

수증기 증류로 추출한 망초 (*Erigeron canadensis* L.) 정유의 성분 분석과 독성 평가

최해진¹ ·王海英² ·김영남¹ ·허수정¹ ·김남경³ ·정미순⁴ ·박유화 ·김성문*

강원대학교 자원생물환경학과, ¹강원도농업기술원 농산물이용시험장, ²동북임업대학, ³(주)래디안, ⁴갈리마드 퍼퓸 플레버 스쿨

Composition and Cytotoxicity of Essential Oil Extracted by Steam Distillation from Horseweed (*Erigeron canadensis* L.) in Korea

Hae-Jin Choi¹, Hai-Ying Wang², Young-Nam Kim¹, Su-Jeong Heo¹, Nam-Kyung Kim³, Mi-Soon Jeong⁴, Yu-Hwa Park and Songmun Kim*

Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

¹Gangwon-do Agricultural Research & Extension Services, Chuncheon 200-822, Korea

²College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, People's Republic of China

³Radiant Co. Ltd., HiTech Venture Town, Chuncheon 200-161, Korea

⁴Galimard Perfume & Flavor School, Seoul 135-080, Korea

Received October 30, 2007; Accepted March 4, 2008

The composition of essential oil from the aerial part of *Erigeron canadensis* L. was analyzed by GC-MS. Thirty-one constituents were identified from the essential oil: eighteen hydrocarbons (91.99% of the total oil), two acetates (2.92%), three alcohols (3.59%), four ethers (0.49%), one aldehyde (0.05%), and three ketone (0.23%). Major constituents of the essential oil were D,L-limonene (68.25% of the total oil) and delta-3-carene (15.9%). The IC₅₀ value of the essential oil was 0.027 μg mg⁻¹ in MTT assay using HaCaT keratinocyte cell line.

Key words: *Erigeron canadensis* L., essential oil, GC-MS, SPME

서 론

우리나라에서 자생하고 있는 망초속 식물로는 망초(*Erigeron canadensis* L.), 큰망초(*Comyza sumatrensis* (Retz.) Walker), 실망초(*Erigeron bonariensis* L.), 애기망초(*Erigeron pusillus* L.), 개망초(*Erigeron annuus* (L.) Persoon), 주걱개망초(*Erigeron ramosus* (Walt.) Britton, Sterns, Poggenburg), 봄망초(*Erigeron philadelphicus* L.)를 들 수 있다. 이들 중 망초는 북아메리카 원산의 1~2년생 초본으로서 우리나라 전역의 논·밭둑, 과수원, 도로변, 공한지에서 널리 분포하고 있으며, 여름에서 가을에 걸쳐 발생하는데, 가을에 발생하는 망초는 로제트를 형성하여 월동하고 다음해의 여름과 가을철 개화한다.¹⁾

망초의 줄기는 직립하며 높이는 약 0.5~1.5 m 정도이다. 근생엽은 피침형으로 가장자리에 톱니가 있으며, 경생엽은 많은 수가 밀집해서 어긋나기를 하고 도피침형으로 길이 7~10 cm,

폭 0.8~1.5 cm이며 톱니가 있거나 혹은 밋밋하고 위로 올라가면서 점차 작아져 선형이 된다. 꽃은 7~9월에 피며, 두화는 다수이고 지름 약 5 mm이며 커다란 원추화서를 이룬다.

망초에는 약용성분이 함유되어 있어서 미국의 민간에서는 항경련, 항염증, 항지혈, 항발한, 항배뇨, 혈압강하, 구충 및 강장의 목적으로 활용되고 있다.²⁾ 또한 망초의 잎과 줄기에는 약 0.33%에 달하는 정유가 함유되어 있어서 중요한 향료자원으로의 개발 가능성이 제기된 바 있다.³⁾ 망초에 함유되어 있는 정유는 다양한 향장품 및 식품, 의약품, 가정용품, 보안용품, 환경 및 위생용품, 공업용품, 사료용품, 농업용품 개발에 활용될 수 있으며, 이의 개발을 위해서는 무엇보다도 대량으로 채취가 가능한 방법을 통하여 얻은 정유의 성분분석과 독성평가가 필요하다. 이를 위하여 저자들은 대량 채취가 가능한 수증기증류를 통하여 망초로부터 정유를 추출하고, 이에 함유된 휘발성 성분을 분석하였으며 이들이 세포에 미치는 영향을 구명하였다.

