

특이지방산의 탐색과 봇꽃류에서 중쇄지방산(myristic acid)의 확인

김정봉* · 김종범 · 김경환 · 황선갑 · 김용환 · 조강진 · 황영수 · 박노동¹

*농업과학기술원 생화학과, ¹전남대학교 농화학과

(2000년 1월 24일 접수, 2000년 11월 22일 수리)

산업적으로 활용성이 높은 특이 지방산을 탐색하기 위하여 8종의 국내 자원식물을 재료로 하여 지방산 조성을 조사한 결과 봇꽃(*Iris tectorum*) 등 3가지 식물에서 myristic acid(14 : 0)과 lauric acid(12 : 0) 등의 중쇄지방산이 함유되어 있음을 확인하였다. 특히 봇꽃에는 myristic acid가 전체 지방산의 75.9%를 차지하였다. 독일봇꽃(*Iris germanica*)에는 myristic acid와 lauric acid가 전체 지방산의 57%와 15.5% 씩 함유되어 있었다. 꽃창포(*Iris ensata*) 뿌리에는 lauric acid와 capric acid(10 : 0)가 각각 10.7%와 9.5% 함유되어 있었으나 회향(*Foeniculum vulgare*)과 사상자(*Torilis japonica*)의 종실에는 전체 지방산(mg/g dry wt)이 각각 193.3 mg/g과 128.2 mg/g의 높은 함량을 나타내었다. 봇꽃의 부위별 지방산 조성에서는 종실에 linoleic acid(18 : 2)가 64.5%, 뿌리에 α -linolenic acid(18 : 3)가 48.9% 그리고 결뿌리(lateral root)에는 caprylic acid(8 : 0)과 capric acid가 각각 9.5%와 8.6%씩 함유되어 있었으며 봇꽃과 독일봇꽃의 미숙종자에는 myristic acid가 각각 10.8%와 15.6% 함유되었다.

Key words : unusual fatty acid, medium chain fatty acid, myristic acid, Iris

서 론

탄수화물, 단백질과 함께 3대 영양소의 하나인 지질은 생체의 주요 구성성분으로 glyceride, wax와 같은 단순지질과 인지질, 당지질과 같은 복합지질로 이루어져 있다. 이들 지질의 주요성분은 지방산인데 단순지질은 지방산끼리 그리고 복합지질은 당 등의 다른 물질과 ester결합을 하고 있으며 생체막 성분 등에 중요한 역할을 한다.^{1,2)} 다양한 지방산이 존재하는 동물조직에 비해서 식물조직에는 주로 짹수 탄소를 지닌 palmitic acid(16 : 0), stearic acid(18 : 0), oleic acid(18 : 1), linoleic acid(18 : 2), linolenic acid(18 : 3) 등 5가지 장쇄지방산이 존재하는데 evening primrose oil로 잘 알려져 있는 달맞이꽃(*Enothera biennis*) 종자유에 함유된 γ -linolenic acid나 펑의다리(*Thalictrum aquilegifolium*) 종자에 있는 columbinic acid와 같이 식물에 따라서는 희귀한 지방산을 함유하고 있는 것도 있어서 이들의 산업적 또는 의학적 활용 가능성이 관심을 받고 있다.^{3,4)}

한편 지방산의 골격을 이루는 탄소의 개수에 따라서 8개에서 14개인 지방산을 일반적으로 중쇄지방산(medium chain fatty acid)이라고 하고 그보다 많은 탄소수를 가진 것을 장쇄지방산(long chain fatty acid)이라 하는데 이들 모두 식물이나 동물의 종류와 조직에 따라서 특이적으로 존재하며 전체 지방산대비 함유율이 일정하기 때문에 조성비의 고유한 값을 갖는다.⁵⁾

중쇄지방산은 주로 팜유, 야자유, 조류 등에서 생산되고 있으며 이들은 윤활유, 비누, 초코렛, 계면활성제 그리고 염료 등의 공업적 재료로 많이 사용되고 있다. 특히 선인장의 일종으

