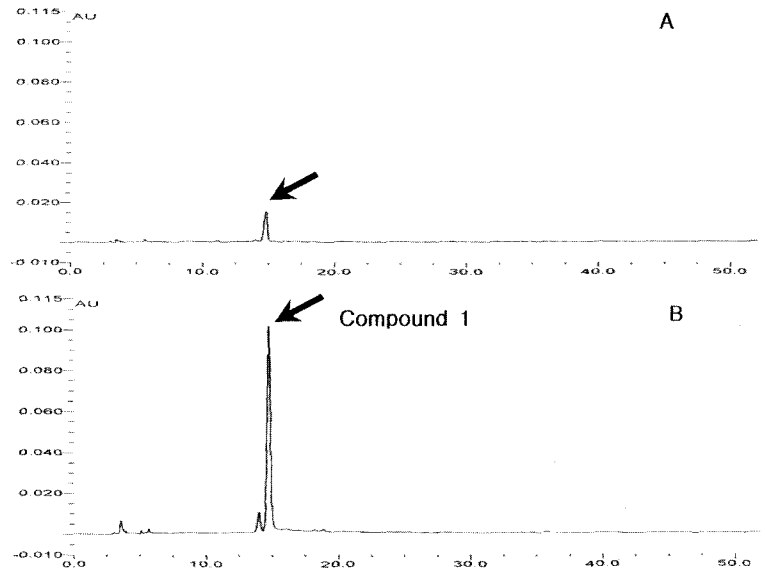


**Fig. 1.** HPLC profile of the ethanol extract of roasted and not-roasted Asparagi Tuber.
A; not-roasted, B; roasted Asparagi Tuber

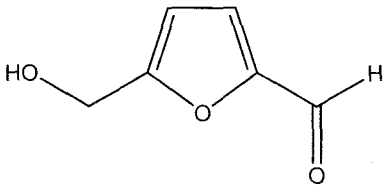


**Fig. 2.** Chemical structure of 5-hydroxymethyl furfural (HMF).

과로 미루어 화합물 **1**은 5-hydroxymethyl furfural (HMF)로 예상되었으며 표준품 (Aldrich)과의 $^1$H-NMR data를 비교하여 최종적으로 동정하였다.

**Roasting 조건에 따른 HMF 함량변화** – 천문동을 대상으로 roasting 온도와 시간에 따른 HMF의 함량변화를 HPLC를 이용하여 측정하였다. 천문동 10 g을 150, 170, 190, 210°C 조건에서 30분간 개별 roasting처리 후 에탄올로 추출하여 HMF의 함량변화에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과, 190°C에서 처리하였을 때 HMF가 최대함량을 나타내고 190°C 이상에서는 온도가 증가하더라도 함량의 증가에 영향을 주지 않았다(Fig. 3). 한편, roasting 온도를 190°C로 고정시키고 5, 10, 30, 60분 조건에서 roasting 처리 후 HMF의 함량변화에 미치는 가열처리시간의 영향을 조사한 결과, 60분간 처리하였을 때 함량이 가장 높게 나타났으며 (Fig. 4), 더 이상 가열 시는 시료가 검게 변하는 등 천문동의 외관에 심각한 변화가 일어나 (data 미제시) 60분 이상의 처리는 행하