재료 및 방법

식물 시료. 식물시료인 망초의 지상부위는 강원도 춘천시 신

*Corresponding author

Phone: +82-33-250-6447; Fax: +82-33-241-6640

E-mail: skim5@kangwon.ac.kr

복읍 천천리 소재 강원대학교 부속농장에서 2007년 6월 중순 채취되었으며, 망초의 분류는 한국식물도감을 참조하였다.⁴⁾ 채집된 망초는 급급적 빠른 시간 내에 실험실로 운반된 후 정유 추출에 사용되었다.

정유 추출. 망초 식물로부터 정유 추출을 위해서 수증기 증류장치가 이용되었다. 수증기 증류장치의 수증기 발생부위에 2 l의 증류수를 넣고, 정유 발생부위에 망초 지상부위 1 kg을 넣은 후, 냉각관에는 4°C의 냉각수가 지속적으로 흘러 수용기에 모이도록 하였다. 수증기 발생부위의 온도를 110°C로 2시간 동안 유지시키면서 발생한 수증기가 정유 발생부위를 통과하면서 망초에 함유되어 있는 정유를 발생시켰다. 발생한 정유는 냉각관에서 응축된 후 수용기에서 증류수층과 정유층으로 분류되었다. 정유만을 따로 모으기 위하여 정유층을 sodium sulfate가 담겨 있는 삼각깔대기에 통과시켰다. 정유는 성분 분석시까지 4°C의 냉장고에서 보관되었다.

정유 분석. 추출된 망초정유의 향기성분을 polydimethylsiloxane (PDMS) fiber가 장착된 solid phase microextraction (SPME) 장치에 흡착시킨 다음, gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS)로 분석하였다.

수증기 증류장치를 이용하여 추출된 망초 정유 1 ml를 headspace glass vial(20 ml)에 가한 후, vial을 실리콘 septum으로 밀봉하였다. SPME needle를 vial 내로 삽입하여 60°C에서 30분간 흡착시켰다. SPME 장치에 흡착된 향기성분은 gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS)로 분석하였다. 사용한 GC는 Varian사의 CP-3800이었으며, MS는 Varian사의 1200 L이었다. GC와 MS의 작동조건은 Table 1에 나타내었으며, 성분 분석은 Wiley 275 Library, NIST Library의 mass spectrum data를 이용하였다.

독성 평가: 세포주. 정유의 독성평가를 위한 세포는 한국 세포주 은행에서 분양받은 각질형성세포인 HaCaT cell (Keratinocyte, Human)을 사용하였다.

시약. 세포배양에 필요한 trypsin-EDTA는 GibcoBRL(USA) 제품을 사용하였고, 세포독성 실험에 사용한 MTT(thiazolyl blue tetrazolium bromide, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) 시약은 Sigma (USA) 제품을 사용하였으며, formazan 검출에 사용한 isopropanol 및 HCl은 Merck (USA) 제품을 사용하였다.

계면활성제 첨가. 추출된 망초 정유는 세포 배양 배지(수용성 배지)에 용해가 되지 않기에 정유와 계면활성제(Dimethyl sulfoxide: DMSO)를 혼합하여 비율을 선정하였다. 망초 정유와

DMSO를 각각 1:0, 1:1, 1:10, 1:100의 비율로 첨가하고 용해도와 배지표면 막 형성도를 조사하였다.

세포독성. 사람유래의 각질형성세포(HaCaT cell)를 배양접시에 접종한 후, penicillin(100 unit/ml⁻¹), streptomycin(100 µg/ml⁻¹), 10% FBS(fetal bovine serum)를 함유하는 DMEM(Dulbecc's Modified Eagle's Medium) 배지를 넣고 37°C, 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기 내에서 배양하였다.

