

각종 사료에 의한 녹용의 생화학 성분의 비교

김영식 교수 / 서울대학교 천연물과학연구소

I. 서론

녹용은 인삼과 더불어 동양에서 오래 전부터 중요한 전통 의약물로 사용되어왔다. 녹용은 보정수, 장신양, 건근골의 효능이 있고 심계, 빈혈, 양위, 현훈이명, 요빈, 요슬위약등의 치료에 응용한다.

동물을 이용한 효능에 관한 연구는 성장촉진작용, 조혈작용, 혈청 콜레스테롤 저하작용, 단백질 합성 촉진작용, 노화방지효과, 척추신경 효소활성 증가효과, 진통작용, 항피로효과, 면역활성 증가작용 및 진정작용등이 보고되고 있다. 녹용의 주성분에 대해서는 지질, 단백질, 탄수화물, 무기 물질등의 분석결과가 보고되고 있다. 녹용의 다양한 생물활성은 이런 여러 가지의 성분에 기인하는 것으로 받아들여지고 있다.

최근 양록 농가에서 각종 약용식물자원을 이용하는 농가들이 늘어나고 있고, 또한 여러 가지 농산부 산물을 활용하거나 산지에서 생산되는 다양한 초종의 육림부산물등의 사료 자원들이 양록 농가에서 이용되고 있어 외국의 단순 초지나 사료자원을 이용해 생산한 녹용과의 차별화를 시도하고 있다. 따라서 각종

사료에 따른 녹용의 품질을 뒷받침할 수 있는 과학적인 자료가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 일반사료에 여러 가지의 다른 사료자원을 처리한 후 녹용의 사료처리에 따른 녹용의 품질을 비교할 목적으로 녹용의 세 부위(상대, 중대, 하대)의 생화학적 성분(글리코사미노글리칸류, 우론 산, 시알 산, 총지질, 지방산 조성, 중성지질, 인지질, 회분, 무기이온)의 함량과 조성을 측정 비교 검토하였다.

II. 재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 사슴의 품종은 elk(*Cervus canadensis*)이고 뽕나무(group A), 구기자(group B), 혼합 한약재(group C)를 일반사료에 첨가하여 투여한 사슴의 녹용과 CLA (conjugated linoleic acid)를 첨가한 사료, 쿠마린(coumarin)을 첨가한 사료를 투여한 사슴의 녹용을 각각 일반사료(control)를 투여한 사슴의 녹용을 상대, 중대 및 하대로 나누어서 사용하였다.

확보된 녹용 시료는 -70°C 에서 냉동한 것을 동결건조 한 후 분말화해서 -20°C 에서 보관하고 사용하였다.

시약 및 기기

실험에 사용한 표준품으로서 salic acid, D-glucuronic acid, chondroitin sulfate(상어연골)와 지방산 조성분석에 사용한 표준 지방산 tridecanoic acid methyl ester(C 13:0), myristic acid methyl ester(C 14:0), pentadecanoic acid methyl ester(C 15:0), palmitic acid methyl ester(C 16:0), palmitoleic acid methyl ester(C 16:1), heptadecanoic acid methyl ester(C 17:0), stearic acid methyl ester(C 18:0), oleic acid methyl ester(C 18:1), linoleic acid methyl ester(C 18:2), linolenic acid methyl ester(C 18:3), 지질 분석에 필요한 표준 중성지질, 인지질 등은 sigma사로부터 구입하였다. 나머지 기타시약 들은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

기기는 HP mass spectrometer (model 5989B), HP gas chromatograph (model 5890) 을 사용하였으며, HPLC (HITACHI, model L-6200, Japan), ELSD (SEDERE, model SEDEX 75, France), UV 분광계 (Jasco, Japan), 회화로(Sam Hung, Korea), 원심분리기(Hanil, Korea), 동결건조기(Hanil, Korea)등을 사용하였다.

III. 실험방법

회분 및 무기이온의 분석

AOAC (Association of Official Analytical Chemists)에 따라 도가니를 600°C의 회화로

에서 1시간 동안 방치한 후 데시케이터에 옮겨 실온까지 냉각하고 중량을 측정해서 도가니의 중량변화가 없는지 확인하였다. 확인한 후에 분말녹용 일정량을 취하여 600°C 회화로에서 5시간 회화시켰다. 데시케이터에서 실온까지 냉각하고 중량을 측정하였다.

회분중의 금속이온을 정량하기 위해 위에서 얻은 회분을 농질산에 완전히 녹인 후에 증류하고 다시 2% 질산에 녹여 원자흡광광도계(기초과학지원연구원, 서울분소)에 의하여 무기이온을 각각 분석하였다.

무기이온의 함량은 녹용분말 g에 대한 mg의 양으로 표기하였다.

총지질

초음파분해(sonication)를 이용한 지질 추출법에 의하여 분말 녹용의 총지질을 구하였다.

