

## 미선나무 잎과 줄기의 성분 분석 및 안전성 평가

권순복 · 강희주\* · 김민정\* · 김진희\* · 신해식\*\* · 김강성†

용인대학교, \*한국식품연구원, \*\*우리나무영농조합법인

### Analysis on the Components and Safety Evaluation of *Abeliophyllum distichum* Nakai Leaves and Stems

Soonbok Kwon, Heejoo Kang\*, Minjung Kim\*, Jinhee Kim, Haeshik Shin\*\*, and Kangsung Kim†

Department of Food and Nutrition, Yongin University

\*Korean Food Research Institute

\*\*Woorinamoo Agricultural Union Corporation

#### ABSTRACT

**Objectives:** This study was carried out in order to analyze the composition of the leaves and stems of *Abeliophyllum distichum* Nakai, with the aim of obtaining basic data for utilizing the plant as a food ingredient, as well as for processing.

**Methods:** Leaves and stems from *Abeliophyllum distichum* Nakai were harvested at Cheongcheon-myeon, Geosan-gun, Chungcheongbuk-do, and were subsequently freeze-dried and ground to a fine powder for chemical component analysis and safety evaluation.

**Results:** The moisture contents of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems were respectively 65.07% and 40.97%, and the crude ash contents were 1.32% and 0.91%. In addition, the crude protein contents were 11.97% and 3.77%, and the crude fat contents were 2.52% and 0.36%, respectively. The fructose and glucose contents were 32.13 mg/g and 56.17 mg/g for leaves, and 11.38 mg/g and 10.59 mg/g for stems. The major fatty acids of the leaves were palmitic acid (31.79%) and stearic acid (14.79%), and those for stems were linolenic acid (32.78%) and palmitic acid (26.75%). The ascorbic acid contents of leaves and stems were 1.32 mg/g and 0.30 mg/g respectively. The calcium content was found to be the highest among the minerals tested, both in the leaves and stems, with the levels being 166.17 mg/100 g for leaves and 592.34 mg/100 g for stems. The content of organic acid was greater in leaves than in stems, with that of malic acid accounting for more than 75% of total organic acids for both samples. The total phenolic compounds and flavonoid contents of *Abeliophyllum distichum* Nakai were 50.64 mg/g and 13.53 mg/g in leaves and 96.47 mg/g and 18.53 mg/g in stems, respectively. No changes were shown in the number of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) among 2,000 polychromatic erythrocytes compared to the negative control. *Abeliophyllum distichum* Nakai was administered orally to rats in order to investigate acute toxicity. The LD<sub>50</sub> values in rats were above 2,000 mg/kg.

**Conclusion:** These results indicate that the leaves and stems of *Abeliophyllum distichum* Nakai can be used as natural ingredients in the development of nutritional and functional materials.

**Keywords:** *Abeliophyllum distichum* Nakai, Nutritional components, Functional components, Safety evaluation

†Corresponding author: Department of Food and Nutrition, Yongin University, Gyeonggi, 449-714, Korea, Tel: +82-31-8020-2758, Fax: +82-31-8020-2886, E-mail: kss@yongin.ac.kr

Received: 13 May 2014, Revised: 28 May 2014, Accepted: 19 June 2014

## I. 서 론

미선나무(*Abeliophyllum distichum* Nakai)는 물푸레나무과에 속하는 낙엽관목으로, 세계적으로 우리나라에서만 자생하는 한국 특산식물이다.<sup>1)</sup> 자생식물은 자연에 저절로 나서 자라는 식물을 의미하는데, 특정 지역의 환경에 대한 높은 적응성과 생물학적 다양성을 지니고 있다.<sup>2)</sup> 1917년 정태현박사가 충북 진천군 초평면 용정리에서 미선나무를 처음 발견하였고, 1924년 일본인 학자 이시토야 쓰토무[石戸谷勉]가 학계에 처음 보고하여 *Abeliophyllum distichum* Nakai 이라는 학명을 얻었다.<sup>3)</sup> 미선나무는 세계적으로 1속 1종의 희귀식물로 괴산, 영동 및 부안 소재의 미선나무 자생지는 천연기념물로 지정되어 있다. 미선나무 자생지 주변의 민간에서는 오래 전부터 미선나무를 이용하여 고기의 누린내 제거, 해충구제, 각종 염증질환, 배탈 등의 예방 및 치료에 사용하였다.

미선나무에 대한 관련 연구를 살펴보면 미선나무의 형태적 특성 분석 및 화색의 특성 등 육종학적 연구,<sup>4,5)</sup> 자생지 내 생태적 특성 분석 및 분포규모, 신규 자생지의 보전 및 관리에 관한 연구 등의 자생지와 관련된 특성연구,<sup>6,9)</sup> 미선나무의 삼목 조건에 따른 번식방법 및 종자에 존재하는 발아억제물질에 관한 연구<sup>10,11)</sup> 등이 주를 이룬다. 미선나무에 관한 특허로는 주로 미선나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부노화 방지, 피부주름 개선, 미백 및 보습 효과를 갖는 화장품 조성물에 대한 특허, COX-2 (cyclooxygenase-2) 활성 저해 효과 및 대장암 세포 증식 억제 효과 등의 항염증 및 항암활성에 관한 특허 등이 있다. 최근 미선나무 대량증식의 성공과 이에 따른 인공증식증명서 발급으로 미선나무의 이용가공유통이 원활해짐에 따라 자생지 주변에서만 이용되고 있는 미선나무의 다양한 생리활성기능 성분 에 관한 연구 활동이 가능해졌다. 미선나무의 유효성분에 관한 연구로는 미선나무 잎 추출물의 항산화 활성 연구가<sup>12)</sup> 있으나, 꽃, 잎, 줄기 뿌리 등의 부위별 일반성분 및 기능성 성분 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 또한 자생지 주변의 민간에서 미선나무의 추출물을 육류 및 가금류에 첨가하여 누린내를 없애고 육질을 부드럽게 하며, 생선조리의 비린내를 제거하는데 사용하는 등 식용으로 활용하고 있음에도 불구하고 식품 소재로서의 연구는 전혀 이루어지

고 있지 않다. 따라서 다양한 생리활성을 가진 미선나무를 식품 소재로써 활용하기 위한 영양 및 기능성 성분 분석과 생리활성에 관한 과학적 검증이 필요한 실정이다.