HaCaT 세포를 96 well plate에 1×10⁵/ml⁻¹의 농도로 희석하여 100 µl씩 접종한 후 24시간 배양하였다. 배양 후 배지를 모두 제거하고 혈청이 포함되지 않은 배지 90 µl씩을 각 well에 넣어 주었다. 최종농도 0.11~0.0055%의 농도가 되도록 혈청이 포함되지 않은 배지를 이용하여 희석한 시료를 10 µl씩 처리하였다. 24시간 배양 후 PBS를 이용하여 5 mg/ml⁻¹의 농도로 녹여져 있는 MTT 시약을 20 µl씩 넣어주고 4시간 배양하였다. MTT 시약과 시료가 포함된 배지를 모두 제거하고 각 well에 acid isopropanol(0.04 N HCl in iso-propanol) 100 µl를 첨가하여 30분간 교반한 후, ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

망초 지상부에 함유된 정유를 고온의 수증기증류를 이용하여 추출하고, SPME로 흡착한 다음 GC-MS로 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다.

수증기 증류장치를 이용하여 추출된 정유의 향취는 박 등³⁾이 보고한 Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용한 망초 정유의 향취와 거의 유사하였다. 즉, 망초 정유의 향취는 sweetly, fresh, spicy하였다.

수증기증류를 이용하여 추출된 망초 정유에는 총 47종의 화학성분이 확인되었는데, 31종은 구조가 확인된 화학성분이었던 반면 16종은 구조가 미확인된 화학성분이었다. 구조가 확인된 화학성분은 탄화수소(hydrocarbon) 18종, 에테르(ether) 4종, 알코올(alcohol) 3종, 아세테이트(acetate) 2종, 알데히드(aldehyde) 1종, 그리고 케톤(ketone) 3종이었다. 이러한 정유성분에는 수증기 비휘발성 성분은 함유되어 있지 않으며 모두 수증기 휘발성 성분이라 판단된다.⁵⁾

망초 지상부에서 추출된 정유에 함유되어 있는 구조가 확인된 화학성분의 함량은 탄화수소가 91.99%, 에테르가 0.49%, 알코올이 3.59%, 아세테이트가 2.92%, 알데히드가 0.05%, 그리고 케톤이 0.23%이었으며, 미확인된 구조를 갖는 화학성분의 함량은 0.24% 이었다.

망초로부터 수증기 증류를 이용하여 추출한 정유에 함유된 성분 중에는 탄수화물류와 그 함량이 가장 높았으며, 동일한 식물을 상이한 추출방법(Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치)을 이용하여 추출한 정유의 성분³⁾과 비교하였을 때 탄수화물의 종수와 함량이 가장 많다는 점에 있어서는 차이가 없었으나, 탄수화물의 종류에 있어서는 커다란 차이가 발견되었다.

수증기증류를 이용하여 추출된 망초 정유에는 D,L-limonene 이 가장 많이 함유되어 있는 것으로 나타났으며, 이는 중국,⁶⁾

Table 1. Analytical conditions of GC-MS for volatile composition in essential oil extracted from horserweed (*Erigeron canadensis* L.) in Korea

| | |
|----------------------|---|
| GC | CP-3800 Varian |
| Colume | VF-5MS 30 m capillary column (25 mm) |
| Oven temperature | 50°C (5 min) 250°C (4 min), 4°C min ⁻¹ |
| Injector temperature | 250°C |
| MS | 1200L Quadrupole, Varian |
| Ionization voltage | 70eV |
| Carrier gas | He (1 ml/min ⁻¹) |

Table 2. Volatile composition in essential oil of *Erigeron canadensis* L. collected in Korea. The essential oil was prepared by steam distillation apparatus, extracted by solid-phase microextraction method, and analyzed by GC-MS. Data, content of compounds, are from three replicates