로 알려진 Cuphea류는 capric acid(10 : 0)를 전체 지방산대비 87%까지 함유하고 있는 종이 있어서 지방산 대사공학을 위한 분자생물학적 연구소재로 이용되고 있을 뿐만 아니라 이를 이용한 형질전환체도 보고 되고 있다.^{6,7)}

국내에서는 Kim 등이 60여종의 식물자원을 대상으로 지방산 조성을 조사하여 달맞이꽃과 컴프리(*Sympytum officinale*) 및 지치(*Lithospermum erythrorhizon*)에서 역시 특이 지방산인 γ -linolenic acid를 확인하였으며 α -linolenic acid가 60% 정도 함유되어 있는 들깨(*Perilla frutescens*)의 지방산 조성도 조사하여 이들 식물이 유용한 유지자원으로서의 가능성성이 제시된 바 있다.^{8,9)} 따라서 본 실험은 우리나라 식물자원중에서 중쇄지방산 관련 자원을 탐색하여 생물신소재로 사용하고자 실시하여 봇꽃의 8종의 관련식물에서 지방산조성을 조사하여 myristic acid(14 : 0) 등의 몇가지 특이지방산을 확인한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료, 시약 및 사용기기. 본 실험에서 사용한 재료는 1992년 10월에 충북농업기술원, 작물시험장 및 농업과학기술원의 시험포장에서 채취하였으며 생체를 동결건조하여 마쇄한 후 80 mesh이하의 분말을 사용하였다. Chloroform과 alcohol 등의 추출용매는 Fisher사(Pittsburgh, PA, USA)의 Gr급을 그리고 boron trifluoride(BF₃)는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입한 14% 메탄을 희석액을 그대로 사용하였다. 내부표준물질로는 pentadecanoic acid(PDA)를 사용하였으며 지방산 free acid와 methyl ester 형태의 표준물질들 역시 Sigma사에서 구입한 것으로 메탄올에 녹여서 사용하였다. 지방산 정량은 chromatogram에 나타난 각각의 peak를 내부표준물질을 기준으

*연락처자

Phone : 82-31-290-0359; Fax : 82-31-290-0391

E-mail : junbkim@rda.go.kr

로 구하였다. 분리 및 정량시에는 Hewlett Packard 5890 series II 기종의 gas chromatography(GC)를 사용하였으며 일차 탐색에서는 HP-20M(0.2 mm, 25 m, 0.1 μm) Hewlett Packard column으로 180°C(injector 200°C, detector 210°C)에서 분리하였고 detector는 flame ionization detector(FID), carrier gas는 질소를 사용하였다. 중쇄지방산의 분리 및 정량에는 HP-5 column(0.2 mm, 25 m, 33 μm)을 사용하였는데 역시 Hewlett Packard제품으로 column 온도를 프로그램 링(158°C, 3 min., 5°C/min., 190°C)하여 분리하였으며 역시 carrier gas와 detector는 위와 같다.

추출 및 methylation. 동결건조된 시료 분말 0.3 g을 chloroform : methanol(2 : 1, v/v) 5 ml와 내부표준물질 PDA 1 mg을 넣고 10분간 초음파로 추출 한 후, 0.58% NaCl 5 ml을 넣어 2000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이 중에서 상동액을 버리고 chloroform층을 질소 gas를 이용하여 농축한후 toluene 0.5 ml과 2 N NaOH methanol 용액 2 ml를 넣고 끓은 물에 3분간 가수분해하여 실온에서 식혔다. 여기에 14% BF3 2.5 ml를 넣고 다시 끓은 물에 5분간 반응시켜 methylation을 완료하고 중류수 15 ml와 petroleum ether 10 ml를 섞어서 10분간 실온에 방치한 다음 petroleum ether층을 sodium sulfate로 건조하여 GC 시료로 사용하였다.¹⁰⁻¹²⁾

