

측백열매에 관한 연구 (2)

— 과피의 물추출액의 지방산과 아미노산 분석 —

식품영양과학기술연구소 남 현 근
교 수
식품영양과학기술연구소 노 기 환
전 임 강 사

서 론

우리나라에 널리 분포되어 있는 측백나무에서 측백열매를 채취하여 측백씨의 아미노산 조성은 보고된 바¹⁾ 있으나 과피의 아미노산과 지방산의 조성은 연구보고된 바 없다.

한방에서 청량성 지혈제로서 이뇨작용, 혈증치료제로 사용하고 있다.²⁻³⁾ 이것들의 약리적 근거를 조사하기 위하여 측백 과피를 물로 추출하여 그속에 함유되어 있는 아미노산과 지방산의 조성을 조사분석하였기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 재료는 1987년 10월 전남 담양에서 채취하여 그늘에서 건조시키고 열매에서 씨를 분리제거한 다음에 과피만을 마쇄하여 50mesh를 통과한 것만을 기본시료로 하였다. 이 기본시료 일정량을 취하여 증류수 1ℓ에 넣고 수욕상에서 4시간동안 가운하였다. 냉각시킨다음 물추출액만을 분리하여 추출액의 전체량이 50ml 되도록 농축시켜서 아미노산과 지방산 분석용 시료로 하였다.

2. 지방산 분석

지방은 Bligh and Dyer 방법⁴⁾으로 추출하여 산촉매를 사용하여 transmethylation 시켰다.⁵⁾ 즉 시료 1ml를 취하여 benzene 1ml에 녹이고 5% HCl-MeOH 2ml를 가하여 2시간동안 100°C에서 가열한다. 반응이 끝나면 실온에서 냉각시켜준다. 방냉후 H₂O-Hexane (1:1) 1ml를 가하여 지방산의 에스테르만을 분리 추출하여 chromatography 분석용으로 하였다. 분석조건은 10% silarioc (2.1 m × 3.2 mm) column, temperature는 160~240°C (4°C/min), detector는 UV-detector를 사용하였고, MeOH-CHCl₃(9:1)액을 eluent

로 사용하였다.

3. 아미노산 분석

시료 2g을 취하여 질소기체속에서 건조시킨 후 6N HCl 로 $110 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 22 시간동안 반응시켰다. 반응이 끝난다음 과잉의 염산을 증발 건조시키고 sodium citrate buffer pH 2.2 용액을 첨가하여 gas chromatography로 분석하였다. 분석조건은 glass column ($2.0\text{m} \times 3.0\text{mm}$) 20% DEGS를 충전하였고, detector는 FID, 230°C 에서 행하였다.⁶⁻⁸⁾

4. 질량 분석

물로 추출한 시료에서 지방추출 용매로 추출하여 지방산을 분석하였는데 미지의 peak가 나타났으므로 이를 GC-MS로 확인하였다.⁹⁻¹²⁾ 분석조건은 Table 1 과 같다.

Table 1. Conditions for GC-MS operation

Instrument	SHIMADZU GCMS-9020 DF
Ionization	75 eV, 300 μ A
Inject temp.	250 $^\circ\text{C}$
Column temp.	100 $^\circ\text{C}$
Chamber temp.	300 $^\circ\text{C}$
Ion source	EI/CI
Set mass range m/e	10-500 max

결 과 및 고 찰

1. 지방산 분석

일정량의 시료를 HPLC로 분석한 결과는 Table 2와 Fig.1,2와 같다.