| Classification | Compound Name | R.T. (min) | Content (%) |
|----------------|---|------------|-------------|
| Hydrocarbon | D,L-Limonene | 14.590 | 68.25 |
| | δ -3-Carene | 15.578 | 15.93 |
| | β -Myrcene | 11.784 | 2.97 |
| | E,E-2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene | 20.316 | 1.18 |
| | 2- β -Pinene | 11.122 | 1.10 |
| | trans- β -Farnesene | 40.974 | 0.60 |
| | α -Bergamotene | 39.606 | 0.37 |
| | Germacrene-D | 42.431 | 0.33 |
| | Camphene | 9.751 | 0.22 |
| | (E)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene | 19.198 | 0.19 |
| | Caryophyllene | 38.637 | 0.17 |
| | γ -Terpinene | 15.936 | 0.10 |
| | cis-Epoxy-Ocimene | 20.927 | 0.10 |
| | Sabinene | 10.895 | 0.08 |
| | α -Terpinolene | 17.420 | 0.07 |
| | β -Elemene | 36.879 | 0.05 |
| | Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl | 42.562 | 0.05 |
| Isocitronellne | 18.130 | 0.23 | |
| Ether | 2,7,7-trimethyl-3-Oxatricyclo[4.1.1.0(2,4)]octane | 16.824 | 0.15 |
| | (-)-Caryophyllene oxide | 48.344 | 0.15 |
| | cis-Limonene oxide | 20.465 | 0.11 |
| | Arthole | 23.617 | 0.08 |
| Alcohol | 4-Methoxy-1-naphthalenol | 45.814 | 3.42 |
| | cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol | 20.730 | 0.09 |
| | Carvoel | 26.156 | 0.08 |
| Acetate | Methyl (z)-dec-2-en-4,6-dienoate | 45.199 | 2.50 |
| | L-Born-2-yl acetate | 30.322 | 0.42 |
| Aldehyde | Nonanal | 18.742 | 0.05 |
| Ketone | 2-Cyclohexen-1-one,2-methyl-5-(1-methylethenyl) | 27.752 | 0.09 |
| | 3-Methyl-4-methylene-bicyclo[3.2.1]oct-2-one | 12.639 | 0.09 |
| | 6,10-dimethyl-5,9-Undecadien-2-one | 40.701 | 0.05 |
| | Unknown | - | 0.24 |

미국,⁷⁾ 일본⁸⁾에서 발견되는 쥐꼬리망초(*Comiza canadensis* (L.) Cronq.) 정유에서도 가장 많이 함유되어 있다는 자료를 고려해 볼 때 망초속 식물의 정유에는 D,L-limonene이 주된 성분일 것이라 추정된다.

망초 정유 중 가장 많은 함량을 차지하고 있는 D,L-limonene은 오렌지, 밀감, 레몬, 네롤리 등의 천연과일에 함유되어 있으며,⁹⁾ 합성 베르가못, 그레이프후르트, 레몬, 네롤리, 펜넬의 주요성분으로 세정효과가 있어서 화장품, 욕실용 세정제, 방향제에 널리 활용되고 있다.¹⁰⁾ 그러므로 D,L-limonene이 주된 성분으로 구성되어 있는 망초 정유 역시 세정효과를 목적으로 하는 다양한 산업제품의 개발에 활용이 가능할 것이라 판단된다.

망초 정유 중 두 번째로 많은 함량(15.93%)을 차지하고 있는 δ -3-Carene은 D,L-limonene과 유사한 향취를 내는 무색의 액체로서 테르펜(terpene)유의 주요 성분 중 하나이며, 폴란드, 독일, 러시아산의 테르펜유에는 15.41%의 δ -3-Carene이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.⁹⁾ 이러한 자료와 진달래(*Rhododendron mucronulatum* Rurcz.)의 잎에서 추출된 정유의

함량(28.51%, 미발표자료)을 망초 정유에 함유되어 있는 δ -3-Carene의 함량과 비교해 볼 때, 망초 정유에 함유된 δ -3-Carene의 함량은 많다고는 할 수 없다.

망초 정유에는, 비록 상이한 추출방법을 사용하였을지라도, 11종의 화학성분-D,L-limonene, β -myrcene, E,E-2,6-dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, 2- β -pinene, trans- β -farnesene, α -bergamotene, germacrene-D, (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, caryophyllene, cis-epoxy-ocimene, β -elemene은 동일하게 존재하는 것으로 나타났다.

수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유에 존재하는 δ -3-carene, camphene, γ -terpinene, sabinene, α -terpinolene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl benzene, 3-methyl-4-methylene-bicyclo[3.2.1]oct-2-one, isocitronellne, 6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one과 같은 성분은 Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유에서는 존재하지 않았다. 이와 같은 성분들은 수증기 증류장치에서 발생하는 고온에서 추출되었거나 혹은 고온에 의하여 다른 성분으로부터 변성

