

지리산 싸리의 지질 구성 지방산과 유리 아미노산 및 구성 총 아미노산 조성에 관하여

김 종 균

이리 농공전문대학 식품공업과

Compositions of Fatty Acid, Free Amino Acid and Total Amino Acid of *Lespedeza x chiisanensis* T. LEE

Chong-Kyun Kim

Dept. of Food Engineering, Iri National College of Agriculture and Technology, Iri 570-110, Korea

Abstract

The compositions of amino acid in the protein and fatty acid in the lipid of *Lespedeza x chiisanensis* T. LEE were analyzed by HPLC and GC, respectively. The contents of crude oil and protein from the extracts were 11.13% and 5.18%, respectively. The amount of free amino acids in the protein was 443.14mg/100g, and 94.84mg/100g of essential amino acid were contained in the free amino acid. The amount of total amino acids in the protein was 3159.85mg/100g, and 1068.18mg/100g of essential amino acid were contained in the total amino acid. The compositions of fatty acid in the lipid were C₁₈:2=45.05%, C₁₈:3=18.71%, C₁₉=14.70%, C₁₈:1=6.81%, C₁₆=4.35%, C₁₆:1=1.59% in order, respectively. 72.44% of unsaturated fatty acids were contained in the lipid.

Key words : *Lespedeza x chiisanensis* T. LEE, fatty acid, free amino acid, total amino acid, essential amino acid

서 론

지리산 싸리 (*Lespedeza x chiisanensis* T. LEE)는 콩과(科)에 속하는 낙엽관목(落葉灌木)으로 높이가 2m에 달하며, 열매는 협과로서 10월경에 익고, 지리산 만복대 및 백운산 일대에서 자생하고, 조록싸리와 싸리의 잡종이다¹⁾. 싸리는 번식력과 성장이 왕성하여 밀원자원, 사료자원, 사방용 및 섬유자원용 등^{2,3)}으로 이용되고 있다. 또한 결실량이 많기 때문에 유지 자원으로 이용할 수 있으리라 생각된다. 특히 우리나라의 유지의 수요량은 매년 증가하고 있으나 대부분 수입에 의존하고 있고, 또한 유지공업이 발달함에 따라 국내의 유지 수요량이 더욱더 증가 될 것으로 예상되어 유지자원의 개발이 절실히 요구된다. 콩아과(Papilionoideae)에 대한 연구로서는 이⁴⁾의 족제비 싸리(*Amorpha fruticosa* L.) 발아 종자중의 hexose epimerase에 대하여, 황과 이⁵⁾의 족제비 싸리 종자의 지방산 조성에 관한 연구, 김 등⁶⁾의 싸리 종자의 지질성분에 관한 연구, 이 등⁷⁾의 족제비 싸리 종자의 지질성분에 관한 연구에서 식

용 및 공업화에 이용 가치가 있다고 보고 하였고, 박⁸⁾의 전동싸리(*Melilotus suaveolens* LEDEB.)의 성장과 질소 고정활성에 미치는 환경요인의 영향에 관한 연구 뿐인 실정이다.

본 연구에서는 *Lespedeza*의 지리산 싸리에 대한 유지 자원과 사료용으로 이용할 가치가 있다고 사료되어 지리산 싸리중에 함유되어 있는 성분을 HPLC와 GC를 이용하여 단백질의 구성 총 아미노산, 유리 아미노산 및 지질 구성 지방산에 대한 분석한 결과를 보고 한다.

재료 및 방법

재료

시약 및 기기

Triethylamine (TEA), phenylisothiocyanate (PITC), methylalcohol (HPLC용), n-heptane은 일본 동경화학의 특급 시약을 사용 하였고, BF₃-MeOH은 Aldrich Co.의 특급 시약을 사용 하였다.

분석 기기로 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)는 Waters Associate Model M 441에 Young-In D 520 Integrator를 사용 하였고, Gas Chromatography (GC)는 Varian Model 3400에 4400 Integrator를 사용 하였다.