미선나무의 효능이 민간요법 및 특허에서 제시한 기능성 성분으로서 뿐만 아니라 식품소재로서 활용하기 위해서는 과학적 근거에 의한 미선나무 재료의 안전성 평가 등 체계적인 연구가 선행되어야 한다. 미선나무의 잎과 줄기 부위 등을 소재로 한 체계적인 성분 규명은 새로운 고부가가치의 식용식물의 개발과 더불어 세계 유일의 종인 미선나무가 우리나라 고유의 천연자원임을 알리는 기회가 될 것으로 사료된다. 본 연구에서는 미선나무 잎과 줄기의 영양성분 및 기능성 성분을 분석하여 미선나무에 관한 연구의 기초를 마련하고자 하며, 다양한 생리활성을 가진 미선나무를 활용한 식품 개발의 토대를 마련하고자 한다. 더불어 미선나무 재료에 대한 안전성을 검토할 목적으로 시료의 유전 독성을 예측할 수 있는 염색체 이상 시험과 실험동물을 이용하여 단회 경구 투여 독성실험을 실시함으로써 미선나무 재료의 안전성에 관한 기초실험을 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구에 사용된 미선나무 잎과 줄기는 2013년 10월 경 충북 괴산군 청천면 농가에서 채배되고 있는 개체로부터 채취하여 동결 건조한 후 영양성분 및 기능성성분 분석을 위한 시료로 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 일반성분 측정

미선나무 잎, 줄기의 일반성분은 AOAC방법<sup>12)</sup>에 의하여 분석하였다. 수분은 105°C에서 상압 건조하여 측정하였고, 조단백은 micro-Kjeldahl 로 측정하였으며, 질소계수 6.25를 사용하여 환산하였다. 조지방은 시료를 Soxhlet 장치를 사용하여 65°C에서 8시간 petroleum ether로 추출하였으며, 회분은 550°C 직접 회화법을 사용하여 측정하였다.

#### 2) 당 함량 측정

동결 건조된 미선나무 잎과 줄기분말 50 mg에

**Table 1.** GC conditions for analysis of fatty acid

Conditions	
Column	DB-wax capillary column (30 m×0.25 mm, thickness 0.25 μm J&W Scientific, Folsom, CA, USA)
Detector	MS detector (Agilent 5975C)
Carrier gas	He (1 mL/min)
Injection temperature	250°C
Oven temperature	60°C to 200°C (rate 10°C/min)
Injection Vol.	1 μL

water 1 mL를 가하여 voltex mixer로 2분간 추출한 후 상층액을 0.45 μm polyvinylidene fluoride filter (Whatman, Maidstone, Kent, England)로 거른 후 HPLC에 주입하여 분석하였다. 표준물질은 fructose, glucose와 sucrose를 사용하였다. Jasco사(Tokyo, Japan)의 HPLC system를 이용하였으며 column은 Prevail Carbohydrate ES (5 μm, 4.6×250 mm, Grace)을 사용하였고 Evaporative Light Scattering Detector (ELSD)를 이용하여 drift tube temperature 60°C, spray chamber temperature 30°C에서 측정하였다. Column temperature은 30°C이고, injection volume은 10 μL이었으며 flow rate는 1.0 mL/min이었다.

### 3) 지방산 함량 측정

시료 0.2 g을 정확히 취해 이형 플라스크에 넣고 0.5 N MeOH-NaOH 4 mL을 넣고 냉각관을 설치하여 30분간 반응시킨 후 trifluoride methanol (BF<sub>3</sub>) 5 mL 첨가하여 2분 후 냉각관을 통해 hexane 3 mL을 넣고 1분 후에 saturated salt solution을 첨가해 hexane 층을 플라스크에 옮겼다. 이에 과량의 무수 sodium sulfate를 넣고 hexane 층에 잔류하는 수분을 제거한 다음 여과하여 GC (7890A, Agilent, Santa Clara, CA USA) 분석시료로 사용하였다. GC 분석 조건은 다음과 같다(Table 1).

### 4) 수용성비타민 함량 측정

동결 건조된 미선나무 잎과 줄기분말 1 g에 4% metaphosphoric acid 10 mL를 가하고 4°C에서 2시간 동안 추출한 다음 10분 동안 9,000 × g에서 원

심분리기(Beckman, Pasadena, CA, USA)를 이용하여 고형분을 제거하였다. 원심분리된 상등액만을 모아 0.45 μm syringe filter 로 여과하여 실험에 사용하였다. 본 실험에서는 동결건조된 미선나무 잎과 줄기분말에 함유된 vitamin을 HPLC를 통하여 분석하고 정량하였다. Column은 Capcell Pak C18 column (4.6 mm × 250 mm I.D. 5 μm)을 사용하였고, 이동상은 두 가지 용매를 사용하였다. A 용매는 1.25 mM PIC B<sub>7</sub> (1-heptanesulfonic acid sodium salt) 를 첨가한 증류수에 1% acetic acid를 첨가했으며, B 용매는 methanol과 증류수의 비율이 60 : 40인 용액에 1.25 mM PIC B<sub>7</sub> 와 1 % acetic acid를 첨가하였다. A 용액은 0분-43분 까지 100%를 흘려 주었고, 44분부터는 A 용액을 0%로 3분 정도 흘려 준 뒤에 다시 처음상태로 복귀하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min 이었고, 시료주입량은 20 μL, column의 온도는 40°C로 사용하였으며 280 nm에서 분석하였다. 표준물질로 ascorbic acid, nicotinic acid, nicotinamide, pyridoxine, thiamin hydrochloride, riboflavine, folic acid (Sigma, St. Louis, USA)를 사용하여 정량하였다.

### 5) 무기질 함량 측정

미선나무 잎, 줄기 분말을 용해용액(HNO<sub>3</sub> : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 5 : 1(v/v)) 30 mL을 가한 다음 가열 판(100°C)에서 3시간 동안 용해시키고 1 mL로 농축시킨 후, 증류수를 가하여 100 mL로 정용하였다. 유도결합 플라즈마 방출 분광기(ICP-AES : Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer)을 이용하여 시료의 무기질 함량을 측정하였다.

