

작약근의 오관평가와 관련된 성분 검정

정명근[†]

삼척대학교 생약자원개발학과

Analysis of Constituents Related to Five Sensory Test in Peony Root

Myoung-Gun Choung[†]

Department of Pharmacognosy Material Development, Samcheok National University,
San 253 Gyodong, Samcheok 245-711, Korea

ABSTRACT : Experiment was conducted to establish the standard of quality evaluation in Korean cultivated peony roots. Free sugars, free amino acids, organic acids and aromatic components, which were generally considered to be information components of five sensory test in peony roots, were examined. As free sugars, sucrose, glucose and fructose were identified in peony roots. γ -aminoisobutyric acid, arginine and other 16 kinds of free amino acids were found in peony roots. The major organic acids of peony roots were oxalic acid, citric acid and malic acid. Eugenol and other 10 aromatic components were identified in peony roots by GC/MSD.

Keywords: peony root, five sensory test, free sugars, free amino acids, organic acids, aromatic components

작약(*Paeonia lactiflora* Pall.)은 미나리아재비과(Ranunculaceae), 작약屬(*Paeonia*)에 속하는 약용작물이며, 작약속 식물은 초본과 목본으로 구분되고, 대부분이 초본에 속한다(Choung *et al.*, 1999). *Paeonia*란 이름은 그리스 신화에 나오는 Paenon으로부터 유래되었으며, 식물의 기원을 중국으로 하여 스페인, 북아프리카~시베리아, 남부~중부 유럽, 북~남아메리카에 분포되어 있다(Choung, 1996).

국내에서 작약은 천궁, 황기, 지황, 당귀와 더불어 5대 기본 한방 약재 중 하나로 첩약 및 생화탕, 시물탕, 당귀작약산, 계지가작약탕, 작약감초탕, 우황청심환, 소청룡탕 등과 같은 생약제제의 원료로 이용성이 높은 작물이다. 또한 꽃이 아름다워 화훼용으로 이용되며, 한약재로 이용되는 작약은 3년근 이상의 성숙한 뿌리를 수확하여 적절한 수치 및 건조과정을 거쳐 생약재 작약으로 가공 된다(Choung, 1996).

작약의 국내 재배규모 및 생산량은 2000년 기준 225 ha 및 1,135 M/T으로서 90년대 후반부터 재배규모 및 생산량이 계속

감소된 양상을 보이지만, 국내 수요량이 1,000 M/T 이상 계속 유지되는 약용작물이기도 하다.

최근 작약근으로 처방된 생약제제의 추출물이 Alzheimer's disease의 치료에 도움을 주는 중추신경계의 기능장애로부터 유도된 인지력의 손상을 감소시키는 효과 및 HIV(Human Immunodeficient Virus)의 생육을 억제하는 효과가 보고된 바 있다(Kobayashi *et al.*, 1990; Hatakeyama *et al.*, 1994).

현재까지 국내·외에서 활성성분의 함량을 토대로 한 양질의 작약 평가기준에 관한 많은 연구가 수행된 바 있다. 그러나 실제 국내 대규모의 약령시장 및 생약 도매시장에서는 약리성분의 함량과는 무관하게 외형적 특성 및 오관검사의 기준을 적용하여 품질을 평가하고 있으며, 그 기준으로는 외면 및 절단면의 색, 작약 특유의 특이한 냄새, 처음과 끝 맛 등에 의해 작약근의 품질이 평가되고 있다.

따라서 본 연구는 한국산 재배작약의 품질평가 기준 확립을 위한 연구의 일환으로 작약근의 오관검사 기준인 냄새, 맛, 색택에 관여하는 성분을 정성·정량적으로 분석하여 생약재 작약에도 KGMP 개념을 바탕으로 한 원료의 품질평가 기준 확립에 대한 기초 자료를 제공하고자 본 연구를 수행 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 이용된 작약은 경북농업기술원 의성 신물질연구소 작약 재배포에서 재배된 3년생 의성작약을 분양 받아 실험의 재료로 이용하였다. 수확된 작약의 생근 중 굵기가 13~17 mm 정도의 균일한 뿌리들을 선별하여 수세하고, 거피하여 상온에서 약 30일 동안 음건하여 약재 외형의 껍질이 완전하게 껴있는 상태로 건조하였다. 건조된 작약근은 분쇄기로 분쇄한 후 60 mesh 체를 통과하는 분말로 가공하여 분석시료로 사용하였다.