결과 및 고찰

8종의 식물체를 대상으로 GC에서 분리되는 순서에 따라 확인할 수 있는 5가지 장쇄지방산과 중쇄지방산으로 추정되는 물질(UK)의 분석결과를 Table 1에 정리하였다. 대체적으로 뿌리에서는 전체 지방산의 함량이 범부채(*Belamcanda chinensis*) 7.3 mg/g에서부터 봇꽃(*Iris tectorum*)의 47.1 mg/g사이로 비교적 적었다. 종실에서는 회향(*Foeniculum vulgare*)이 193.3 mg/g을 그리고 사상자(*Torilis japonica*)가 128.2 mg/g을 함유하고 있어서 뿌리와 종실에서 최고 26배 정도까지의 함량차이를 나타내었다. 종실부위는 Kim 등⁸⁾이 조사한 참깨(*Sesamum indicum*, 492.8 mg/g) 및 들깨(*Perilla frutescens*, 400.9 mg/g)보다 적은

양의 지방산이 조사되었으며 콩(*Glycine max*, 196.0 mg/g)과 구기자(*Lycium chinense*, 123.9 mg/g)와는 비슷한 함량이 조사되었으며 범부채(*Belamcanda chinensis*)의 뿌리는 토현삼뿌리(*Scrophularia koreana*, 6.1 mg/g)와 비슷하였다. 이밖에 원추리(*Hemerocallis fulva*), 범부채, 지모(*Anemarrhena asphodeloides*) 및 꽃창포(*Iris ensata*)의 뿌리에서는 30% 이상의 중쇄지방산이 확인되었으며 특히 봇꽃의 경우 78.8%로서 가장 높은 함유율이 확인되었다. 이들을 이미 보고된 60가지 식물체의 지방산조성조사 내용과 비교해 볼 때 대체적으로 종실부분의 전체 지방산이 뿌리나 잎 등의 다른 부위보다 상대적으로 높은 경향은 Table 1의 조사내용과 비슷하였으나 중쇄지방산의 함유율은 특이한 조성을 하고 있는 것으로 나타났다.⁸⁾

Table 1의 탐색결과를 이용하여 중쇄지방산의 함유율이 가장 높은 봇꽃과 독일봇꽃 그리고 꽃창포 뿌리의 지방산조성을 분석하였다(Table 2). 앞서 언급한 봇꽃뿌리의 추정 중쇄지방산은 myristic acid (14 : 0)가 전체 지방산 대비 75.9%로 확인되었으며 독일봇꽃의 뿌리에는 57% 가량의 myristic acid와 15.5%의 lauric acid(12 : 0)가 나타나 봇꽃의 중쇄지방산 조성과는 약간의 차이를 나타냈다. 같은 과의 꽃창포 뿌리에는 capric acid (10 : 0)가 9.5% 그리고 lauric acid(12 : 0)가 10.7% 정도 함유되어 있는 것이 특이한 점으로 나타났으나 전체지방산의 함량이나 중쇄지방산의 함유율에서는 봇꽃이나 독일봇꽃의 뿌리에는 미치지 못하였다. 그런데 봇꽃 뿌리의 중쇄지방산 함유율은 특이한 조성으로서 전체지방산함량에서는 차이가 있지만 myristic acid를 70-80% 정도 함유하고 있는 도금양과의 육두구(*Myristica fragrans*)와 비슷한 조성비를 나타내었다.¹³⁾ 지금까지 capric acid와 lauric acid등의 중쇄지방산을 가장 많이 함유하고 있는 식물자원으로 알려진 멕시코산 *Cuphea*에는 capric acid가 91.6% 그리고 코스타리카산에는 lauric acid가 85%정도 함유되어 있는 것으로 보고 되어 있다.¹⁴⁾

한편 원추리, 범부채, 지모의 뿌리와 범부채, 회향, 사상자의 종실에서도 소량이나마 중쇄지방산으로 추정되는 GC의 비슷한무름시간대의 물질을 확인하였다.

