

鹿茸中の 아미노酸 含量에 關하여 (第 1 編)

Study on Amino Acid Contents in Deer Horn

Free amino acids in water extracts and total amino acids in hydrolystates of Deer Horn were analyzed by amino acid autoanalyzer (Technicon PNC-1 Type). The results obtained from this study are as follows;

- 1) 17 kinds of amino acid, including 7 kinds of essential amino acid in human nutrition except tryptophan were identified and quantified.
- 2) Of all free amino acid contained in water extract, glutamic acid is the richest, and then comes Ala, Gly, Leu, Lys, valin in that order.
Of all total amino acid which are closely related with nutritional valuation glycine is the richest, and then comes Glu, Lys, Ala, Leu, Ala, Pro, in that order.
- 3) Besides 17 kinds of amino acid, one kinds of unknown amino acid are found in water extracts and hydrolysates.

緒 論

鹿茸(Cervi cornu)은 本草綱目, 東醫寶鑑 等 成書와 李¹⁾의 本草學에 依하면 主治에 添精補髓・暖腎助陽・健胃生齒・治腰腎虛冷・四肢酸痛・頭眩眼黑・一切虛損勞傷・固精攝便・小兒痘瘡乾回라고 되어 있으며 現代漢方에서는 興奮強壯劑로서 下元眞陽을 峻補하는 要藥이며 腎脈을 通하고 腎水를 溫補하여 血을 助한다. 그러므로 補髓・養血強筋・健骨은 勿論이요 心臟衰弱・腦貧血・發育不全・腰膝虛冷無力・遺精崩帶・婦人小腹血氣滯痛永意頻數・一切虛損・羸瘦耳聾・目暗・眩暈・百日咳 催山 等に 服用하며 卓効하다 한다. 또한 神經을 強壯케 하고 生殖腺을 興奮하여 情慾을 亢進케 하며 手顫, 四肢寒冷陽痿者, 虛弱性潰瘍의 久不收口 神經衰弱으로 因한 驚癇, 痘瘡에 顔面이 蒼白하고 濃泡가 凹陷한 者에 使用하면 그 體力을 恢復하여 前述한 敗症을 完全히 消散시킨다고 記載하고 있다.

이러한 鹿茸의 藥効를 알기 위하여 龍²⁾은 鹿茸을 恣히 煎劑로 하여 服用하는 點에 着眼하여 鹿茸水浸液中の 遊離아미노酸에 關하여 paper chromatography法으로 amino酸을 檢出確

認한 바 있다. 卽 完全脫毛한 鹿茸의 上·中·下帶를 各各 3g式 取하여 pyrex製 抽出 flask 內에서 蒸溜水로 抽出하고 水浴上에서 全液이 約 100ml가 되도록 濃縮한 다음 室溫에서 冷却하고 여기에 ethanol-aceton混液³⁾ (1:1)을 數倍量加하여 溶性蛋白質과 無機鹽의 大部分을 沈澱시키고 이것을 遠心分離後 上澄液을 水浴上에서 濃縮하여 全液이 約 50ml가 되도록 한 다음 이 液을 chromatography用 檢體로 하였다. 한편 一次展開用 溶媒를 phenol-butanol-water(3:1:1), 二次展開用 溶媒를 pyridine-butanol-water(7:7:1)로 하여 What man No.1 濾紙를 使用하여 二次元上昇式 濾紙 chromatography를 展開하고 室溫에서 風乾한 後 0.2% ninhydrine-n-butanol을 spray하고 90~150°의 空氣中에서 10分間加熱하여 aminoacid의 spot을 얻었다. 이것을 標準 amino acid와 比較 確認한 結果 leucine, methionine, threonine, lysine의 4種의 必須아미노酸과 Histidine, Aspartic acid를 確認하였다. 本報에서는 鹿茸의 水浸液에 대하여 遊離아미노酸을, 鹿茸의 酸加水分解 處理 後 얻은 全 아미노酸을 amino acid autoanalyzer(Technicon PNC-1)를 使用하여 分析 定量한 結果를 報告코져 한다.

實 驗

實驗材料——本 實驗에서 使用한 鹿茸은 서울市內에서 購入한 것으로 酒蒸等하지 않은 原 鹿茸에서 上部(上帶)를 切斷하여 使用하였다.