Table 2. Composition of fatty acids in *Thujae biotae* water extract

Carbon number	Name	Content (%)
C _{16:0}	Palmitic acid	1.5
C _{16:1}	Palmitoleic acid	11.4
C _{18:0}	Stearic acid	2.1
C _{18:1}	Oleic acid	2.4
C _{18:2}	Linoleic acid	9.5
C _{18:3}	Linolenic acid	8.2
C _{20:2}	Eicosadienoic acid	4.1
C _{20:4}	Arachidonic acid	3.2
C _{22:0}	Behnic acid	5.7
X-12	Unknown	3.5
X-13	Unknown	5.3
X-14	Unknown	23.6
X-15	Unknown	3.4
X-16	Unknown	16.1
14 kinds of fatty acid		100
Unknown material		51.9%

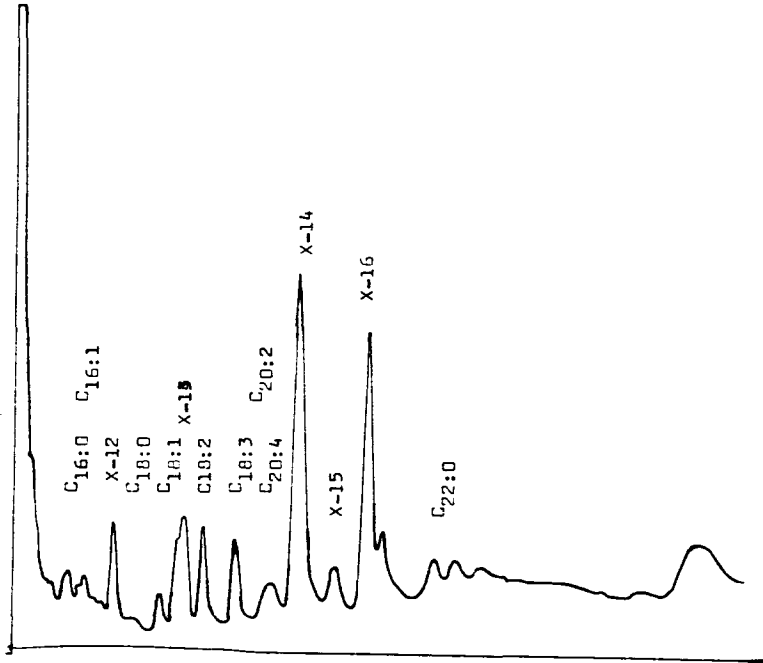


Fig.1. The chromatogram of *Thujae botaе* water extract the fatty acid chromatogram by HPLC

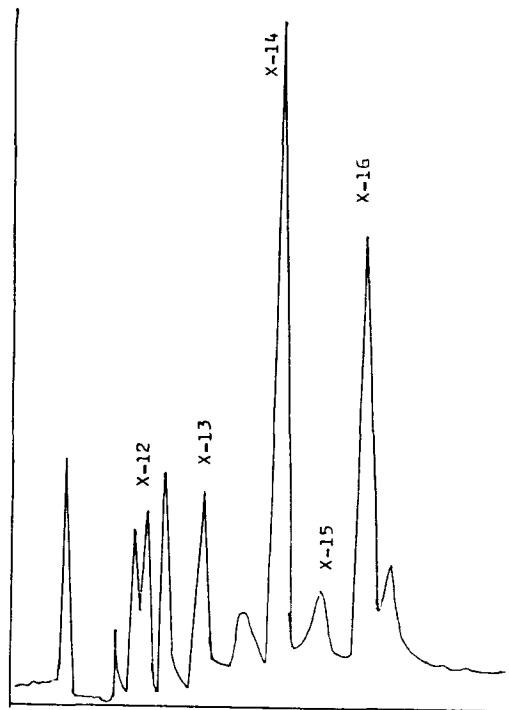


Fig.2. Unknown chromatogram of *Thujae botaе* water extract treated with acid catalyst by HPLC

앞의 Table 2와 Fig.1,2에서 볼 수 있는 바와 같이 지방산과 그 유도체가 14종이 분석되었다. 그러나 미지의 물질이 5가지가 나타났다. 특이하게 C_{18:3}가 상당량 함유되어 있었고 C_{20:2}와 C_{20:4}도 함유되어 있는 것으로 분석되었다.