### 6) 유기산 함량 측정

유기산 분석은 미선나무 잎, 줄기 분말 1 g을 3차 증류수로 25배 희석한 후 10분간 sonication하여 0.2 μm filter (Whatman, CA, USA)로 여과시켜 HPLC를 사용하여 분석하였다. 이때 분석조건은 Rezex ROA-organic acid (7.8×300 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) column, 이동상 0.005 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, flow rate 0.5 mL/min, UV detector 210 nm, 오븐온도 50°C이었으며, 표준 유기산은 citric, malic, oxalic, succinic acid (Sigma, St. Louis, USA)를 사용하였다.

## 7) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법<sup>14)</sup>에 따라 분석하였다. 동결 건조된 미선나무 잎과 줄기분말 1 g에 70% methanol 9 mL를 가한 후, 25°C에서 15 시간 동안 추출한 후 10분 동안 12,000 rpm에서 원심분리기(Beckman, Pasadena, CA, USA)를 이용하여 고형분을 제거하고 상등액만을 crude 시료로 사용하였다. crude 시료용액 1 mL을 시험관에 취하고 여기에 Folin-Ciocalteu reagent 0.1 mL을 가한 뒤 혼합하여 실온에 방치한 다음, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 0.2 mL을 가하여 혼합한다. 그 후에 증류수 2 mL을 가하여 희석하고 실온, 암조건에서 1시간 방치한 후 원심분리하여 상등액을 취하여 725 nm에서 uv spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 정량하였다. 정량을 위한 검량선은 caffeic acid 1 mg을 70% methanol 1 mL에 용해시켜 20, 30, 40, 50 µg/mL에 되도록 조제한 후 시료용액과 같은 방법으로 처리하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

## 8) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Nieva 등<sup>15)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다. 위와 같은 방법으로 추출한 crude 시료용액 0.5 mL을 시험관에 취하여 여기에 diethyl glycol 5 mL을 가하여 혼합한 후 1 N-NaOH 0.5 mL을 가한 후 37°C 수조에서 1시간 방치시킨다. 그 후에 420 nm에서 uv spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 정량하였다. 정량을 위한 검량선은 rutin 1 mg을 70% methanol 1 mL에 용해시켜 100, 200, 300, 400 µg/mL에 되도록 조제한 후 시료용액과 같은 방법으로 처리하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

## 9) 소핵시험

미선나무 재료에 대한 발암성 유발 유·무 판단의 기초 자료를 얻기 위하여 유전독성시험 중 ICR 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하였다. 약 8 주령의 수컷 마우스에 미선나무 시험물질을 2000 mg/kg, 1000 mg/kg, 500 mg/kg의 용량으로 경구투여하고, 투여 후 24시간에 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도와 세포독성을 평가하였다. 군 당 2000 개의 다염성 적혈구(pormochromatic erythrocyte; PCE)를 관찰하고, 이중 소핵 다염성 적혈구(PCE

with one or more micronuclei; MNPCE)의 출현빈도를 측정하였다. 결과의 판정은 PCE/(PCE+NCE) 비율(mean±SD, %)이 0.1 이상인 경우 시험이 타당한 것으로 하고 소핵 유발빈도(MNPCE/2000PCEs, mean±SD, %)가 통계학적으로 유의하며, 용량 의존적으로 증가하거나, 하나 이상의 용량에서 재현성 있는 양성반응을 나타낼 경우 양성으로 판정하였다. 본 실험과정은 한국건설생활환경시험연구원 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(승인번호 GT13-00440).

## 10) 단회투여독성 시험

미선나무 재료의 독성증상과 반수치사량(LD<sub>50</sub>, Lethal Dose 50)을 조사하기 위하여 Sprague-Dawley (SD) 계통 암·수 랫드를 이용하여 시험물질을 단회 경구투여 하였다. 대조군과 3개의 시험군(500, 1,000 및 2,000 mg/kg)으로 시험을 수행하였으며, 시험동물은 각 군에 암수 각 5마리를 사용하여, 밤새 절식시킨 후 실험하였다. 투여 후 14일간 매일 1회 일반증상 관찰을 실시하였으며, 투여 전, 투여 후 1, 4, 7 및 14일에 체중을 측정하였다. 투여 후 14일째에 부검을 실시하고, 대사와 관련된 장기를 적출하여 병리조직학적 검사를 실시하였다. 본 실험과정은 한국건설생활환경시험연구원 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다(승인번호 GT13-00436).

## 11) 통계

모든 시료의 분석은 3번 반복 수행되었고, mean±SD 값으로 표시하였다. 안전성 평가 시험의 경우 대조군에 대한 실험군 간의 통계적 유의성은 student's two-tailed t-test로 분석하였다.

## III. 결 과

## 1. 일반성분 함량

미선나무 잎과 줄기에 함유된 수분, 조회분, 조단백 및 조지방 등의 일반성분에 대한 분석 결과는 다음과 같다(Table 2). 잎에서는 수분 65.07%, 조회분 1.32%, 조단백 11.97%, 조지방 2.52%를 함유하였으며, 줄기에는 수분 40.97%, 조회분 0.91%, 조단백 3.77%, 그리고 0.36%의 조지방이 함유된 것으로 분석되었다.