봇꽃의 지방산을 부위별로 조사한 결과(Table 3) 뿌리에서

Table 1. The fatty acid compositions of *Iris* sp. and related plants

Plants	parts	TFA (mg/g DW)	Fatty acid composition of TFA (% by GC area)				
			UK	16 : 0	18 : 0	18 : 1	18 : 2
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	root	38.4	2.1	20.7	2.4	5.5	63.8
<i>Belamcanda chinensis</i>	root	7.3	7.7	20.6	3.5	18.0	43.2
<i>Belamcanda chinensis</i>	seed	35.4	5.3	24.7	9.3	22.8	34.0
<i>Foeniculum vulgare</i>	seed	193.3	31.2	2.5	0.3	57.0	8.8
<i>Hemerocallis fulva</i>	root	8.2	4.9	14.6	3.7	12.2	37.7
<i>Iris ensata</i>	root	20.5	23.1	9.3	-	23.3	36.0
<i>Iris germanica</i>	root	31.1	78.4	7.8	0.6	2.7	11.0
<i>Iris germanica</i>	seed	44.7	4.9	10.4	-	38.3	48.2
<i>Iris tectorum</i>	root	47.1	78.8	8.7	0.5	0.5	9.3
<i>Torilis japonica</i>	seed	128.2	8.6	4.5	0.8	67.5	18.6

TFA: total fatty acid (mg/g dry wt).

DW: dry wt.

-: not detected.

Table 2. The contents of medium chain fatty acids in roots of *I. tectorum*, *I. germanica* and *I. ensata*

Plants	TFA (mg/g DW)	Fatty acid composition of TFA (% by GC area)								
		8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<i>Iris tectorum</i>	47.1	0.8	1.3	0.8	75.9	8.7	0.5	0.5	9.3	2.2
<i>Iris germanica</i>	31.1	0.7	3.2	15.5	57.0	7.9	0.6	2.8	11.0	1.3
<i>Iris ensata</i>	20.5	2.9	9.5	10.7	-	9.3	-	23.3	36.0	8.3

TFA: total fatty acid (mg/g dry wt).

DW: dry wt.

-: not detected.

Table 3. The fatty acid composition in various parts of *I. tectorum*

Parts	TFA (mg/g DW)	Fatty acid composition of TFA (% by GC area)								
		8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Root	47.1	0.8	1.3	0.8	75.9	8.7	0.5	0.5	9.3	2.2
Lateral root	10.5	9.5	8.6	-	4.7	20.0	4.7	5.7	38.1	8.7
Leaf	56.2	-	0.5	0.5	7.4	17.9	2.8	3.4	18.6	48.9
Seed	53.2	-	-	-	-	5.6	-	29.9	64.5	-

TFA: total fatty acid(mg/g dry wt).

DW: dry wt.

-: not detected.

Table 4. The fatty acid composition in immature seeds of *I. tectorum* and *I. germanica*

Plants	TFA (mg/g DW)	Fatty acid composition of TFA (% by GC area)					
		14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
<i>Iris tectorum</i>	37.0	10.8	16.8	3.5	13.5	52.2	3.2
<i>Iris germanica</i>	41.1	15.1	15.6	3.2	15.6	47.8	2.7

TFA: total fatty acid (mg/g dry wt).

DW: dry wt.

myristic acid 함유율이 75.9%임을 확인하였으며 결뿌리(lateral root)에서는 caprylic acid와 capric acid가 각각 9.5, 8.6%도 확인되었다. 또한 붓꽃의 잎에서는 myristic acid가 뿌리의 약 1/10 정도인 7.4%가 확인되었으나 나머지 중쇄지방산은 미미하였으며 특히 종자에서는 장쇄지방산외에는 다른 지방산이 확인되지 않았다.

한편 독일붓꽃과 붓꽃의 미숙종자에서는 전체지방산이 뿌리에서의 함량과 비슷하였으나 종자에서는 확인되지 않았던 myristic acid가 각각 15.1%, 10.8% 씩 확인되었으며 뿌리의 지방산 조성과는 많은 차이를 나타냈다(Table 4). 특히 미숙종자에서 확인된 myristic acid와 palmitic acid가 종자에서는 없어지거나 줄어들었으며 이와 반대로 oleic acid와 linoleic acid의 함유율이 늘어난 것으로 볼 때 미숙종자에서 확인된 이들 지방산이 oleic acid와 linoleic acid의 생합성 과정의 중간물질 역할을 하는 것으로 추정되었다.

이와 같은 결과를 볼 때 붓꽃과 독일붓꽃의 뿌리에서는 중쇄지방산이 특이하게 많이 분포하였으나 이들과 외형이 비슷한 범부채나 원추리에서는 이들 지방산이 검출되지 않은 것도 특이한 결과라 할 수 있다.