그리고 미지의 물질은 GC-MS로 확인하여 Fig.3~Fig.7과 같은 결과를 얻었다.

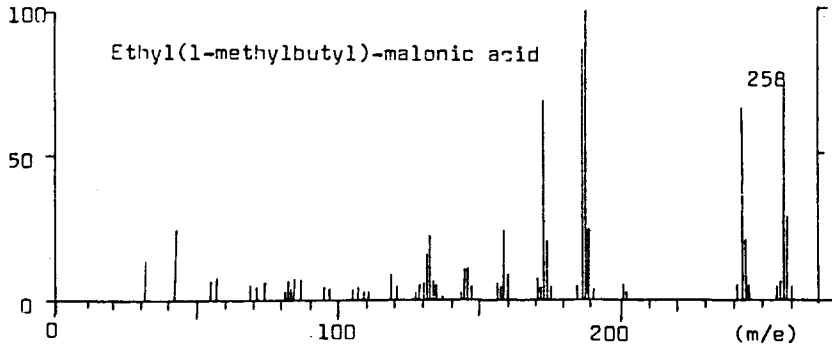


Fig.3. Unknown X-12 mass spectrum of *Thujae biotae* water extract

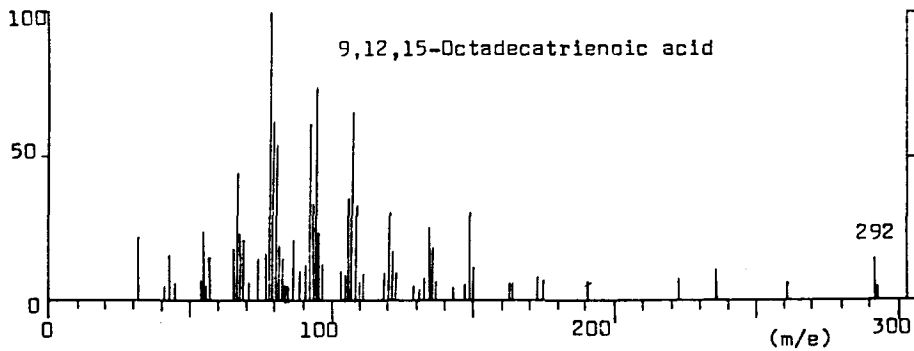


Fig.4. Unknown X-13 mass spectrum of *Thujae biotae* water extract

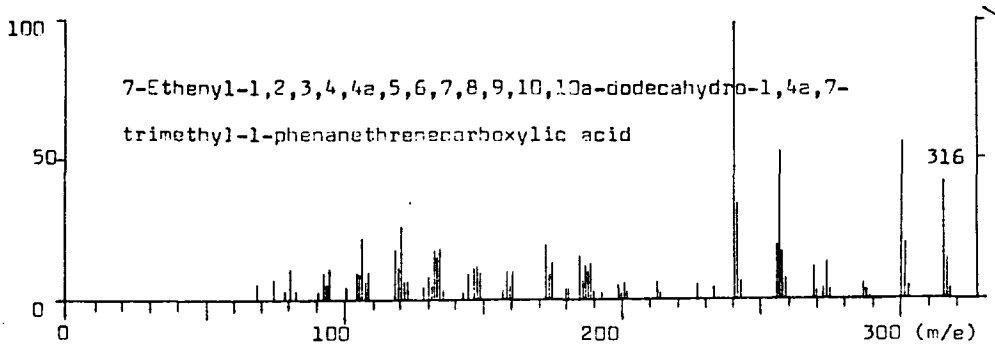


Fig.5. Unknown X-14 mass spectrum of *Thujae biotae* water extract

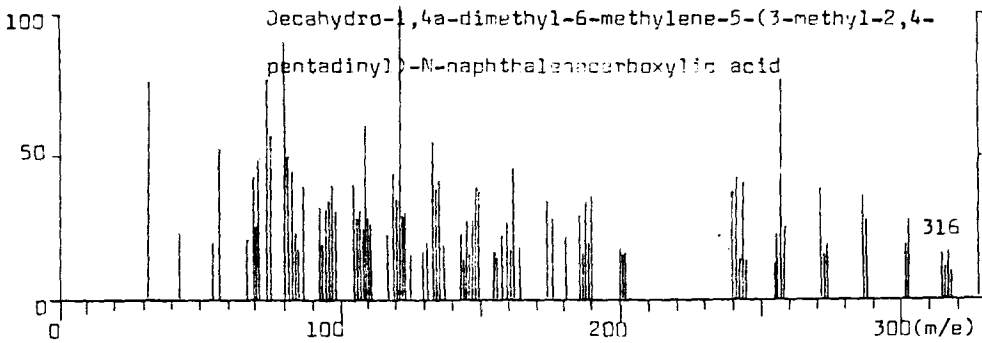


Fig.6. Unknown X-15 mass spectrum of *Thujae botaе* water extract

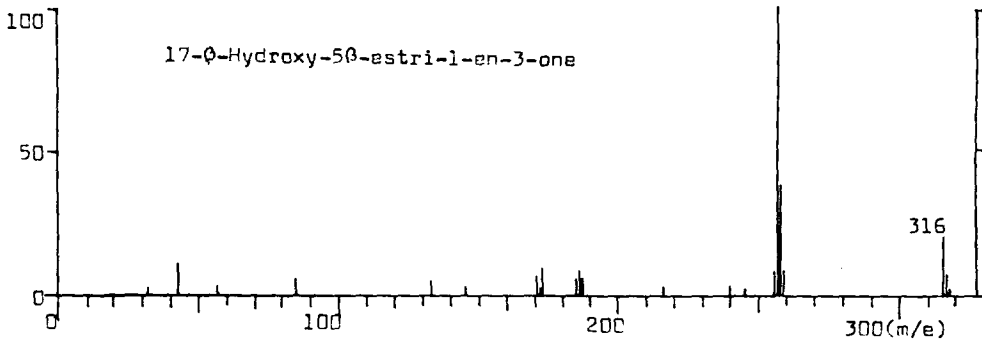


Fig.7. Unknown X-16 mass spectrum of *Thujae botaе* water extract

Fig.3에서 보는 바와 같이 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity가 73.9%로 M-258이며, m/e 188에서 RI는 100%로 $[M-70]^+$ 이온이, m/e 243에서 RI는 66.6%로 $[M-15]^+$ 이온이 현저하였고 $[CH_3O]^+$ 과 $[C_3H_7]^+$ 이온등도 나타났다.

Fig.4에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity가 15.4%로 M-292이며, m/e 79에서 RI는 100%로 나타났고 m/e 108에서 RI는 63.9%로 $[M-184]^+$ 이온이, m/e 149에서 RI는 32.5%로 $[M-143]^+$ 이온이 현저하였다.

Fig.5에서는 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity가 40.9%로 M-316이며, m/e 241에서 RI는 100%로 $[M-75]^+$ 이온이 현저하였고, m/e 257에서 RI는 52.5%로 $[M-59]^+$ 이온이 현저하였다.

Fig.6에서는 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity가 17.6%로 M-316이며, m/e 121에서 RI는 100%로 $[M-195]^+$ 이온이 m/e 161에서 RI는 45.9%로 $[M-155]^+$ 이온이, m/e 241에서 RI는 41.5%로 $[M-75]^+$ 이온이 현저하였다.

Fig.7에서 parent ion $[M^+]$ 의 relative intensity는 19.9%로 M-316이며, m/e 257에서 RI는 100%로 $[M-59]^+$ 이온이 현저하였다.