Table 3. Effects of essential oil and DMSO mixtures on buffer solution for MTT assay

| Composition (essential oil : DMSO) | Effects |
|---------------------------------------|--|
| 1 : 0 | Essential oil has not dispersed well on the surface of buffer solution. The oily membrane has formed on the surface of buffer solution. |
| 1 : 1 | Essential oil has not dispersed well on the surface of buffer solution. The oily membrane has formed on the surface of buffer solution. |
| 1 : 10 | Essential oil has dispersed well on the surface of buffer solution. The oily membrane has formed on the surface of buffer solution. |
| 1 : 100 | Essential oil has dispersed well on the surface of buffer solution. The oily membrane has formed on the surface of buffer solution. |

된 후 추출되었을 것이라 추론된다. 즉, 수증기 증류장치를 이용할 경우 망초 식물체는 약 100°C의 수증기에 2시간 동안 노출되면서 주로 식물체의 표면에 함유된 정유성분이 휘발되는 반면, Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용할 경우 망초 식물체는 증류수에 담긴 상태로 100°C에서 2시간 동안 끓여지기 때문에 주로 식물체 표면은 물론 조직내에 함유되어 있는 정유성분이 휘발된다. 이러한 추출방법간의 차이가 상이한 성분의 추출에 영향을 주었을 것이라 추론된다.

그리고 Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유에서는 존재하는 zingerberene, trans- β -farnesene, α -humulene, γ -elemene, 1,2,4a,5,8,8a,hexahydro-4-naphthalene과 같은 성분은 수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유에서는 존재하지 않았다. 이와 같은 차이점은, 앞에서 추론한 바와 같이, 고온에 의하여 변성되어 본 연구의 결과에서는 나타나지 않았다고 추론된다.

수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유성분에는 에테르와 알데히드, 케톤이 각각 4종, 1종, 3종씩 함유되어 있었으나 Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용하여 추출한 망초 정유성분에는 이들 성분 대신에 카보노릭 락톤(carbonic lactone)이 1종 함유되어 있었는데 이러한 성분차이도 추출방법에 의한 것이라 추론된다.

망초 정유의 농도별 HaCaT 각질형성세포에 미치는 세포독성을 조사하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. MTT assay를 위하여 HaCaT 세포의 배양배지에 망초로부터 추출한 정유 성분을 첨가할 경우 수용성의 배양배지에 망초 정유가 골고루 분산, 혼합되지 못하였다(Table 3). 따라서 세포배양배지에 정유를 효과적으로 첨가할 수 있도록 dimethyl sulfoxide(DMSO)와 정유의 최적 혼합비율을 평가하여 세포독성평가 실험을 수행하였다.

Table 3에 나타난 바와 같이 배양배지에 정유를 효과적으로 첨가할 수 있는 정유: DMSO의 최적 혼합비율은 1:10으로 나타났다. 1:0 또는 1:1의 비율로 혼합하였을 경우에는 정유가 배양배지 내에 고루 분산되지 않을 뿐만 아니라, 세포 배양 시간이 경과함에 따라 배양배지 위에 막이 형성되어 정확한 세포독성 평가실험을 수행할 수 없었다. 따라서 망초 정유를 DMSO에 1:10의 최적비율로 혼합하여 배양배지에 첨가하여 MTT assay를 실행하였으며 HaCaT 세포에 대한 망초 정유의 세포독성 평가 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 본 실험에 사용된 HaCaT 세포는 0.0055 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 망초 정유를 첨가하였을 경우 정상적인 생육을 보였으며, 0.011 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 망초

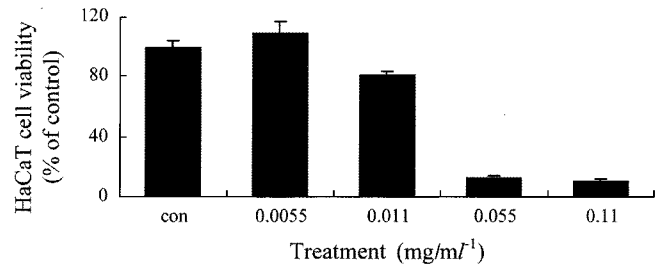


Fig. 1. Effect of essential oil from Korean horseweed (*Erigeron canadensis* L.) on survival rate of HaCaT keratinocyte cell line. Means and standard errors are based on data from three replicates.