**Table 2.** Proximate composition of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Proximate composition (%)			
	Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude fat
Leaves	65.07±0.02*	1.32±0.04	11.97±0.10	2.52±0.02
Stems	40.97±0.41	0.91±0.06	3.77±0.06	0.36±0.01

\*Values are expressed as Mean±SD

**Table 3.** Contents of sugars in *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Contents of sugars (mg/g)	
	Fructose	Glucose
Leaves	32.13±0.81*	56.17±3.44
Stems	11.38±0.19	10.59±0.03

\*Values are expressed as Mean±SD

**Table 4.** Contents of fatty acid in *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Fatty acid (%)	
	Leaves	stems
Myristic acid (C14:0)	1.75	ND*
Palmitic acid (C16:0)	31.79	26.75
Stearic acid (C18:0)	14.79	8.27
Oleic acid (C18:1)	7.70	9.10
Linoleic acid (C18:2)	12.21	15.25
Linolenic acid (C18:3)	5.40	32.78
Arachidic acid (C20:0)	5.01	4.16
Behenic acid (C22:0)	12.24	3.70
Lignoceric acid (C24:0)	9.11	ND
SFA <sup>†</sup>	74.69	42.87
USFA <sup>‡</sup>	25.31	57.13

\*Not detected

<sup>†</sup>Saturated Fatty Acid

<sup>‡</sup>Unsaturated Fatty Acid

**2. 영양성분 함량**

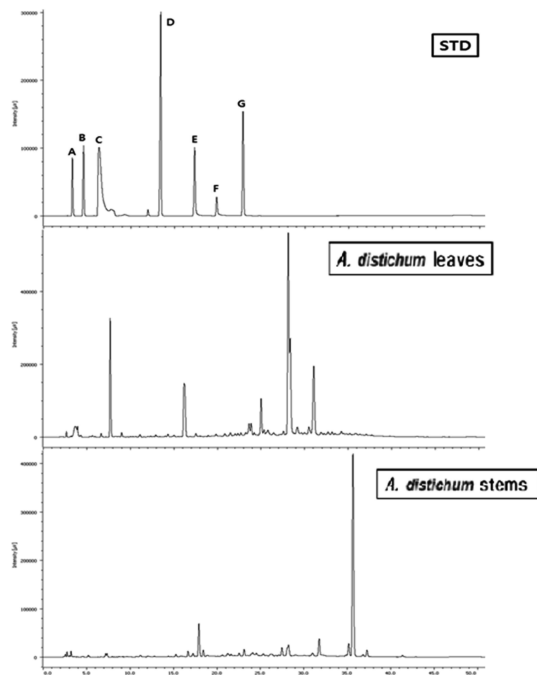
미선나무 잎과 줄기의 당 함량은 Table 3과 같다. 잎의 당 함량은 fructose 32.13%, glucose 56.17%이며, 줄기의 당 함량은 fructose 11.38%, glucose 10.59%를 나타내었다.

미선나무 잎과 줄기의 지방산 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 잎의 지방산 함량은 myristic acid 1.75%, palmitic acid 31.79%, stearic acid 14.79%,

**Table 5.** Contents of water-soluble vitamin in *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

Group	Identity	Leaves	stems
Vitamin (mg/g)	Ascorbic acid	1.32±0.01*	0.30±0.00
	Nicotinic acid	0.19±0.00	0.08±0.00
	Nicotinamide	0.08±0.00	0.06±0.00
	Thiamin	0.10±0.00	0.08±0.00
	Folic acid	0.16±0.01	0.10±0.00

\*Values are expressed as Mean±SD



A : Ascorbic acid (Vt C), B : Nicotinic acid, C : Nicotinamide, D : Pyridoxine (Vt B<sub>6</sub>), E : Thiamine (Vt B<sub>1</sub>), F : Folic acid, G : Riboflavine (Vt B<sub>2</sub>)

**Fig. 1.** The chromatography

oleic acid 7.70%, linoleic acid 12.21%, linolenic acid 5.40%, arachidic acid 5.01%, behenic acid 12.24%, lignoceric acid 9.11%로 palmitic acid의 함량이 제일 높았다. 줄기의 지방산 함량을 살펴보면 palmitic acid 26.75%, stearic acid 14.79%, oleic acid 9.10%, linoleic acid 15.25%, linolenic acid 32.78%, arachidic acid 4.16%, behenic acid 3.70%를 나타내었으며, myristic acid와 lignoceric acid는 검출되지 않았다.

미선나무 잎 및 줄기의 수용성비타민 함량과 크로

**Table 6.** Mineral contents of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

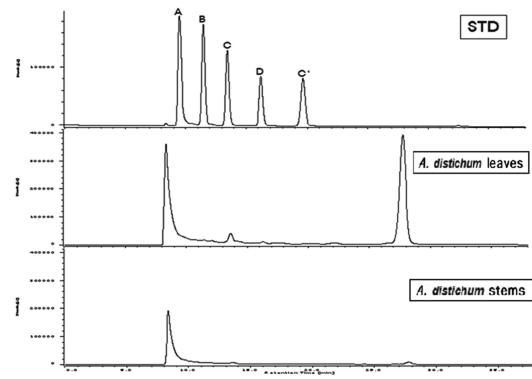
Items	<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai (mg/100 g)	
	Leaves	Stems
Ca	166.17	592.34
Fe	3.61	11.29
Na	1.59	1.30
Mg	37.72	131.83

**Table 7.** Contents of organic acids in *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Organic acid (mg/g)		
	Citric acid	Succinic acid	Malic acid
Leaves	0.39±0.00*	1.19±0.00	6.54±0.00
stems	ND†	0.28±0.01	0.80±0.00

\*Values are expressed as Mean±SD

†Not detected



A: Oxalic acid, B: Citric acid, C+D: Malic acid, E: Succinic acid

**Fig. 2.** Organic acid chromatography of *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems.

마토그램은 다음과 같다(Table 5, Fig. 1). 미선나무 잎의 수용성 비타민 함량은 ascorbic acid 1.32 mg/g, nicotinic acid 0.19 mg/g, nicotinamide 0.08 mg/g, thiamin 0.10 mg/g, folic acid 0.16 mg/g 이었다. 미선나무 줄기에서의 수용성 비타민 함량은 ascorbic acid 0.30 mg/g, nicotinic acid 0.08 mg/g, nicotinamide 0.06 mg/g, thiamin 0.08 mg/g, folic acid 0.10 mg/g 을 나타내었다.

미선나무 잎과 줄기에 함유된 무기질 함량은 Table 6과 같다. 잎에 들어있는 무기질 함량은 Ca 166.17 mg

**Table 8.** The Contents of total phenolic compounds and total flavonoids in *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves and stems

<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	Leaves	Stem
Total phenolic compounds (mg/g)	50.64±0.16*	13.53±0.22
Total flavonoids (mg/g)	96.47±0.15	18.53±0.82

\*Values are expressed as Mean±SD

/100 g, Fe 3.61 mg/100g, Na 1.59 mg/100 g, Mg 37.72 mg/100g이 검출되었다. 줄기에 함유된 무기질 함량은 Ca 592.34 mg/100g, Fe 11.29 mg/100g, Na 1.30 mg/100 g, Mg 131.83 mg/100 g를 나타내었다.