[†]Corresponding author: (Phone) +82-33-570-6491 (E-mail) cmg7004@samcheok.ac.kr

유리당 분석

작약근 분쇄 시료 10 g에 100 mL의 80% 에탄올을 첨가하고 85°C 환류장치를 이용하여 3시간 환류 추출하였다. 추출된 용액은 TOYO 5B filter paper로 1차 여과하였으며, 60°C 조건인 감압농축기에서 완전하게 건조시켰다. 건조된 농축물에 10 mL의 초순수 증류수를 첨가하여 녹이고, 0.45 µm의 membrane filter (Altech, Nylon 66)를 이용하여 2차 여과하였다. 2차 여과된 용액은 ion-exchange column인 양이온 교환용 IR-118H와 음이온 교환용 IRA-400을 순차적으로 통과시킨 후 감압농축기에서 완전하게 건조 하였다. 건조된 시료는 다시 80% 에탄올 10 mL에 녹인 후 0.45 µm의 membrane filter (Altech, Nylon 66)로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 분석 column은 Water사의 Sugar pak (300×6.5 mm) 컬럼을 사용하였고, 검출기는 굴절율검출기(RID-6A, Shimadzu)를 사용하였다. 시료 주입량은 20 µL였으며, 이동상은 초순수 증류수를 사용하여 유속 0.6 mL/min., 컬럼온도를 90°C로, 감도는 8×10^{-6} RIV로 제한하여 분석을 실시하였다. 각 당류의 표준품은 Sigma (USA)제품을 이용하여 농도별 피크면적을 기준으로 검량식을 작성하였고, 분석시료의 상대적 농도를 평가하였다.

유리아미노산 분석

유리아미노산 분석은 유리당의 전처리 과정에서 이용되었던 ion-exchange 양이온 교환용 IR-118H에 흡착되어 있던 아미노산을 5% 암모니아수 100 mL로 흘러내려 감압농축기(60°C)로 감압·농축하였다. 농축된 시료에 0.2 M sodium citrate buffer pH 2.2 (Pharmacia)용액 10 mL를 첨가하고, membrane filter (Altech, Nylon 66)로 여과시킨 후 Amino Acid Analyzer (Pharmacia Bio chrom 20)로 분석하였다. 분석컬럼은 sodium phase, LKB high resolution PEEK column (Pharmacia, 250×4.6 mm)을 이용하였고, 유속은 buffer: 20 mL/hr., ninhydrin: 20 mL/hr.로 조절하였다. 시료 주입량은 20 µL였으며, 분석파장은 channel A: 570 nm, channel B: 440 nm로 두 파장에서 분석하였다. 분석 chromatogram의 수집은 AAA computer programer (Pharmacia)를 이용하여 분석하였고, 아미노산 표준품은 physiological fluid calibration standard (Pharmacia)를 사용하였다.

유기산 분석

유기산 분석은 유리당의 전처리 과정에서 이용되었던 음이온 교환용 IRA-400에 흡착되어 있는 유기산을 6N-formic acid 100 mL로 용출시켜 감압농축기(60°C)로 건조 시켰으며, 건조된 시료는 HPLC용 증류수 10 mL에 완전하게 용해 시켰다. 용해된 시료는 0.2 µm membrane filter (Altech, Nylon 66)로 여과한 후 HPLC로 분석하였다. 분석컬럼은 SUPELCOGEL-610H ion exchange column (SUPELCO, 300×7.8 mm)였

며, UV 검출기 210 nm에서 0.1% 인산 용액을 이동상으로 하여, 유속 0.5 mL/min., 컬럼온도 30°C 조건에서 20 µL를 주입하여 분석하였다. 유기산 표준품은 일본 순정화학주식회사의 제품을 사용하였다.