시료 처리

본 실험에 사용한 지리산 찌리는 경남 함양군 백운산 일대에 자생하고 있는 종자를 1992년 10월에 채취 하여 박피를 하지않고, 건조기에서 60°C로 6시간 동안 건조 하였으며, 조지방, 조단백질, 아미노산의 분석 시료는 50mesh 정도로 분쇄하여 사용하였다.

방법

일반분석 및 이화학적 특성

시료중의 수분, 회분과 조지방에 대한 비중, 굴절율, 산가, 요오드가, 검화가는 A.O.A.C.법⁹⁾에 준하여 측정 하였다.

조지방

시료 20g을 취해 ethyl ether 용매를 사용하여 Soxhlet 장치로 24시간 동안 추출한후 건조기에서 용매를 증발시킨 다음 조지방 함량을 구하였다.

조단백질

A.O.A.C.(7.015 micro Kjeldahl)법¹⁰⁾에 의해 조작하고 단백질 환산 계수 6.25로 곱하여 조단백질 함량을 구하였다.

유리 아미노산

건조시켜 분쇄한 시료 2g을 75% ethanol 30ml로 수욕상에서 30분간 추출하여 냉각시킨 후 추출액을 모으고, 잔사에 다시 75% ethanol 20ml를 가하여 30분간 수욕상에서 추출한 추출액을 합하여 수욕상에서 ethanol을 증발시켜 얻었다. 침전물을 여과하여 여액을 분액깔때기에 모아서 ethyl ether 20ml를 가해 ether 층을 분별 제거한 다음, 비등 수욕상에서 약 1ml가 되도록 농축하고 냉각하여 pH 2.2 구연산 완충액을 가하여 25ml로 하였다¹¹⁾. 이 중 50μl를 취하여 Pico-Tag workstation에서 진공상태로 건조한 후 혼합 용매 MeOH : H₂O : TEA : PITC=7 : 1 : 1 : 1 (v/v) 20ml를 가하고 잘 혼합하였다. 실온에 20분간 방치하여 유도 체화를 시킨 다음, 다시 Pico-Tag workstation에서 진공 건조 시키고 Pico-Tag 시료 희석액 250μl를 가했다

¹²⁾ 이 용액을 Millex HA filter (Millipore Corp. Pore-size : 0.45μm)에 여과시켜 10μl를 취해 HPLC에 주입하여 Pico-Tag column을 이용하여 Table 1과 같은 조건에서 분석 하였다.

총 아미노산

건조시켜 분쇄한 시료 1g을 시험관에 넣고 6N-HCl 6ml를 가한후 N₂ gas로 7분간 충전 시켜 밀봉하고, sand bath를 이용하여 110±10°C로 24시간 가수분해 시킨 다음 실온에서 냉각한 후 0.2μm 여과지를 통해 침전물을 여과하였다. 이 여액을 비등 수욕상에서 농축하여 염산을 제거하고, pH 2.2 구연산 완충액 2ml를 가한 다음¹³⁾ 시약조제 방법¹²⁾으로 처리하였다. 이 용액을 Millex HA filter (Millipore Corp. Pore size : 0.4μm)에 여과시켜 10μl를 취해 HPLC에 주입하고 Pico-Tag column을 이용하여 Table 1과 같은 조건에서 분석 하였다.

지방산의 조성

A.O.C.S.법¹⁴⁾에 따라 시료유 100mg을 취한 후 0.5 N-KOH 4ml을 섞어 유지방울이 없어질때까지 교반한 다음, 실온으로 냉각시킨 후 14% BF₃-MeOH 5ml를 촉매로 하여 3분간 끓여 methylester화 하였다. 이 용액

Table 1. Operating conditions of HPLC

Detector	Waters M 441 uv/vis detector 254nm
Column	Pico-Tag column
Column size	3.9mm × 150mm, 4μm
Integrator	Young-In, D 520 integrator
Temperature	48°C
Injection amount	10μl
Mobile phase	<p>Eluent A : Sodium acetate 20g</p> <p>TEA 600μl</p> <p>Milli-Q-water ———— 1L</p> <p>with phosphoric acid pH 6.4*</p> <p>*solution 940ml+CH₃CN 60ml</p> <p>Eluent B : 60% CH₃CN</p>