遊離 아미노酸 測定用試料²⁻⁴⁾——完全 脫毛한 鹿茸을 粉碎粉末로하고 그 2g를 精粹하여 250ml抽出用 Pyrex flask에 넣은 다음 蒸溜水 50ml를 加하여 沸騰水浴上에서 約 1時間 抽出한 後 冷却放置하여 傾斜法으로 抽出液을 他 beaker에 옮기고 다시 抽出器內에 蒸溜水 50ml를 加하여 1時間 抽出한 後 冷却放置한 다음 抽出液을 먼저 抽出液과 混合 하였다. 抽取 殘渣를 다시 蒸溜水 20ml로 洗滌하고 먼저 浸液과 合하고 이 抽出液을 分液깔대기에 옮기고 여기에 ethyl ether을 約 100ml 加하여 脂肪分을 除去하고 다시 ethanol-aceton混液 (1:1)을 約 倍量 加하여 溶性蛋白質 및 無機鹽類의 大部分을 沈澱시키고 이 液을 遠心分離器로 分離, 上澄液을 水浴上에서 蒸發濃縮시켜 約 2ml가 될 때까지 濃縮하여 冷却시킨 後 PH2.2의 구연산 緩衝液을 加하여 全量 25ml가 되게 하였다.

全아미노酸測定用試料(酸加水分解法)⁵⁾——遊離아미노酸 測定用試料에서와 같이 鹿茸을 粉碎粉末로 하여 그 40mg을 미리 크롬黃酸, 蒸溜水 및 1N-HCl으로 씻어 乾燥시킨 Pyrex 시험관(外徑 12~16mm, 길이 120~200mm의 시험관을 위에서 3~4cm되는 부분을 가늘게 뽑은 것)에 넣고 6N-HCl 6ml로 잘 분산시킨 후 N₂ gas를 통하고 burner를 使用하여 시험관을 밀봉한 후 110±1°에서 70時間 加水分解시켰다. 加水分解完了後 室溫으로 冷却하여 4°이하에 保存하고 分析하기 직전 개봉하여 加水分解物을 濾過, 沈澱物을 除去 하였다. 蒸溜水 2ml로 시험관을 씻어 여과하고 (이 조작을 3회 반복) 이 濾液을 모두 합하여 50ml beaker에 넣고 沸騰水浴上에서 堊산을 除去한다. Beaker中の 溶液이 거의 없어지면 蒸溜水 4ml로 기벽을 씻으면서 가하여 乾固시킨 다음(이 조작은 4회반복) pH2.2 稀釋用 구연

酸緩衝液 2ml를 加하여 試料溶液으로 하였다.

標準아미노酸溶液的 調製——Table I에 表示한 바와 같이 2.5mM에 해당하는 各아미노酸(cystine은 1/2量)量을 精粹하여 1/ volumetric flask에 넣고 蒸溜水로 반쯤 채워 C. HCl 10ml을 가하여 溶解시킨 後 蒸溜水를 가하여 1/로 하고 이 溶液(2.5 μ M/ml)을 貯藏溶液으로 하고 分析時 pH2.2 稀釋用구연산緩衝液으로 稀釋하여 標準아미노酸溶液으로 使用하였다.

Table I—Standard Amino Acids Mixture

Amino Acids	Grams per Liter 2.5millimolar	Amino Acid	Grams per Liter 2.5millimolar
1. DL-Aspartic acid (Asp)	0.3327	10. DL-Methionine (Met)	0.3750
2. L-Threonine (Thr)	0.2977	11. L-Isoleucine (Ileu)	0.3280
3. DL-Serine (Ser)	0.2627	12. L-Leucine (Leu)	0.3280
4. DL-Glutamic acid (Glu)	0.3678	13. DL-Tyrosine (Tyr)	0.4530
5. DL-Proline (Pro)	0.2877	14. DL-Phenylalanine (Phe)	0.4130
6. Glycine (Gly)	0.1877	15. Ammonium Sulfate	0.3302
7. DL-Alanine (Ala)	0.2227	16. DL-Lysine HCl (Lys)	0.4567
8. DL-Valine (Val)	0.2927	17. DL-Histidine HCl H ₂ O (His)	0.5240
9. L-Cystine (Cys)	0.1805	19. L-Arginine HCl (Arg)	0.5267

아미노酸의 分析

試料濃度の 推定——아미노酸 分析機에 의해 分析이 가능한 各 아미노酸의 試料濃度は 0.3~3.0 μ M이지만 分析에 最適濃度は 各 아미노酸이 0.5~1.0 μ M⁹³씩 含有되어 있어야 한다. 그러므로 分析을 시작하기 전에 미리 試料濃度を 推定해야 하는데 그 方法은 다음과 같다.

檢體試料 1.0ml를 시험관에 취하여 蒸溜水 1.0ml과 ninhydrin試藥 1.0ml을 가하여 100°C에서 15分間 加熱發生시키고 이것을 冷却시킨 다음 全量을 蒸溜水로 25ml로 하여 570 η m에서 DU spectrophotometer를 사용하여 吸光度를 測定하고 吸光度 0.8이 될 때가 아미노酸量이 1 μ M에 해당되므로 注入量이 1.0~2.0ml가 되도록 試料濃度を 적당히 稀釋하여 사용한다. 本檢體의 1male의 吸光度는 0.9였다.