이상의 결과로 알 수 있는 것은 cyclic compound에 있어서는 m/e 72, 74에서 base

peak가 비교적 낮은 relative intensity를 보였으며 $\text{CH}_3\text{OCO}(\text{CH}_2)_n$ -에서 hydrocarbon ion을 형성하여 $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ -등도 만들어지며 methylate되므로 methoxy group이 떨어질 때 형성되게 된다는 Myher,⁹⁾ Murata,¹⁰⁾ Sun,¹¹⁾ McClosky¹²⁾ 등이 보고한 것과 잘 일치되었다. 그러므로 미지의 물질은 확인이 되어 X-12: Ethyl (1-methyl butyl)-malonate, X-13: 9,12,15-Octadecatrienate, X-14: 7-Ethenyl-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,9,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-tri methyl-1-phenanthrenecarboxylate, X-15: Decahydro-1,4a-di methyl-6-methylene-5-(3-methyl-2,4-pentadynyl)-N-naphthalene carboxylate, X-16: 17- β -hydroxy-5 β -estri-1-en-3-one 이었다.

3. 아미노산 분석

일정량의 시료를 GLC로 분석한 결과는 Fig.8과 Table 3에서 보는 바와 같이 16종의 아미노산이 분석되었는데 aspartic acid가 51.8%로 상당히 많은 양이 포함되어 있었고 proline도 10.1% 함유하고 있었다. 특이하게 γ -aminobutyric acid가 분석되었음은 특이한 일이다.

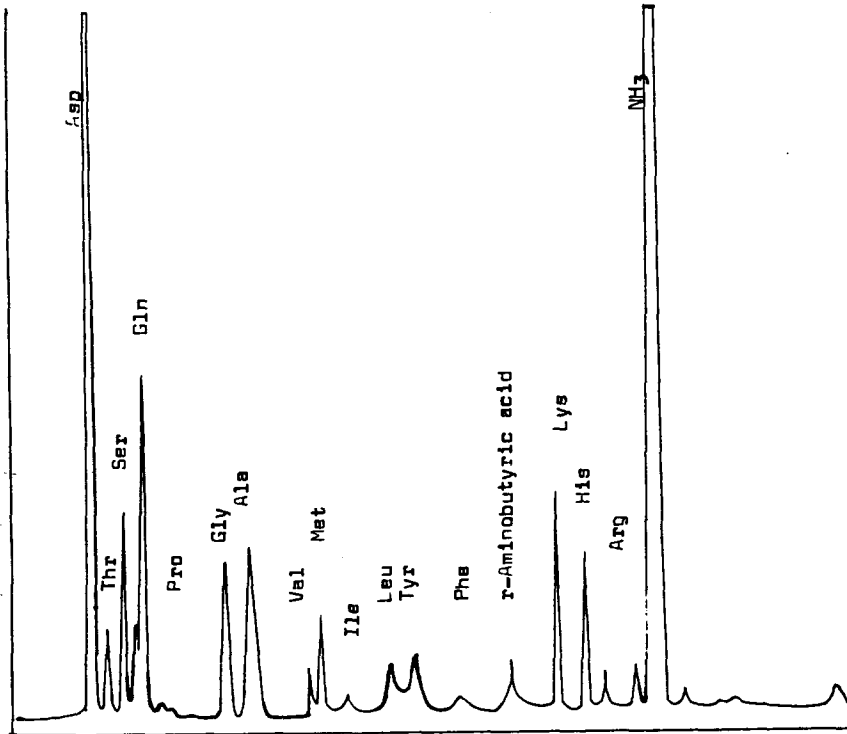


Fig.8. The chromatogram of amino acid of Thujae biotae water extract by gas chromatography