Gradient Table

Time	Flow	% A	% B	Curve
0	1.0	100	0	*
10.0	1.0	54	46	5
10.5	1.0	0	100	6
11.0	1.5	0	100	6
14.0	1.5	0	100	6
14.5	1.5	100	0	6
20.5	1.5	100	0	6
21.0	1.0	100	0	6

을 농축시킨 후 *n*-heptane 5ml을 가하고 1분간 더 끓인 다음, 포화 NaCl용액 3ml를 가하여 잘 섞은 후 상등액 3ml를 시험관에 옮겨 무수 Na₂SO₄를 넣어 수분을 제거하였다. 잔사를 1ml의 ether로 용해시켜 5 μ l를 취해 DB-Wax capillary column을 장착한 GC에 주입하여 Table 2와 같은 조건에서 분석 하였다.

결과 및 고찰

일반성분

지리산 싸리의 수분, 회분, 조지방 및 조단백질의 일반성분을 분석한 결과 수분 함량은 10.75%로 족제비 싸리⁷⁾의 10.14%, 대두¹⁵⁾의 9.2% 보다 많았고, 회분은 6.24%로 족제비 싸리⁷⁾의 3.16%, 대두¹⁵⁾의 5.8% 보다 많았다. 조지방 함량은 11.13%로 족제비 싸리⁷⁾의 12.73%, 대두¹⁵⁾의 17.6% 보다는 적고, 조단백질 함량은 5.18%로 족제비 싸리⁷⁾의 21.77%, 대두¹⁵⁾의 41.3% 보다 적게 함유되어 있는 것은 사료로 이용하고자 종실을 박피하지 않고 분석하였기 때문에 함량이 적었다고 본다.

이화학적 특성

Table 3과 같이 조지방에 대한 비중, 굴절율, 산가, 요오드가, 검화를 분석한 결과 비중 0.928, 굴절율 1.474로 족제비 싸리⁷⁾나 대두¹⁵⁾와 비슷 하였고, 산가 2.35로 족제비 싸리⁷⁾ 보다는 낮았으나 대두¹⁶⁾ 보다는 높게 나타났다. 요오드가 128로 족제비 싸리⁷⁾나 대두¹⁶⁾ 보다는 낮게 나타났으나 반 전성유로서 식용도 가치가 있는 것으로 사료된다. 검화가 181로 족제비 싸리¹⁰⁾와

Table 2. Operating conditions of gas chromatography

Instrument	: Varian model 3400 with 4400 Integrator
Column	: DB-Wax, capillary column
Carrier	: Nitrogen 10ml/min
Column temp.	: 220° C
Injection temp.	: 230° C
Detector temp.	: FID, 240° C
Chart speed	: 0.5 cm/min
Split ratio	: 1 : 100

는 비슷하나 대두¹⁶⁾ 보다는 낮게 나타났다.

유리 아미노산과 구성 총 아미노산의 조성

Table 4와 Fig. 1에서 보는 바와 같이 유리 아미노산의 총량은 433.14mg/100g이고, 조성 순서를 보면 Ala가 143.57mg/100g으로 가장 많이 함유되어 있고, Arg이 52.64mg/100g, His이 50.98mg/100g, Glu이 42.76mg/100g의 순으로 함유되어 있음을 알 수 있었다.

필수 아미노산은 총량이 94.84mg/100g으로서 유리 아미노산 총량의 21.90%를 함유하고 있었다. 이와 같이 적은양의 유리 아미노산이 함유되어 있는 것은 박피를 하지 않은 것에 기인한 것으로 여겨진다.