미선나무 잎과 줄기의 유기산 함량을 분석한 결과와 크로마토그램은 다음과 같다(Table 7, Fig. 2). 잎의 유기산 함량은 citric acid 0.39 mg/g, succinic acid 1.19 mg/g, malic acid 6.54 mg/g를 나타내었다. 줄기에 함유된 유기산 함량은 succinic acid 0.28 mg/g, malic acid 0.80 mg/g 이었으며, citric acid는 검출되지 않았다.

### 3. 기능성성분 함량

미선나무 잎과 줄기에 함유된 총 페놀과 플라보노이드 함량은 Table 8과 같다. 잎에는 50.64 mg/g, 줄기에는 13.53 mg/g이 함유되어 잎의 총 페놀 함량이 줄기의 함량보다 약 3배 이상 높았다. 미선나무 부위별 플라보노이드 함량을 측정된 결과 잎에서는 96.47 mg/g, 줄기에서는 18.53 mg/g을 나타내었다

### 4. 안전성 평가

미선나무의 소핵시험 결과, 용매대조군과 비교하여 500, 1,000, 2,000 mg/kg의 투여군에서 특이한 일반증상은 관찰되지 않았으며, 개체 당 약 2000개의 다염성 적혈구에서 관찰한 소핵 유발빈도는 모든 시험물질투여군 용매대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 결과를 보이지 않았다(Table 9). mitomycin C를 처리한 양성대조군은 소핵 유발빈도에서 용매대조군에 비해 통계적으로 유의하며 현저한 증가를 보였다( $P<0.05$ ). 세포독성의 지표인 PCE/(PCE+NCE)

**Table 9.** Micronucleus test of *Abeliophyllum distichum* Nakai in male ICR mice

Groups	Dose (mg/kg)	MNPCE/2000 PCEs (%)	PCE/ (PCE+NCE)
Vehicle control	0	0.25±0.10	0.42±0.11
<i>Abeliophyllum distichum</i> Nakai	500	0.28±0.09	0.43±0.06
	1,000	0.25±0.11	0.52±0.06
	2,000	0.29±0.16	0.55±0.04
MMC	2.0	9.49±1.40*	0.43±0.06

\* Significantly different from the control at  $P < 0.05$  (One-way ANOVA, SPSS 12.0 k)  
MNPCE; PCE with one or more micronuclei, PCE; polychromatic erythrocyte, NCE; normochromatic erythrocyte, MMC; mitomycin C

비율도 실험에 적용한 모든 미선나무 투여군에서 멸균증류수를 사용한 음성대조군에 비하여 유의한 감소가 나타나지 않았다. mitomycin C를 처리한 양성대조군은 용매대조군과 비교하여 뚜렷한 골수세포의 증식억제는 나타나지 않았다.

미선나무의 단회 투여 독성 및 개략적인 치사량의 분석 결과, 실험기간 동안 시험물질에 의한 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다. 체중증정결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 시험기간 통계학적으로 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다(Table 10). 실험종료 시 모든 생존동물의 부검결과, 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아 본 시험조건에서 시험물질 미선나무주정추출물의 반수치사량(LD<sub>50</sub>, Lethal Dose 50)은 2,000 mg/kg 이상인 것으로 사료된다.

#### IV. 고 찰

미선나무 잎의 수분 함량은 65.07%로 줄기의 함량(40.97%)보다 많았다. 이는 약용식물인 산초(75.0%), 초피(66.1%), 헛개나무(72.5%) 및 생귀열나무(67.5%) 등의 잎에 함유되어 있는 수분 함량과 비슷한 수준이었다.<sup>16-18)</sup> 미선나무 잎에 들어있는 조회분, 조단백, 조지방의 함량 또한 줄기보다 높았으며, 잎에 함유된 조단백은 11.7%로 다른 성분들의 함량보다 높았다. 뜰보리수,<sup>19)</sup> 헛개나무,<sup>17)</sup> 밤나무<sup>20)</sup> 잎의 조회분, 조단백질, 조지방을 분석한 결과는 각각 2.5, 11.5, 1.8%, 1.4, 4.5, 3.5%, 0.4, 12.0, 7.5%로 보고되었다. 위의 연구와 본 실험을 비교했을 때, 미선나무 잎에 함유된 조단백은 다른 약용식물에 비해 높은 반면, 조회분 및 조지방은 비슷하거나 대체적으로 낮은 경향을 보였다. Lee 등<sup>21)</sup>은 싸리나무 줄기에서 조회분 0.86%, 조단백질 2.80%, 조지방 0.61%의 함량을 나타내었다고 보고하였는데, 미선나무 줄기에서의 함유된 함량도 조회분 0.91%, 조단백질 3.77%, 조지방 0.36%로 이와 비슷한 결과를 나타내었다.

미선나무 잎과 줄기의 당 함량을 분석한 결과 fructose는 잎에 32.13 mg/g이 함유되어 줄기(11.38 mg/g)보다 3배 정도 높았으며, glucose의 함량은 잎과 줄기 각각 56.17 mg/g, 10.59 mg/g으로 줄기보다 잎의 함량이 많았다. Lee 등<sup>22)</sup>에 의하면 올리브 잎의 주요 당은 sucrose (1.55%)이었고, 월계수 잎에는 glucose (1.54%)와 fructose (0.99%)가 주요 당이었다는 결과를 보고하였다. Hur 등<sup>23)</sup>은 환삼덩굴 잎과 줄기 당류 분석에서 glucose는 검출되지 않았지

**Table 10.** Body weight changes of rats orally fed one time with *Abeliophyllum distichum* Nakai

Sex	Dose (mg/kg)	0 day	1 day	7 day	14 day
Male	0	241.91±7.57*)	268.07±5.63	318.25±7.93	361.06±10.25
	500	242.10±6.35	271.24±6.13	324.39±4.13	371.92±10.38
	1,000	242.52±3.57	271.24±6.66	329.37±10.95	383.24±18.19
	2,000	242.39±5.68	273.02±5.53	326.16±12.10	373.19±22.21
Female	0	193.39±4.26	209.46±9.78	235.01±11.24	253.82±17.37
	500	196.65±4.51	212.79±3.21	231.61±8.26	249.88±11.47
	1,000	197.49±3.13	216.54±3.68	235.24±7.49	257.52±5.85
	2,000	198.57±4.52	216.67±6.12	238.76±8.61	255.01±7.02

\*) Values are expressed as mean±SD.(n=5)

만 fructose 함량이 가장 높고, sucrose 및 maltose 등의 순으로 함유되었다고 보고하였다. 이들 결과와 미선나무 결과는 다른 경향을 보였으며, 당의 종류 및 함량은 식물의 종에 따라 차이가 많이 나는 것으로 사료된다.