Table 3. Composition of amino acid in Thujae biotae water extract

Amino acid	nmoles	Content (%)
Lysine	28.8	2.5
Histidine	4.6	0.4
Arginine	10.0	0.9
Aspartic acid	598	51.8
Threonine	29.7	2.6
Serine	56.0	4.9
Glutamic acid	107	9.3
Proline	116	10.1
Glycine	47.0	4.1
Valine	18.7	1.6
Methionine	2.9	0.25
Isoleucine	12.9	1.1
Leucine	16.5	1.4
Alanine	84.6	7.3
Tyrosine	6.3	0.54
Phenylalanine	14.8	1.3

* γ -Aminobutyric acid 42.2
 16 kinds 1153.7 100

결 론

측백열매에서 씨를 분리제거하고 과피를 물로 추출하여 아미노산과 지방산을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

측백열매의 과피 물추출액에서 16종의 아미노산이 분석되었고, aspartic acid가 52%, proline이 10%, γ -aminobutyric acid가 상당량 함유되어 있었다.

과피의 물추출액에서 14종의 지방산이 분석되었고 Linoleic acid, Linolenic acid, Arachidonic acid가 모두 함유되어 있었고 5가지의 새로운 물질이 확인되었다.

새로 GC-MS로 확인된 물질은 Ethyl (1-methylbutyl) -malonic acid; 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid; 7-Ethenyl-1,2,3

4,4a,5,6,7,8,9,10,10a-dodeca hydro-1, 4a,7-trimethyl-1-1phenanethrenecarboxylic acid; Decahydro-1,4a-dimethyl-6-methylene-5-(3-methyl-2,4-pentadynyl)-N-naphthalenecarboxylic acid; 17- β -Hydroxy-5 β -estri-1-en-3-one 등이다.

參 考 文 獻

1. 노기환, 이미경 : 광주보건전문대학 논문집 제 12집 67(1987)
2. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, 서울 p.66(1982)
3. 이상인 : 본초학 의학사 서울 p.166(1975)
4. Bligh, E.G. and W.J. Dyer: *Can. J. Biochem. Phys.*, 37, 911(1959)
5. Christie, W.W : *In lipid analysis*, 2nd ed., Pergamon Press Ltd., Oxford, 51(1982)
6. Introduction manual for the Model KLA-5 amino acid analyzer(1975) Hitachi, JAPAN
7. Gehrke, C.W. : *J. of chromatography* 2, 2(1969)
8. Roach, D. and C.W. Gehrke, : *J. of chromatography* 52, 394(1970)
9. Myher, J.J., Marai, L. and Kukasis, A: *Anal. Biochem.*, 62, 188(1974)
10. Murata, T. : *Anal. Chem.* 47, 573(1975)
11. Sun, K.K. and Holman, R.T. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 810(1968)
12. McCloskey, J.A. and Law, J.H. : *Lipids* 2, 225(1967)
13. Nam, H.K. and G.W. Rho: *J. Korean Soc. Food Nutr.*; 17, 172(1988)

Studies on the Thuja Orientalis(2)**—Amino acid and fatty acid composition in the Thuja biotae water extract—****Hyun-keun, Nam and Gi-hwan, Rho***Institute of Food Nutrition Science and Technology**>Abstract<*

In order to investigate the amino acid and fatty acid composition in Thuja biotae water extract, this examination was performed.

There are 16 kinds of different amino acid and 14 kinds of different fatty acid in Thuja biotae water extract. An acidic amino acid, aspartic acid was contained 52% and proline was contained 10%, particularly γ -aminobutyric acid was analyzed. Essential fatty acids: linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid was contained and palmitoleic acid was contained 11.4%.

There are 5 different unknown materials which were investigated by GC-MS spectrum, such as Ethyl(1-methylbutyl)-malonic acid; 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid; 7-Ethenyl-1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 10a-dodecahydro-1, 4a, 7-trimethyl-1-phenanthrenecarboxylic acid; Decahydro-1, 4a-dimethyl-6-methylene-5-(3-methyl-2, 4-pentadiny)-N-naphthalenecarboxylic acid; 17- β -Hydroxy-5-estri-1-en-3-one.