Table 5와 Fig. 2에서 보는 바와 같이 싸리의 총 아미노산 총량은 3159.85mg/100g이고, 조성 순서를 보면 Glu가 616.25mg/100g으로 가장 많고, Arg이 346.82mg/100g, Asp이 322.61mg/100g, Leu이 304.85mg/100g, Gly이 216.22mg/100g의 순으로 함유되어 있으며, 총 아미노산 총량의 경우 대두¹⁹⁾ 36817mg/100g 보다는 적게 함유되어 있었지만, Moor²¹⁾에 의하

Table 4. Composition of free amino acid in *Lespedeza x chiiisanensis* T. LEE

Free amino acid	Contents(mg/100g protein)
Aspartic Acid	143.57
Glutamic Acid	42.76
Serine	33.43
Glycine	5.95
Histidine	50.98
Arginine	52.64
*Threonine	33.98
Alanine	-
Proline	-
Tyrosine	8.97
*Valine	6.66
*Methionine	11.22
Cystine	-
*Isoleucine	9.08
*Leucine	7.64
*Phenylalanine	21.05
*Lysine	5.21
*Tryptophan	-
Total	433.14

*Essential amino acid

Table 3. Comparisons of physical and chemical characteristics of *Lespedeza x chiiisanensis* T. LEE

Lipid	SG(15/15° C)	RI(15° C)	AV	IV	SV
<i>Lespedeza x chiiisanensis</i> T. LEE	0.928	1.474	2.35	128	181
<i>Amorpha fruticosa</i> seed	0.925	1.477	2.94	144	182
Soybean	0.927	1.475	0.30	134	193

SG : Specific gravity, RI : Refractive index, AV : Acid value, IV : Iodine value, SV : Saponification value

Table 5. Composition of total amino acid in *Lespedeza x chii-sanensis* T. LEE

Total amino acid	Contents (mg/100g protein)
Aspartic Acid	322.61
Glutamic Acid	616.25
Serine	183.86
Glycine	216.22
Histidine	155.12
Arginine	346.82
*Threonine	107.55
Alanine	-
Proline	181.41
Tyrosine	69.38
*Valine	166.64
*Methionine	34.74
Cystine	-
*Isoleucine	169.97
*Leucine	304.85
*Phenylalanine	86.53
*Lysine	197.90
*Tryptophan	-
Total	3159.85

*Essential amino acid

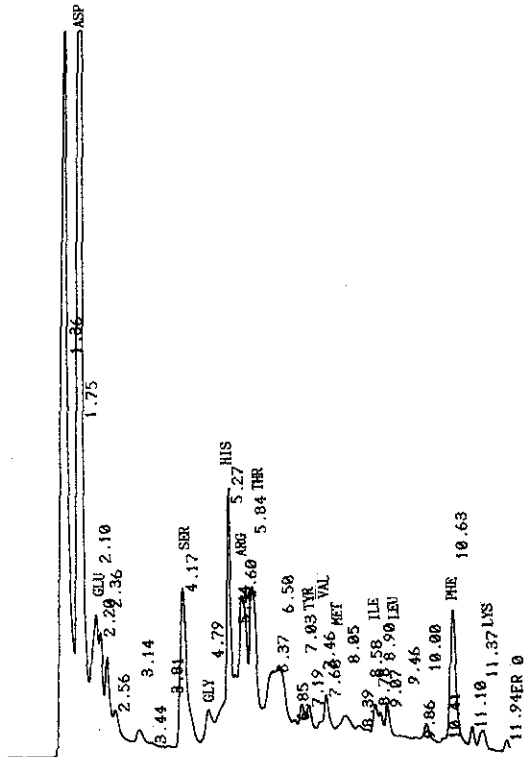


Fig. 1. Chromatogram of free amino acid in *Lespedeza x chii-sanensis* T. LEE by HPLC.

면 6N-HCl, 100°C로 24시간 비등 환류하여 가수 분해 시킬때 Thr이 약 5.3%, Serine이 10.5%, 또 2시간 가수 분해시 Cys, Tyr은 약 50% 파괴 된다는 점과 Trp 실험을 하지 않는 점을 감안 하였을때 자연상태에서 protein 중의 아미노산 조성량은 실험치의 총량 보다 더 많이 함유되어 있을 것으로 생각된다.