향기성분 분석

향기성분 분석은 작약근 분말시료 30 g을 평량하여 사용하였다. 연속 수증기 정유포집장치를 이용하여 한쪽에는 30 g의 작약시료와 200 mL의 증류수를 100°C water bath에서 끓여 정유성분을 휘발시키고, 다른 쪽은 isoprophyl alcohol과 ether를 1:3의 비율로 섞은 포집용액을 40°C water bath에서 끓여 휘발되는 정유성분을 2시간 동안 포집하였다. 포집된 isoprophyl alcohol-ether 용액은 질소가스를 이용하여 정확히 1 mL가 되게 농축하였으며, GC (HP-5890 series II) 및 GC/MSD (HP-5971 mass selective detector)를 이용하여 추출된 향기성분을 분석하였다. 분석용 GC 컬럼은 HP-5 capillary column (0.25 mm×50 m)을 이용하였고, 컬럼온도는 50°C에서 5분간 유지하고, 3°C/min. 승온하여 100°C까지, 0.5°C/min. 승온하여 115°C까지, 4°C/min. 승온하여 235°C (10분간 유지)로 programing하였다. 주입부 및 검출기(FID) 온도는 250°C로 유지하였고, split ratio를 1:50의 비율로 조절하였다. mass spectrum 분석은 NBS 75K 및 WILEY 138 Library를 이용하여 분자량 및 조개집 현상을 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

유리당 분석

작약근의 외관검사 기준 항목 중 맛이 관여되는 부분을 살펴보면 첫맛은 달며 끝맛은 신맛을 나타내는 것으로 표현된다. 따라서 작약근의 맛에 관여하는 성분 중 첫맛인 단맛에 관여하는 성분을 검정하기 위해 3년생 의성작약을 거피하여 상온에서 음건한 후 유리당을 HPLC로 분석 하였다(Fig. 1), 당 표준품을 이용하여 작약근 분석시료와 머무름시간을 비교한 결과 작약근에 함유된 유리당 성분은 sucrose, glucose 및 fructose임을 확인할 수 있고, 작약근에 함유된 유리당 중 sucrose가 전체의 91%를 차지하며, 작약근의 첫맛인 단맛을 내는 성분은 유리당으로 존재하는 건물중 대비 14% 수준의 sucrose인 것으로 판단된다(Table 1).

인삼의 경우 건삼 및 수삼의 유리당을 조사한 결과 sucrose, glucose 및 fructose로 구성되어 있다고 보고 되고 있어, 유리당의 조성면에서 작약과 완전하게 일치하는 양상을 나타내며, sucrose가 가장 많이 존재하는 결과도 일치하였다(고 등, 1994).