녹용분말 1g을 CHCl_3 : MeOH (2 : 1)안에서 10분동안 초음파분해(sonication)를 하고 증류수를 첨가하여 CHCl_3 층을 얻어 질소를 사용하여 농축하였다. 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

지방산 조성 분석

위에서 얻은 총지질에 염산 methanol과 benzene을 첨가하고 100°C에서 2시간 30분 동안 반응시켜 methyl 에스테르화한 다음 n-hexane과 2% KHCO_3 를 첨가하여 hexane층을 얻어 GC-MS로 분석하였다. Column은

HP-5MS capillary column(30m 0.25mm)을 사용하였다. 초기 column temperature는 120 °C에서 3분간 시작하여 120°C에서 250°C 까지 10 °C/min으로 증가시키면서 최종 온도는 250°C에서 10분 동안 고정시켰다. 각 지방산의 검출은 지방산 표준품의 유리 시간의 일치와 Mass 데이터 베이스에 의해 수행하였다. 각 지방산의 비율은 검출된 모든 지방산의 peak의 적분면적을 합산하여 이에 따른 비율로 나타내었다.(Fig. 1, 2)

우론산의 분석

녹용분말을 2일, 4°C에서 0.5M EDTA · 2Na(pH 7.4)로 탈칼슘화하고 crude papain을 5mM EDTA와 5mM cystein · HCl을 포함하는 0.1M phosphate buffer (pH 6.5)와 혼합하여 65°C에서 30분 동안 papain을 활성화 한 후에 활성화된 papain으로 65°C에서 16시간 동안 단백질을 분해 시켜서 carbazole reaction에 의해 530nm에서 측정하였다. 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

글리코사미노글리칸류(GAGs)의 분석

위에서 papain으로 분해시킨 것을 dimethyl-methylene blue dye binding 방법에 의해 540nm에서 측정하였다. 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

시알산의 분석

녹용분말을 80°C에서 1h동안 0.1N 황산으

로 가수분해한 후에 Warren 방법에 의해서 549nm에서 측정하였다. 함량은 녹용분말에 대한 %로 표기하였다.

통계처리

SAS system(version 8)을 이용하여 one-way ANOVA 와 two-way ANOVA를 이용하여 처리하였다. 유의성 검정은 Student's t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 및 $p < 0.01$ 에서 실시하였다.

IV. 결과 및 고찰

1. 뽕나무(group A), 구기자(group B), 혼합한약재(group C)를 일반사료에 첨가하여 투여한 사슴의 녹용과 일반사료 (control)를 투여한 사슴의 녹용의 성분 비교

Table 1에 녹용의 사료처리에 따른 군에 따라 각종 성분을 분석하고 그 결과를 건조 녹용중량의 백분율로서 종합하여 표시하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 지질 함량은 대조군에 비해 group B와 C에서 증가하는 것을 볼 수 있으나 개체별 오차에 의해 유의성은 관찰하지 못했다. 생리활성에 중요한 역할을 하는 우론산, 글리코사미노글리칸, 시알산의 탄수화물들은 대조군에 비해 일반사료에 구기자를 첨가한 group B의 상대에서 특이적으로 증가하는 것을 보았다.($p < 0.05$)(Fig. 3) 녹용의 세로 성장은 endochondral 골 형성과정

(ossification)에 의해 이루어진다. 황산 글리코사미노글리칸은 일반적으로 단백질과 연결되어 proteoglycan 형태로 존재하는데 proteoglycan은 endochondral 골형성과정에서 골화 과정을 억제한다고 알려져 있다. 따라서 사료처리에 따른 황산 글리코사미노글리칸의 증가는 녹용의 품질을 높이는 하나의 자료로 반영할 수 있다. 또 녹용의 새로운 지표물질로 생각되는 강글리오사이드(ganglioside)의 종류를 결정하는 시알산(sialic acid)의 경우에도 group B에서 특이적으로 증가한다. 강글리오사이드는 세포의 신호 전달계에 매우 중요한 기능적 역할을 한다. 특히, 강글리오사이드는 성장, 분화, 부착과 같은 세포의 일련의 과정에서 중요한 역할을 한다. 따라서 group B에서의 시알산의 특이적인 증가는 주목할 만 하다. 회분함량은 사료처리에 따른 유의성이 보이지 않았다. 회분 중에는 칼슘(Ca)의 함량이 가장 높았고, 다른 무기이온들은 모두 대조군에 비해 낮은 함량을 보였다.($p < 0.01$)

지방산 조성 분석

Table II에 녹용의 사료처리에 따른 군에 따라 지방산의 조성을 분석·비교 종합하여 나타내었다. 결과를 통계 처리한 결과 각종 사료에 따라 녹용의 지방산 조성이 영향을 받는

다는 것을 확인하였다.($p < 0.01$) 지방산의 종류는 C16:0, C16:0a, C18:0, C18:1가 10% 이상이었다. 각 개체에 따라 조성 변화의 크기가 달랐지만 그 중 palmitic acid(C16:0)는 약초를 첨가한 모든 group에서 감소하였다.($p < 0.05$) 본 결과에서 녹용의 지방산 조성 중 흥미롭게도 전에 보고가 되지 않았던 2-hydroxy-hexadecanoic acid를 확인했으며 모든 group의 상대에서 증가하는 것을 볼 수 있었다($p < 0.05$) (Fig. 2, 3) (Table II).

녹용의 품질 증가를 목적으로 사료에 세 가지 약초를 첨가해서 키워 얻은 녹용에 대하여 성분 분석을 통하여 비교하였다. 공통적으로 나타나는 결과는 녹용의 상대, 중대 및 하대에 있어서 총지질, 글리코사미노글리칸, 우론산, 시알산의 양은 상대에서 높게 나타났다. 한편 회분, 무기이온들은 하대에서 높게 나타났다. 구기자를 함께 처리한 군에서의 글리코사미노글리칸, 우론산, 시알산의 특이적인 증가는 주목할 만 하다. 또 현재까지 보고되지 않았던 2-hydroxyhexadecanoic acid도 주목할 필요가 있다. 결론적으로 특정사료의 처리는 녹용의 생화학성분 조성에 영향을 나타내는 것으로 보여진다. 특히, 구기자를 함께 처리한 경우에 다른 군에 비해 특이적인 변화를 나타낸다.

〈다음호 계속〉