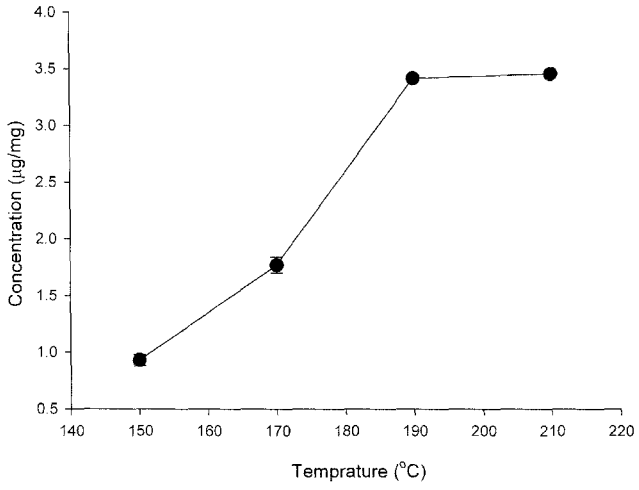


**Fig. 3.** Changes in HMF content according to the roasting temperature.

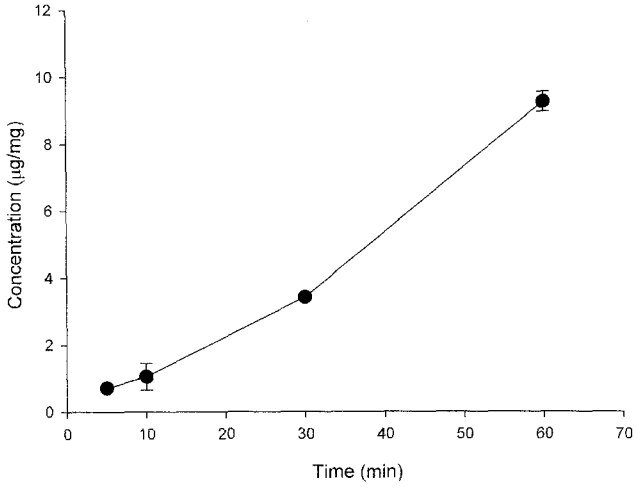


**Fig. 4.** Changes in HMF content according to the roasting time

지 않았다. 이상의 결과로 미루어 천문동 중의 HMF는 190°C에서 60분간 roasting 하였을 때 함량이 가장 높아짐을 알 수 있었고, 이 조건에서 HMF 함량은 처리전 (0.71 mg/g) 보다 약 13배 (9.26 mg/g) 증가한 것으로 나타났다.

HMF는 amino acid와 환원당이 가열에 의해 melanodin을 만드는 Maillard reaction의 중간산물로, 과즙이나 산성이 강한 식품에서 다량으로 생성되므로 식품 가공 중 변화하는 화합물의 중요한 중간체로 생각되고 있다.[20] HMF는 nitric oxide (NO) 생성 저해,[21] tyrosinase 저해,[22] 적혈구의 sickling 억제[23] 등의 활성이 알려져 있으며 상대적으로 약한 돌연변이성을 나타내[24] roasting 처리한 천문동은 고기능성 건강기능식품의 재료로 사용 될 수 있을 것으로 기대 된다.

한편, 처리 전과 처리 후의 활성 변화를 관찰하기 위하여 주로 퇴행성 질환과 관련이 있는 몇 가지 활성지표를 선정하고 이들에 대한 *in vitro* 실험을 행하였다. 그 결과 치매와 관련이 있는 prolyl endopeptidase 활성, 고혈압과 관련이 있는 ACE (angiotensin converting enzyme)활성, 항산화 활성 (DPPH), 면역 증강활성 (macrophage activating), 항혈전활성 (activated partial thromboplastin times) 등에 대하여 roasting 처리는 거의 효과를 나타내지 못하였다 (data 미제시).

## 결 론

Roasting에 의해 변화되는 천문동의 성분 변화를 관찰하기 위해 천문동을 190°C에서 30분간 처리한 후, 에탄올 추출물에 대하여 미처리군과 HPLC chromatogram pattern을 비교분석한 결과, 1종의 화합물 함량이 크게 증가한 것으로 관찰되었다. 그러나 roasting 처리는 항산화, 항치매, 항고혈압, 면역증강, 항혈전 등과 관련된 *in vitro* 상에서의 활성평가에는 영향을 끼치지 못하였다.

Roasting 처리에 의해 증가된 화합물을 partition chromatography 및 silica gel column chromatography로 분리하고, $^1$H-NMR을 이용하여 구조를 분석한 결과 5-hydroxymethyl furfural (HMF)로 동정되었다. 천문동 중의 HMF는 190°C에서 60분간 처리하였을 때 가장 함량이 높게 나타났으며, 이 조건에서 HMF 함량은 미처리군에 비해 13배 증가한 것으로 관찰되어, 가열처리가 천문동 중의 HMF 함량 변화에 많은 영향을 끼치는 것을 알 수 있었다. 이와 같이, 생약의 식품학적 가공은 유효성분의 증가라는 긍정적인 도구로 이용될 수 있을 것이다. 그러나 각종 가공처리 시 예기치 않은 독성 화합물을 생성할 가능성도 있다는 사실을 간과해서는 안 될 것이다. 후속 연구에서는 각종 가공에 의한 생약의 부가가치 증가와 안전성의 확보라는 두 가지 측면에 대한 기초자료를 체계적으로 확보해야할 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 2003년-2005년도 대구시/한국과학재단이 지원하는 전통기술첨단화연구실 사업에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 인용문헌