미선나무의 지방산 함량을 살펴보면, 잎에서는 palmitic acid (31.79%), stearic acid, behenic acid, linoleic acid 순으로, 줄기에서는 linolenic acid (32.78%), palmitic acid, linoleic acid의 순으로 함유되었다. 환삼덩굴 잎과 줄기의 지방산 조성 결과,<sup>23)</sup> linoleic acid, palmitic acid 순이었고, 한국산 들깨잎의 지방산 조성을 분석한 결과<sup>24)</sup> 녹색잎과 자색잎에서 linoleic acid가 가장 많았고, palmitic acid, linolenic acid 순으로 함유량이 들어 있어 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

미선나무의 수용성 비타민 함량을 분석한 결과 잎과 줄기 모두에서 ascorbic acid가 제일 많았고, 줄기에 비해 잎의 ascorbic acid 함량이 4.4배 더 높았다. 유기체 내의 대표적인 항산화물질인 ascorbic acid (비타민 C)는 비타민 E와 함께 유리된 라디칼을 효과적으로 소거하는 물질이다.<sup>25)</sup> 녹차, 우롱차, 및 홍차의 ascorbic acid 함량이 각각 1.02 mg/g, 0.99 mg/g, 및 1.08 mg/g 이었다는 연구<sup>26)</sup>와 꾸지뽕나무 잎에 함유된 ascorbic acid 함량이 작은 잎 0.10 mg/g, 중간 잎 0.37 mg/g, 큰 잎 0.43 mg/g에 함유된 연구 결과<sup>27)</sup>를 본 실험과 비교하였을 때 미선나무 잎의 ascorbic acid (1.32 mg/g) 함량이 더 높다는 결과를 보였다. 따라서 항산화 영양소인 비타민 C를 다량 함유한 미선나무 잎은 향후 건강차 개발에 유용한 소재가 될 수 있을 것으로 기대된다.

미선나무의 무기질 조성을 보면 잎과 줄기 모두에서 Ca, Mg, Fe, Na 순으로 높았으며, 미선나무 줄기의 Ca과 Mg은 592.34 mg/100 g, 131.83이었고, 잎에서는 각각 166.17, 37.72 mg/100 g 함량을 나타내었다. 싸리나무 줄기의 무기질을 분석한 Lee 등<sup>21)</sup>은 Ca, K, Zn, Mg, Mn, Na 등의 순으로 높은 함량을 보고하였고, 헛개나무의 연구<sup>17)</sup>에서는 잎, 줄기 모두에서 K, Ca, Mg, Na의 순으로 높은 함량을 보였다. 미선나무 잎과 줄기에는 Ca 함량이 제일 높았고, 줄기의 함량이 3배 정도 더 높았는데 이는 싸리나무 줄기의 결과와 유사하였으나 헛개나무의 결과와는 다른 경향을 보였다.

유기산은 대체적으로 잎에 많이 함유되어 있었으며, 잎에서는 malic acid가 6.54(mg/g)로 가장 높게 나타났으며 succinic acid, citric acid 순이었다. 반면 줄기에서는 malic acid (0.80 mg/g), succinic acid 순이었으며 citric acid는 검출되지 않았다. Park 등<sup>28)</sup>의 돌산 갯 잎 및 줄기 유기산 함량을 측정한 결과 malic acid의 함량이 7.90 mg/g으로 가장 높았고, 들보리수 잎의 주요 유기산은 malic acid (1.11 mg/g)가 가장 높았고, acetic acid, citric acid, lactic acid, succinic acid 순의 결과를 보였다.<sup>19)</sup> 산초와 초피 잎의 유기산은 malic acid 및 citric acid 두 종류만이 동정되었으며,<sup>16)</sup> 헛개나무 잎에는 malic acid, malonic acid, citric acid가 주요 유기산으로 보고되었다.<sup>17)</sup> 위의 결과들은 미선나무에 함유된 유기산 조성과의 유사한 경향을 보였으며, 국내에서 자생하는 약용식물의 잎에 함유된 유기산 중에서 malic acid가 주요 유기산임을 알 수 있었으나 그 조성의 함량은 식물의 종류에 따라 다소 차이가 있는 것으로 나타났다.

자연에서 얻을 수 있는 대부분의 항산화 물질은 phenolic 및 flavonoid 계통의 화합물로 알려져 있으며,<sup>12)</sup> 페놀성 화합물은 나무, 줄기, 잎, 열매, 뿌리, 꽃, 씨앗 등의 모든 부분에 존재하며, 이들 성분은 유리 라디칼의 생성을 지연시키거나 활성을 저해하는 항산화물질로,<sup>29-31)</sup> 생체 내에서 심장관련 질병, 뇌혈관 질병과 암을 억제 시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>32)</sup> 미선나무의 총 페놀 함량 분석 결과 잎의 함량(50.64 mg/g)이 줄기의 함량(13.53 mg/g)보다 약 3.7배 이상 높았다. 가죽나무의 부위별 총 페놀 함량은 잎, 뿌리, 줄기 순으로 잎의 총 페놀 함량은 82.1 mg/g으로 뿌리와 줄기보다 2-4배 높았다는 결과<sup>33)</sup>를 나타냈는데, 본 실험은 이와 유사한 경향을 보였다. 따라서 미선나무 잎은 줄기에 비해 더 높은 항산화 활성을 가질 것으로 기대된다.