참고문헌

1. Antoni. R. (1992) The biochemistry and molecular biology of

plant lipid biosynthesis. *Plant Mol. Biol.* **19**, 169-191.

2. Kim, Y. J. (1991) In *Lipid Handbook*. Daekwang Pub. Co. Seoul, pp. 3-21.
3. Wolf, R. B., Kleiman, R. and England, R. E. (1983) New sources of γ -linolenic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 1858-1860.
4. Elliott, W. J., Needleman, P. (1983) Stereospecific synthesis of columbinic acid. *J. Org. Chem.* **48**, 5378-5379.
5. Hawood, J. L. (1988) Fatty acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **39**, 101-138.
6. Dehesh, K., Edwards, P., Hayes, T. Cranmer, A. and Fillatti, J. (1996) Two novel thioesterases are key determinants of the biomodal distribution fo acyl chain length of *cuphea palustris* seed oil. *Plant Physiol.* **110**, 203-210.
7. Dehesh, K., Jones, A., Knutson, D. and Voelker, T. (1996) Production of high levels of 8:0 and 10:0 fatty acids in transgenic canola by overexpression of Ch FatB2, a thioesterase cDNA from *cuphea hookeriana*. *Plant J.* **9**, 167-172.
8. Kim, J. B., Kim, Y. H., Lee, C. H., Hwang, Y. S. and Park, R. D. (1995) Screening of γ -linolenic acid resources and fatty acid composition in Korean native medicinal plants resources. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **3**, 107-110.
9. Tsukamoto Y. (1978) In *Garden Plants of the World in Color[III] (perennials)*. Hoikusha, pp. 5-19.
10. Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. (1966) Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas

- chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **38**, 514-515.
11. Metcalfe L. D. and Schmitz A. A. (1961) The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **33**, 363-364.
 12. Kim, Y. H., Kim, J. B., Ryu, T. H., Lee, C. H. and Hwang, Y. S. (1995) Production of γ -linolenic acid by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. *Kor. Soc. Plant Tis. Cul.* **22**, 111-114.
 13. Kim, S. H., Lee, K. H., Ahn, D. K., Lee, Y. J. and Kang, B. S. (1991) In *Bon-Cho-Hak*, Younglim Pub. Co. pp. 613-614.
 14. Wolf, R. B., Graham, S. A. and Kleiman, R. (1983) Fatty acid composition of cuphea seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 103-104.

The Composition of Useful Medium Chain Fatty Acids in Eight Plant Species

Jung-Bong Kim*, Jong-Bum Kim, Kyung-Hwan Kim, Sun-Kap Hwang, Yong-Hwan Kim, Kang-Jin Cho, Young-Soo Hwang and Ro-Dong Park¹(Department of Biochemistry, National Institute of Agricultural Science & Technology, NIAST 249 Sedundong Kwonsunku Suwon 441-707; ¹Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju 500-575, Korea)

Abstract: Several unusual fatty acids including myristic acid (14 : 0) and lauric acid (12 : 0) were investigated in the *Iris* family and other related plants. Especially the roots of *Iris tectorum* contained 75.9% myristic acid in total fatty acid contents and that of *Iris germanica* contained 57% myristic and 15.5% lauric acid (12 : 0) whereas 10.7% lauric acid and 9.5% capric acid (10 : 0) were detected in the roots of *Iris ensata* as compared to the total fatty acid contents. The total fatty acid contents in the seeds of *Foeniculi fructus* and *Torilis japonica* was relatively higher 193.3 mg/g dry wt and 128.2 mg/g dry wt, respectively. 64.5% linoleic acid (18 : 2) and 48.9% α -linolenic acid (18 : 3) were observed in the seeds and leaves of *Iris tectorum* whereas its lateral roots contained 9.5% caprylic acid (8 : 0) and 8.6% capric acid. The percentage of myristic acid of the total fatty acid in the immature seeds of *Iris tectorum* and *Iris germanica* was 10.8% and 15.6%, respectively.

Key words: unusual fatty acid, medium chain fatty acid, myristic acid, Iris

*Corresponding author