정유를 첨가농도에서도 80% 이상의 높은 생존율을 보였다. HaCaT 세포의 생육은 정유의 농도가 증가할수록 감소하였으며 ($y = 17712x^2 - 2925.8x + 118.55$, $R^2 = 0.9879$) 0.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 20% 이하의 생존율을 보였다.

망초 정유의 HaCaT 세포에 미치는 세포독성의 IC_{50} 값은 0.027 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 이었다(Fig. 1). 이 값은 긴병꽃풀(*Glechoma hederacea* var. *longituba* Nakai) 정유의 IC_{50} 값(0.026 $\mu\text{g}/\text{mg}$)과 비교해 볼 때 비슷하였으며, 상업적으로 널리 사용되고 있는 rosemary와 tea tree 정유의 IC_{50} 값과 비교해서도 높은 것이 아니었다.¹¹⁾ 이러한 결과로 보아 망초 정유는 피부에 독성을 나타내지는 않는 것으로 판단되었으며, 향후 화장품 등의 원료로 사용이 가능할 것이라 기대된다.

초 록

국내산 망초(*Erigeron canadensis* L.)의 지상부위를 수증기증류방식으로 처리하여 얻은 정유의 성분을 GC-MS로 분석하고 HaCaT 각질형성세포에 대한 세포독성을 조사하였다. 망초 정유에는 총 31종의 화학성분이 존재하는 것으로 분석되었는데, 이들을 성분별로 구분하면 탄화수소류 18종(전체 정유 중 91.99%), 에테르류 4종(0.49%), 알코올류 3종(3.59%), 아세테이트류 2종(2.92%), 알데히드류 1종(0.05%), 케톤류 3종(0.23%)이었다. 망초 정유에 함유되어 있는 주된 화합물은 탄화수소류인 D,L-limonene과 δ -3-carene이었고, 이들의 함량은 각각 68.25%와 15.93%이었다. MTT assay를 통해서 망초 정유성분의 HaCaT 각질형성세포에 대한 세포독성을 검정한 결과, 정유의 농도와 세포독성간에는 상관관계가 있었으며($y = 17712x^2 - 2925.8x + 118.55$, $R^2 = 0.9879$), IC_{50} 값은 0.027 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 이었다.

Key words: *Erigeron canadensis* L., essential oil, GC-MS, SPME

감사의 글

본 연구는 흥천군지자체연구소의 지원으로 이루어졌으며,王海英 박사는 연구기간동안 한국과학재단으로부터 2006 한중신진과학기술자교류사업의 지원을 받았습니다.

참고문헌

1. Yang, H. S., Kim, D. S. and Park, S. H. (2004) Weeds of Korea. In *Sympetalaell*. pp. 518-522.
2. Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., duCellier, J. and Duke, P. A. K. (2002) Handbook of Medicinal Herbs (2nd Ed). pp. 392-393.
3. Park, Y. H., Choi, H. J., Wang, H. Y., Kim, H. Y., Heo, S. J., Kim, K. H., Kim, Y. M. and Kim, S. (2007) Volatile Components of *Erigeron canadensis* L. in Korea. *The Korean Soc. of Weed Sci.* **27**, 268-274.
4. Lee, Y. N. (2006) In *New flora of Korea*. Kyo-Hak Publishing Co. LTD. pp. 298-299.
5. Richter, J. and Schellenberg, I. (2007) Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* **387**, 2207-2217.
6. Zhu, L. F., Li, Y. H., Lu, B. Y. and Zhang, W. L. (1995) In *Aromatic Plants and Essential Constituents. Supplement*. South China Institute Botany, Peace Book Co., Hong Kong.
7. Hrutfiord, B. F., W. H. Hatheway and Smith, D. B. (1988) Essential oil of *Conyza canadensis*. *Phytochemistry.* **27**, 1858-1860.
8. Miyazawa, M., Yamamoto, K. and Kameoka, H. (1992) The essential oil of *Erigeron canadensis* L. *J. Essent oil Res.* **4**, 227-230.
9. Motoiqi, I. (1996) Synthetic Spice. Chemical Industry Daily Society, Japan. pp. 21.
10. Kogami, K. (1995) Technology of Manufacturing and Analysis and the Utilization. In *Material science and Engineering for Perfume and Flavor*, Japan. pp. 155.
11. Lee, Y. S. (2006) Development of aroma oil from Gangwon native plants. MSc Thesis, Kangwon National University.