미선나무의 플라보노이드 함량을 측정한 결과 잎에는 96.47 mg/g으로 줄기(18.53 mg/g)보다 5배 정도 높았다. 봄부터 가을까지 시기별로 개나리 잎에 함유하는 플라보노이드의 양을 분석한 결과<sup>34)</sup>에 따르면, 개나리 잎은 27.9-159.5 mg/g의 플라보노이드 함량을 나타내었고, DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) 라디칼 활성 소거능과 높은 상관관계를 보여 항산화 능력이 큰 것으로 보고되었다. 개나리는 미선나무처럼 이른 봄에 꽃이 피고 늘어진 줄기 형태가 유사



한 물푸레나무과에 속하기 때문에, 미선나무 또한 개나리와 비슷한 성질을 가진 것으로 사료된다. Lee의 연구<sup>33)</sup>에 의하면 가죽나무 줄기와 잎에는 각각 0.67 mg/g와 25.02 mg/g의 플라보노이드 함량을 나타냈으며, Kim 등<sup>35)</sup>의 자생식물과 약용식물의 총 플라보노이드 함량 연구에 따르면, 비수리가 90.15 mg/g로 가장 높았고, 다음으로 비쭉(77.65 mg/g), 귀리(71.60 mg/g), 각시동글레(65.56 mg/g), 개구리밥(63.27 mg/g)의 순이었다. 이상의 결과로 보아 미선나무 잎의 총 플라보노이드 함량(96.47 mg/g)은 계절에 따른 개나리의 최고 플라보노이드 함량보다는 낮았지만 다른 연구결과에 비하여 높은 것을 알 수 있었다.

유전독성 여부를 검사하는 연구 방법 중 소핵(micronucleus)시험은 시험물질을 마우스에 경구 투여하고, 24시간 후 골수를 채취하여 소핵 유발 유무를 관찰하는 *in vivo* 독성실험법의 하나이다. 소핵의 생성은 마우스 골수 내에서 erythroblast가 최종 분열 한 후 탈핵 과정을 거쳐 미성숙 적혈구인 다염성 적혈구가 되고, 이 다염성 적혈구는 약 10시간 후 성숙 적혈구가 되어 혈관으로 가게 되는데, 핵이 있는 적혈구 상태에서 시험물질이 돌연변이를 유발하는 특성이 있다면 염색체가 깨어져 더 이상 분화하지 못하고 파편으로 남아 다염성 적혈구 내에 있게 된다.<sup>36)</sup> 따라서 소핵이 많이 관찰될수록 돌연변이 물질의 영향을 많이 받았음을 알 수 있다. 소핵시험의 결과를 종합하여 볼 때 시험물질은 식품의약품안전청 고시 제 2005-60의 의약품 등의 독성시험기준에 명시된 마우스 최대 투여용량인 2,000 mg/kg/day의 범위에서 마우스 골수세포에 소핵을 유발하는 유전독성 효과는 없는 결과를 보였다.<sup>37)</sup> 단회 투여 후 14일까지의 체중 변화를 관찰한 결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 체중 변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아 본 시험조건에서 시험물질의 반수치사량(LD<sub>50</sub>, Lethal Dose 50)은 2,000 mg/kg 이상으로 판단되었다.

## V. 결 론

본 연구는 자생지 지역 민간에서 식용과 약용으로 이용되고 있으며, 인공 증식의 성공으로 활발한 연구가 가능해진 미선나무(*Abeliophyllum distichum*

Nakai)를 대상으로 영양성분 및 생리활성 물질 등 화학성분을 분석하여 식품 개발을 위한 기초 연구의 자료를 마련하고자 실시되었다. 일반성분 및 영양성분 분석 결과 조희분, 조단백, 조지방 함량, fructose, glucose 등 당의 함량 및 ascorbic acid함량은 미선나무 줄기보다는 잎에서 더 높았다. 미선나무의 지방산 함량을 살펴보면, 잎에서는 palmitic acid, stearic acid, behenic acid, linoleic acid 순으로, 줄기에서는 linolenic acid, palmitic acid, linoleic acid의 순으로 함유 되었다. 무기질 함량을 분석한 결과, Ca의 함량이 잎 및 줄기에 모두 높았으나 잎보다 줄기에 더 많이 함유되었으며, Mg도 줄기에 더 많이 함유되었다. 유기산은 malic acid, succinic acid, citric acid의 함량 순으로 높았고, 줄기보다 잎의 함량이 더 높았다. 생리활성을 나타내는 물질로 알려져 있는 총 페놀 화합물과 플라보노이드의 함량도 각각 미선나무 잎이 줄기보다 약 3.7~5배 정도 높았다. 소핵시험은 식품의약품안전청 고시 제 2005-60의 의약품 등의 독성시험기준에 명시된 마우스 최대 투여용량인 2,000 mg/kg/day의 범위에서 마우스 골수세포에 소핵을 유발하는 유전독성 효과는 없는 결과를 보였다. 단회투여 독성시험은 모든 시험군에서 시험물질에 의한 체중 변화는 관찰되지 않은 결과로 보아 본 시험조건에서 시험물질의 반수치사량(LD<sub>50</sub>, Lethal Dose 50)은 2,000 mg/kg 이상으로 판단되었다. 이상의 결과로 보아 미선나무 잎에는 줄기보다 영양성분과 생리활성 성분을 다량 함유하고 있으며, 다양한 기능성 식품 및 의약품 등의 소재로써 활용 가능성 매우 높은 것으로 사료된다.