작약의 당류에 관한 연구는 대부분이 배당체인 monoterpene glucoside에 초점을 맞추어 왔으므로 유리상태로 존재하는 당

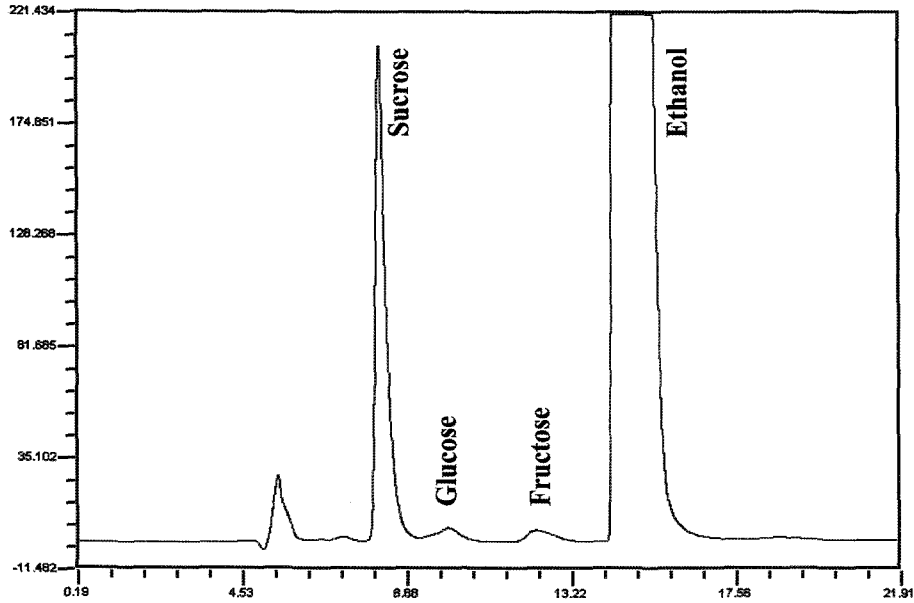


Fig. 1. HPLC chromatogram of free sugars in peony root.

Table 1. The concentration of free sugars in peony root.

Sugar concentration (%)			
Sucrose	Glucose	Fructose	Total
14.46	0.68	0.75	15.89

류의 연구는 극히 미흡하다. Choung(1993)은 생육시기에 따른 총당의 함량을 조사한 바 있고, 원 등(1992)은 적작약의 callus 배양시 배지에 sucrose를 첨가함에 따라 paeoniflorin의 함량이 증가한다는 결과를 보고한 바 있다. 작약근의 2차 대사산물인 배당체에 glucose의 결합이 필수적이고, paeoniflorin 생성에 sucrose가 관여하며, 작약근의 단맛을 내는 성분이 유리당이므로 추후 작약근의 유리당 함량을 체계적으로 연구하면 작약 생장에 관련된 영양인자 연구나 품질 규격화 연구에 도움이 되리라 판단된다.

유리아미노산 분석

유리아미노산은 유리당과 함께 다양한 결합에 의해 갈변반응을 유도하여 황색의 고분자 물질을 생성하는 것으로 알려져 있고, 작약의 경우에도 거피 후 건조과정에서 갈변반응이 유도되어 표면이 갈변하며, 갈변에 의해 상품적 가치가 손상되는 것으로 알려져 있다. 따라서 작약근의 갈변반응을 유도하는 전구체로 작용할 수 있는 유리아미노산을 분석하였다. 그 결과 γ -aminoisobutyric acid, citrulline, arginine, glutamic acid, threonine 등 총 18종을 확인할 수 있었다(Table 2).

인삼의 경우 threonine, aspartic acid, glutamic acid 및 arginine 등의 아미노산이 함유되어 있다고 보고된 바 있다(고 등, 1994). 특히 인삼의 아미노산 중 lysin, histidine,

Table 2. The concentrations of free amino acids in peony root.

Retention time(min.)	Amino acids	Area(%)
6.800	Phosphoserine	0.81
27.083	Aspartic acid	0.91
37.258	Threonine	1.86
40.058	Serine	2.28
48.108	Glutamic acid	8.24
63.708	α -aminoadipic acid	0.81
68.567	Glycine	0.23
71.433	Alanine	0.90
74.083	Citrulline	23.19
83.242	Valine	2.26
101.842	Isoleucine	0.83
105.325	Leucine	1.18
121.383	β -aminoisobutyric acid	1.07
130.850	γ -aminoisobutyric acid	29.07
148.708	Ornithine	0.30
153.958	Lysine	0.69
159.675	Histidine	0.83
183.000	Arginine	14.24

glutamic acid 및 arginine은 인삼의 건조 중 갈변반응을 촉진시키는 물질로 보고되며, glutamic acid의 경우 glucose와 혼합 처리될 때 가장 크게 갈변을 촉진한다는 결과가 있다(고 등, 1994). 작약근에도 포함되어 있는 lysin, histidine, arginine 및 glutamic acid 등이 작약근의 건조 중 2차 갈변에 영향을 미칠 것으로 추측되고, 실제 작약을 이용하여 조제한 당귀작약산 과립제의 갈변반응에 아미노산이 관여한다는 결과가 보고된 바 있다. 그러므로 작약근에 함유된 아미노산의

함량도 작약의 오관검사의 항목인 선택과 연관되며, 건조 중량변반응에 관련된 물질대사를 중심으로 체계적인 검토가 필요한 것으로 판단된다.