使用機器 및 分析條件——아미노酸分析은 amino acid autoanalyzer(Technicon PNC-1)을 使用하였으며 Table II와 같은 分析條件下에서 測定하였다.

아미노酸 定量——試料溶液 1ml을 正確히 취하여 ion exchange resin을 充填시킨 column 上面에 注入, N₂ gas로 吸着시킨 후 pH2.875 구연산緩衝液으로 column空間을 채운 다음 各 아미노酸의 chromatogram을 標準 아미노酸 mixture의 chromatogram과 比較하여 鹿茸의 아미노酸을 確認하고 各 아미노酸量은 chromatogram의 面積에 比例하므로 HW法(半值幅法)⁹⁴에 의하여 그 面積을 計算하고 一定量의 標準아미노酸 溶液의 分析結果와 比較하여 定量하였다.

Table II—Measurement Condition⁷⁾

Column Size:	6.3mm ID×140cm
Temperature:	60°C constant
Ion Exchange Resin:	Chromobeads-Type A
Flow rate:	
Buffer Solution:	30ml/hr. (0.5ml/min)
Ninhydrin:	30ml/hr.
Buffer Solution:	PH 2.875, PH 3.8, PH 5.0 Na-Citrate Buffer sol.
Buffer Change:	Gradient elution Device (Autograd).
Chart Speed:	6 inch/hr.
Wade Length:	1. 15mm tubular flowcell, 570nm (red) 2. 8mm tubular flowcell, 570nm(yellow) 3. 15mm tubular flowcell, 440nm(green)
Analysis Time:	21 hrs.

結果 및 考察

以上 實驗方法에 依하여 鹿茸의 遊離아미노酸 및 全 아미노酸을 定量分析한 結果는 Table III, IV와 같다.

Table III—Contents of Free Amino Acids in Deer Horn (mg/g)

Amino Acids	Asp.	Thr.	Ser.	Glu.	Pro.	Gly.
Deer Horns	0.0506	0.0936	0.1429	0.5727	0.1932	0.5267
Amino Acid	Ala.	Val.	Cys.	Met.	Isoleu.	Leu.
Deer Horn	0.5494	0.2160	trace	trace	0.089	0.3367
Amino Acid	Tyr.	Phe.	NH ₃	Lys.	His.	Arg.
Deer Horn	0.0946	0.1715	0.6104	0.2882	0.1541	0.0635

Total Free Amino Acid: 4.0730

Table IV—Contents of Total Amino Acids in Deer Horn (mg/g)

Amino Acids	Asp.	Thr.	Ser.	Glu.	Pro.	Gly.
Deer Horns	28.6822	16.3018	15.4759	69.9661	33.0193	87.7369
Amino Acids	Ala.	Val.	Cys.	Met.	Isolen.	Leu.
Deer Horn	41.7656	27.8605	trace	0.8393	9.8400	42.0660
Amino Acids	Tyr.	Phe.	NH ₃	Lys.	His.	Arg.
Deer Horn	7.8143	24.6251	53.9900	49.6716	25.9380	44.2470

Total Amino Acid: 285.8167

Table III, Table IV에서 보는 바와같이 鹿茸中の amino acid는 遊離아미노酸과 全아미노酸에 있어서 cystein은 다같이 trace로 나왔고 Methionine은 遊離에서 trace로 나오고 全아미노酸에서는 少量檢出確認되었을 뿐이고 其他 아미노酸은 모두 같이 確認되었다. 全아미노酸 測定用 試料調製時 使用한 酸加水分解法에 의하면 Tryptophan은 완전히 破壞되어 定量되지 않으며 Rees⁹⁾에 의하면 6N-HCl, 100°C의 沸騰還流로 24時間 加水分解時 Threonine이 約 5.3%, serine이 10.5% 감소된다고 하였으며 또 S. Moore 등¹⁰⁾에 의하면 22時間 加水分解時 threonine, cysteine, tyrosine은 約 5%, Serin은 約 10% 파괴된다고 하였으며 Valine, isoleucine의 分解는 試料에 따라 70時間以上을 요할 경우도 있다. 따라서 Threonine, Serine, Cystine, Tyrosine, Valine, Isoleucine 등의 定量値는 본래의 含量보다 多少낮게 定量된다. 그러나 이와같은 條件下에서 測定된 값을 가지고 試料種類別의 含量관계를 관찰하는 데는 別影響이 없다.

遊離아미노酸 및 全아미노酸의 定量結果—鹿茸(上帶)에 대하여 遊離아미노酸 및 全아미노酸을 定量한 結果는 Table III 및 Table IV와 같으며 Tryptophan을 除外한 사람에 必要한 essential amion acid를 비롯하여 17種의 아미노酸이 定量되었다.