## References

1. Lee TB. Edemic plants and their distribution in Korea. *Bulletin of the Arboretum Seoul National University*. 1983; 4: 71-113.
2. Kim EJ, Choi JW, Yu MR, Kim MY, Lee SG, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor J Food Sci Technol*. 2012; 44(3): 337-342.
3. Lee TB. Conservation of threatened plants in Korea. *Bulletin of the Arboretum Seoul National University*. 1980; 3: 190-196.
4. Kim YS. Morphological and ecological characteris-

- tics of *Abeliophyllum destichem* Nakai populations in Korea. *J Resource Development*. 1998; 17(1): 67-81.
5. Jin YH, You JH, Cho HW, Lee CH. Flower color morphological characteristics of *Abeliophyllum* spp. *Kor Flower Res Soc*. 2005; 13(2): 83-89.
  6. Lee WT, Kil BS. The investigation on natural growth region of *Abeliophyllum distichum* Nakai. *Kor J Plant Tax*. 1991; 21(1): 1-8.
  7. Lim DO, Hwang IC, Choi HW, Kim YS. Characteristics and management proposal of *Abeliophyllum distichum* subpopulation in the Byeonsanbando national park. *Kor J Environ Ecol*. 2009; 23(2): 116-126.
  8. Park CM, Park SH, Oh HK, Soh MS. Characteristics and management Method of *Abeliophyllum distichum* new habitats in the Byeonsanbando. *J Agric Life Sci*. 2010; 41(2): 58-66.
  9. Lee HY, Kim TG, Oh CH. Recently Augmented natural habitat of *Abeliophyllum distichum* Nakai in Yeosu-si, Gyunggi-do, Korea. *Kor J Environ Ecol*. 2014; 28(1): 62-70.
  10. Yoo YK, Kim KS. Effects of plant growth regulators and cutting conditions on rooting of softwood and semihardwood cutting in white forsythia. *J Kor Soc Hort Sci*. 1997; 38(3): 263-271.
  11. Yoo YK, Kim KS. Germination inhibitors in the seed coat of white forsythia (*Abeliophyllum destichum* Nakai). *J Kor Soc Hort Sci*. 2001; 42(1): 6-10.
  12. Park JH. Antioxidant activities and inhibitory effect on oxidative DNA damage of extracts from *Abeliophyllum distichum* folium. *Kor J Herbology*. 2011; 26(4): 95-99.
  13. AOAC. Official methods of analysis, 16th ed. Washington: Association of official analytical chemists Press; 2000. p.17-24.
  14. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidative activity. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 3010-3014.
  15. Nieva MMI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol*. 2000; 71(1-2): 109-114.
  16. Kim J, Jeong CH, Bae YI, Shim KH. Chemical components of *Zanthoxylum schinifolium* and *Zanthoxylum piperitum* leaves. *Kor J Postharvest Sci Technol*. 2000; 7(2): 189-194.
  17. Jeong CH, Shim KH. Chemical components in leaf and Fruit stalk of *Hovenia dulcis* Thunb. *Kor J Postharvest Sci Technol*. 1999; 6(4): 469-471.
  18. Kim JB, Cui CB, Lee DS, Ham SS. Ham SS. Studies on the composition and antioxidative effect of leaves from Korean *Rosa davurica* Pall. *Kor J Food Preserv*. 2004; 1(1): 106-110.
  19. Yoon KY, Hong JY, Shin SR. Analysis on the components of the *Elaeagnus multiflora* Thunb. leaves. *Kor J Food Preserv*. 2007; 14(6): 639-644.
  20. Jeong CH, Hur JY, Shim KH. Chemical components, antioxidative and antimicrobial activities of chestnut (*Castanea crenata*) leaves. *Kor J Food Preserv*. 2002; 9(1): 234-239.
  21. Lee YS, Joo EY, Kim NW. Analysis on the components in stem of the *Lespedeza bicolor*. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2005; 34(8): 1264-1250.
  22. Lee OH, Lee HB, Lee JS, Son JY, Rhee SK, Kim HD, et al. Chemical properties of olive and bay leaves. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2005; 34(4): 503-508.
  23. Hur CH, Jeong Ch, Shim KH. Chemical components of *Humulus Japonicus* leaves and stalks. *J Agric Life Sci*. 2003; 37(1): 1-7.
  24. Shin KK, Yang CB, Park H. Studies on lipid and fatty acid composition of Korean Perilla leaves (*Penilla frutescens* var. japonica HARA). *Kor J Food Sci Technol*. 1992; 24(6): 610-615.
  25. Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr*. 1992; 12: 139-159.
  26. Lee YJ, Ahn MS, Hong KH. A study on the content of general compounds, amino acid, vitamins, catechins, alkaloids in green, oolong and black tea. *J Food Hygiene Safety*. 1998; 13(4): 377-382.
  27. Lee JS, Han GC, Han GP, Nobuyuki K. The antioxidant activity and total polyphenol content of *Cudrania tricuspidata*. *J East Asian Soc Dietary Life*. 2007; 17(5): 696-702.
  28. Park SK, Cho YS, Park JR, Chun SS, Moon JS. Non-volatile organic acids, mineral, fatty acids and fiber compositions in dolsan leaf mustard (*Brassica juncea*). *J Kor Soc Food Nutr*. 1993; 22(1): 53-57.
  29. Wang Q, Kuang H, Su Yang, Sun Y, Feng J, Guo R, et al. Naturally derived anti-inflammatory compounds from Chinese medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2013; 146(1): 9-39.
  30. Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rogen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard extracts. *Food Chem*. 2004; 85(1): 19-26.
  31. Elzaawely AA, Xuan TD, Koyama H, Tawata S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *A. zerumbet* (Pers.). *Food Chem*. 2007; 104(4): 1648-

- 1653.
32. Hertog M, Feskens E, Kromhout D. Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. *Lancet*. 1997; 349(9053): 699-705
33. Lee YS. Analysis of components in the different parts of *Ailanthus altissima*. *Kor J Food Preserv*. 2008; 159(2): 261-268.
34. Tian S, Wang Y, Nakamura k. Correlation of polyphenolics content to antioxidant activity of *Forsythia Suspensa* leaves. In: Shinshu University International Symposium. Matsumoto: Shinshu University Press; 2010. p.79-84.
35. Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. Total Polyphenols, Total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor J Food Sci Technol*. 2012; 44(3): 337-342.
36. Hong SG, Chung SG, Hyun SH. The micronucleus test of the diglyceride preparation with conjugated linoleic acid by using mice. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2008; 37: 853-857
37. Kim SJ, Cho HW, Rim KT, Maeng SH, Kim HY. Bacterial reverse mutation test of 1,2,4-trimethylbenzene. *J Environ Toxicol*. 2006; 21: 317-322.