유기산 분석

맛에 관한 작약의 오관검사 중 끝 맛인 신맛에 관여하는 성분을 검토하기 위해 3년생 의성작약에 함유된 유기산을 추출하여 HPLC로 분석하였다. 분석시료를 유기산 표준용액과 머무름시간 대조에 의해 유기산을 판별한 결과 작약근에 함유된 유기산은 oxalic acid, citric acid, malic acid, malonic acid 및 succinic acid로 확인되었다(Table 3). 현재 인삼의 경우에는 succinic acid 외 9종의 유기산이 밝혀져 있고, 작약근에 함유된 유기산을 모두 포함하고 있는 것으로 보고되고 있다(고 등, 1994).

일반적으로 유기산류는 맛에 중요한 역할을 하는 성분으로 가공 또는 저장 중에 새롭게 생성되기도 하며 휘발되어 향기성분으로 작용하기도 한다(고 등, 1994). 특히 benzoic acid를 포함한 일부 유기산 및 그 염류들은 박테리아나 효모 등의 미생물 생육을 억제하는 작용이 있기 때문에 식품보존료, 유산균 음료, 청량음료 등에도 광범위하게 이용하기도 한다. 그러므로 작약의 오관검사 중 신맛에 관여하는 성분으로서, 또 향기성분에 관련된 검사의 기준으로 유기산의 체계적 검토가 필요할 것이다.

향기성분 분석

생약재 작약은 작약 특유의 특이한 냄새가 있으며, 이 냄새

가 강할수록 상품으로 평가되고 있다. 따라서 작약근의 특이한 냄새를 과학적으로 평가하기 위해 3년생 의성작약의 향기성분을 추출하여 GC에 주입하여 분석하였다. 향기성분의 물질 확인을 위해 GC/MSD로 분석한 결과 확인된 향기성분은 분자량이 138 (C₉H₁₄O)인 bicyclo[3,1,1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl-, 분자량이 152 (C₁₀H₁₆O)인 bicyclo[3,1,1]heptan-2-2-carboxylaldehyde, 6,6-dimethyl-, 분자량이 154 (C₁₀H₁₈O)인 myrtnanol, 분자량이 152 (C₈H₈O₃)인 benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester 및 eugenol 등 총 11종으로 조사되었다(Table 4).

특히 benzoic acid는 유행성 감기 virus의 면역작용이 있는 물질로 알려져 있는데, benzoic acid의 기본 구조에 methyl기가 붙으면 휘발이 용이한 물질로 변환되어 작약의 고유한 향기를 구성하는 성분 중 하나로 전환되어지며(Weyland *et al.*, 1982), 소량 함유된 eugenol은 인삼의 향기성분에서도 존재한다고 보고된 바 있고(고 등, 1994), 치과용 진통제로도 이용되며(Mizutani *et al.*, 1991), 최근 강한 항산화 활성을 나타내어 sesamol과 함께 기능성 물질로 평가되고 있다(Kitahara *et al.*, 1992).

적 요

3년생 의성작약을 대상으로 오관검사의 평가기준으로 작용하는 맛, 선택 및 냄새에 관여하는 유리당, 유리아미노산, 유기산 및 향기성분을 분석하였다. 유리당 성분은 sucrose, glucose 및 fructose 등으로 구성된 것을 확인할 수 있었으며, 유리아미노산은 γ -aminoisobuturic acid, arginine, citrulline 등 총 18종이 존재하였다. 작약근에 포함된 유기산은 oxalic acid, citric acid 및 malic acid 등 총 5종이 함유되어 있었다. 작약의 관능적 품질평가 기준 중 하나인 냄새를 구성하는 물질로서 eugenol을 포함한 11종의 향기성분을 확인하였다. 결국 작약의 특이적인 향기는 여러 물질에서 기인한 복합적 냄새로 평가될 수 있다.