1. 배기환(2000) 한국의 약용식물, 572, 교학사, 서울.
2. 김태정(1996) 한국의 자원식물 V, 170, 서울대학교출판부, 서울.
3. Wang, S., Wang, Y., Wang, M. and Shi, J. (2004) Determination of astacochioside in Radix Asparagi by HPLC-ELSD. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* **39**: 540-541.
4. Li, M., Fei, Y. and Wang, Q. H. (2003) TLC study on Radix Asparagi. *Yaoxue Zazhi* **18**: 431-432.
5. Kikeatsu, T., Paul P. H., Guo, J.-Xn. and Sung, C. K. (1996) International collation of traditional and folk medicine-Northeast Asia Part I. 174-175. World Scientific, Singapore.
6. Hong, S. J., Fong, J. C. and Hwang, J. H. (2000) Effects of crude drugs on glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Kaohsiung J. Med. Sci.* **16**: 445-51.
7. Hong, S. J., Fong, J. C. and Hwang, J. H. (2002) Effects of crude drugs on lipolysis in differentiated 3T3-L1 adipocytes. *Kaohsiung J. Med. Sci.* **18**: 157-63.
8. Kim, J. D. and Kim, M. Y. (2003) Functional composition having antioxidant effect and growth stimulating effect on beneficial human intestinal bacteria. *Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo* KR2003012359.
9. 동의학연구소 편저(1994) 동약법제, 여강출판사, 서울.
10. 北川 勳, 吉川雅之(1985) Chemical Characterization of Crude Drug Processing: on Aconiti Tuber and Ginseng Radix. 現代東洋醫學 **6**: 101-110.
11. 北川 勳, 吉川雅之(1992) 漢方藥 (29, 臨時增刊號, Processing of Chinese Traditional Medicine), 86-98, 中山書店, 東京.
12. Yen, K.-Y. (1992) 漢方藥 (29, 臨時增刊號, Relationship Between Syndrome Pattern and the Process of Preparing Chinese Medicine), 108-116, 中山書店, 東京.
13. 김남재(1995) 한방약물의 약리작용. 병원약사회지 **12**: 121-138.
14. Kim, J. S., Kim, H. J. and Ko, J. H. (2002) Studies on the processing of herbal medicines (3) - HPLC analysis of magnolol and inhibitory effects on the formation of advanced glycation endproducts(AGEs) *in vitro* of unprocessed- and processed magnolia bark. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 308-311.
15. Yun-Choi, H. S., Yoo, K. S., Lee, S. Y., Lee, Y. H. Kwak, W. E. and Kim, K. H. (1990) Microwave irradiation, a new processing method of Aconiti Tuber. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**: 284-289.
16. Shin, Y. W., Kim, D. H. and Kim, N. J. (2003) Studies on the

processing of crude drugs (7) - on the constituents and biological activities of Gardeniae Fructus by processing. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**: 45-54.
17. Kim, H. K., Kim, Y. A., Hwang, S. W. and Ko, B. S. (2002) Quantitative analysis of 6-gingerol in the Zingiberis Rhizoma by processing methods. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 291-295.
18. Kim, N. J. and Hong, N. D. (1996) Studies on the processing of crude drugs (V) - On the constituents and biological activities of Glycyrrhizae Raidx by processing. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**: 196-206.
19. Kim, N. J., Jin, Y. H. and Hong, N. D. (1995) Studies on the processing of crude drugs (4) - physico-chemical transformation of glycyrrhizin in Glycyrrhizae Radix by processing. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 31-38.20.
20. Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J. and Eisenbrand, G. (2000) 5-Hydroxymethylfurfural: assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity toward cellular glutathione. *Food and Chem. Toxicol.* **38**: 801-809.
21. Kim, N. Y., Kang, T. H. and Kim, D. H. (1999) A nitric oxide synthesis inhibitor from the roots of *Gentiana scabra* in RAW 264.7 Cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**: 173-176.
22. Sharma, V. K., Choi, J., Sharma, N., Choi, M. and Seo, S. Y. (2004) *In vitro* anti-tryrosinase activity of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural isolated from *Dictyophora indusiata. Phytother. Res.* **18**: 841-844.
23. Abdulmalik, O., Safo, M. K., Chen, Q., Yang, J., Brugnara, C., Ohene-Frempong, K., Abraham, D. J. and Asakura, T. (2005) 5-hydroxymethyl-2-furfural modifies intracellular sickle haemoglobin and inhibits sickling of red blood cells. *Br. J. Haematol.* **128**: 552-561.
24. Proma, K. and Mukhlesur, R. M. (2002) Cytotoxicities of metabolites from a *Monocillium* species. *Pak. J. Pharmacol.* **19**: 9-12.

(2005년 7월 22일 접수)