이 結果에 대하여 (I) 아미노酸의 全體的 分布狀態 (II) 必須아미노酸의 量的關係 (III) Ammonia의 量的關係 (IV) Ammonia를 除外한 아미노酸 總量別로 관찰한 結果는 各各 다음과 같다.

아미노酸의 全體的 分布狀態—Table III에서 보는 바와 같이 遊離아미노酸에 대하여 鹿茸(上帶)水浸液에서 glutamic acid가 가장 많이 含有되어 있고 Ala, Gly, Leu, Lys, Val,의 順으로 많으며 Cys, Met,은 trace이다. 全아미노酸에서는 Gly, Glu, Lys, Arg, Leu, Ala, Pro, 順으로 많고 Cystein은 trace이고 Methionine은 極微量이다.

必須아미노酸의 量的關係—必須아미노酸의 含量(mg/g) 結果를 보면 遊離아미노酸에서는 lenein이 0.3367mg, lycin 0.2882mg, valine이 0.2160mg, Phen 0.1715mg, Thre 0.0930mg, Isolu 0.089mg이며 Met은 trace이고 全아미노酸에서는 lycin이 49.6716mg로 가장 많고 Leu,이 42.066mg, val이 27.8605mg, Phe 24.6257mg, Thre. 16.3018mg, Isolu. 8.400mg이다. Methionine은 0.8393으로 極히 少量 함유되어 있고 遊離에는 檢출되지 않고 9 있고 Trypt는 양쪽 모두 檢出되지 않았다.

Ammonia의 量的 關係—Asp, Glu와 같은 질소화합물은 加水分解하여 NH₃을 유리하며 ninhydrin反應에서 主成된 DYDA, Co₂ NH₃量은 아미노酸量에 비례하므로 이와같은 生成物을 定量함으로써 아미노酸量을 알 수 있다. 本實驗에 있어서 遊離아미노酸에서는 NH₃가 0.6104mg/g이고 全아미노酸에서는 53.9900mg/g의 NH₃을 發生하였다.

Ammonia를 除外한 아미노酸總量—鹿茸上帶 2g의 水浸液中の 遊離아미노酸에서 ammonia를 除外한 아미노酸總量은 3.4626mg/g이며 全아미노酸中の 아미노酸을 除外한 아미노酸總量은 231.8267mg/g이다. 以上 實驗結果 Methionine이 微量含有되었거나 또는 檢出되지 않은 結果로 나타났으나 酸化되어 Methionine酸化物¹¹⁾(methionine sulfate)로 되어

ASP. peak앞에 位置하는 것 같이 여겨진다.

또한 遊離 및 全아미노分析 chromatogram peak中 15(NH₃), 16(Lys)사이에 位置한 peak는 未確認物質이다. 앞으로 究明確認하고자 한다.

結 論

市販鹿茸(上帶)의 水浸液 및 酸加水分解物에 대하여 遊離아미노酸 및 全아미노酸의 含量에 대하여 amino acid autoanalyzer(Technicon, PNC-1)로 分析한 結果는 다음과 같다.

(1) Tryptophan을 除外한 7種의 사람에 必要한 必須아미노酸(Isoleu, Leu, Lye, Meth, Phe, Thy Val.)을 비롯하여 總 17種의 아미노酸을 確認定量하였다.

(2) 鹿茸水浸液中의 遊離아미노酸은 glutamic acid가 가장 많이 含有되어 있고 Ala, Gly, Leu, Lys, Val.의 順이다. 全아미노酸에서는 glycine이 가장 많고 Glu, Lys, Arg, Leu, Ala, Pro, 等 順으로 많다. cysteine은 遊離, 全아미노酸에서 모두 trace이고 methionine은 遊離아미노酸에서 trace이고 全아미노酸에서는 極微量이다.

(3) 鹿茸의 水浸液 및 酸加水分解物에서 17種의 아미노酸外에 1種의 未確認物質을 얻었다

文 獻

- 1) 李尙仁, 本草學, 醫藥社發行 65.66頁 (1975)
- 2) 龍在益, 大韓藥學會誌 11 (1960)
- 3) W.C.Heso, *J. Lab. Clin, Med* 32, 1163 (1947)
- 4) 波多野搏行, アミノ酸自動分析法, 化學同人 79(1964)
- 5) *Ibid.*, 63(1964)
- 6) *Ibid.*, 76(1964)
- 7) Technicon Instrument Co., *Amino Acid Autoanalyzer Instruction Manual* AAA-1 (1970)
- 8) *Ibid* 21(1970)
- 9) M.W. Ress, *Biochem. J.*, 40, 632(1946)
- 10) C.H.W.Hirs, S.Moore, W.H.Stein, *J. Biol. Chem.*, 235, 633 (1970)
- 11) 鹿又和廊外³人, 食品の機器分析, 光琳書院 461(1971)