12 개정 일본 약국방 해설서(赤 등, 1991)에는 우수한 품질

Table 3. The contents of organic acids in peony root.

Organic acid	Contents(mg/g)
Oxalic acid	16.25
Citric acid	6.74
Malic acid	3.02
Malonic acid	0.07
Succinic acid	0.05

Table 4. Identifications of aromatic components in peony root by GC/MSD.

Aromatic Components	Molecular weight	Accuracy (%)	Area (%)
bicyclo[3,1,1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl-	138	96	12.58
cyclopentasiloxane, decamethyl-	355	64	0.68
bicyclo[3,1,1]heptan-2-carboxylaldehyde,6,6-dimethyl-	152	89	7.60
benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	152	96	6.60
myrtnanol	154	83	4.09
1-cyclohexane-1-carboxaldehyde, 4-(-methylethenyl)	150	86	6.75
cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	444	90	0.48
eugenol	164	98	3.05
ethanone 1-[2-hydroxy-4-methoxyphenyl]	166	90	4.06
phenol, 2-methoxy-4-[1-propenyl]	164	90	1.71

의 작약은 맛의 경우 처음에는 달고, 끝 맛은 짙고, 신맛이 있어야 하며, 작약의 특이한 냄새를 강하게 나타내는 것이 좋다고 기재하여 관능적 품질평가의 기준을 분명히 하였다. 그러므로 관능적 품질평가를 객관성이 결여되기 쉬운 감각적이고 주관적인 방법으로 평가할 것이 아니라 첨단 화학분석기를 이용한 체계적 분석에 의하여 과학적이고 객관적이며 수치화된 평가방법을 적용하여 분석할 필요가 있을 것으로 판단된다.

인용문헌

- Choung, M. G. 1993. Changes in the concentration of paeoniflorin and some chemical materials in *Paeonia Radix* of *Paeonia lactiflora* Pall. at different growing stages and drying methods. Yeungnam University, Graduate school. MS Thesis.
- Choung, M. G. 1996. Test of components related to quality in Korean cultivated Peony, *Paeonia lactiflora* Pall. Yeungnam University, Graduate school. Ph. D. Thesis.
- Choung, M. G., K. H. Kang, and Y. H. Kwack. 1999. The changes of bioactive component concentrations in different aged-peony(*Paeonia lactiflora* Pall.) root. Korean J. Medicinal Crop Sci. 7(3) : 193-199.
- Hatakeyama, S., M. Kawamura, and S. Takano. 1994. Total synthesis of (-)-paeoniflorin. J. Am. Chem. Soc. 116 : 4081-4082.
- Kitahara, K., Y. Matsumoto, H. Ueda, and R. Ueoka. 1992. A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of gg-irradiated methyl linoleate. Chem. Pharm. Bull. 40(8) : 2208-2209
- Kobayashi, M., C. Ueda, S. Aoki, K. Tajima, N. Tanaka, and J. Yamahara. 1990. Anticholinergic action of peony root and its active constituents. Yakugaku Zasshi. 110(12) : 964-968.
- Mizutani, T., K. Satoh, H. Nomura, and k. Nakanishi. 1991. Hepatotoxicity of eugenol in mice depleted of glutathione by treatment with DL - buthionine sulfoximine. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 71(2) : 219-230.
- Weyland, J. W., H. Rolink, and D. A. Doombos. 1982. Reversed-phase high performance liquid chromatographic separation of saccharin, caffeine and benzoic acid using non-linear programming. Journal of Chromatography. 247 : 221-229.
- 高智勳. 1994. 高麗人蔘. 韓國人蔘煙草研究院.
- 赤眞清人 外. 1991. 第十二 改正 日本 藥局方解説書. 東京 廣川書店.
- 원봉필, 강신복, 조정희, 김혜수, 성낙선, 신지현, 고정현, 김재환. 1992. 조직배양에 의한 약용식물자원의 생약학적 연구(III) - 적작약 callus에서 paeoniflorin 생산에 미치는 sucrose의 영향. 국립보건의료보. 29(2) : 490-493.