총 아미노산중의 필수 아미노산 총량은 1068.18 mg/100g으로 총 아미노산의 33.80%을 차지하며, 건조 대두¹⁹⁾ 14735mg/100g 보다 적게 함유되어 있음을 알 수 있었다.

지질 구성 지방산의 조성

Table 6과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 총 지방산의 함량은 C_{18:2}=45.05%로 제일 많이 함유되어 있고, C_{18:3}=18.71%, C₁₉=14.70%, C_{18:1}=6.81%, C₁₆=4.35%, C_{16:1}=1.59%순으로 함유되어 있다.

그리고 적은 양이지만 들고래, 인체, 미생물¹⁸⁾ 등의 유지에서만 발견된 탄소수 홀수 지방산 C₁₉=14.70%가 함유되어 있었고, 또한 불포화 지방산은 C_{16:1}=1.59%, C_{18:1}=6.81%, C_{18:2}=45.05%, C_{18:3}=18.71%,

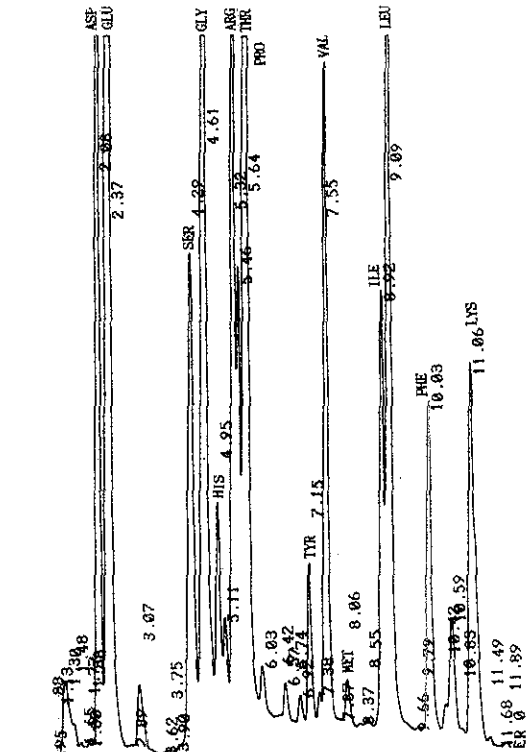


Fig. 2. Chromatogram of total amino acid in *Lespedeza x chii-sanensis* T. LEE by HPLC.

C22:1=0.28%로 함량이 72.44%이며, 대두¹⁶⁾ 81.36%, 족제비 씨리⁷⁾ 83.79% 보다 적으나 본 시료유의 지방산중 불포화 지방산이 주종을 이루고 있으며, 불포화 지방산중 필수 지방산(vitamin F)인 linoleic acid, linolenic acid가 63.76%로 대두¹⁶⁾ 55.37% 보다는 많이 함

유되어 있고, 족제비 씨리⁷⁾ 78.24% 보다 적게 함유되어 있음을 알 수 있었으나, 필수지방산이 많이 함유되어 있는 점으로 보아 식용으로도 가능성이 있다고 사료된다.

요 약

Table 6. Composition of fatty acid in the lipid of *Lespedeza x chiisanensis* T. Lee

Fatty acid	Contents (%)
Unknown	0.04
Palmitic acid (C16)	4.35
*Palmitoleic acid(C16:1)	1.59
Unknown	0.03
Stearic acid (C18)	1.08
*Oleic acid (C18:1)	6.81
Unknown	0.45
*Linoleic acid (C18:2)	45.05
Nonadecanoic acid (C19)	14.70
*Linolenic acid (C18:3)	18.71
Unknown	6.61
Arachidic acid (C20)	0.14
Unknown	0.16
*Erucic acid (C22:1)	0.28

*Unsaturated fatty acid

지리산 씨리의 유리 아미노산, 총 아미노산 조성과 총 지방산 조성을 규명하기 위해 gas chromatography와 HPLC를 사용하여 분리 정량한 결과는 다음과 같다. 조지방 함량은 11.13%이고, 조단백질 함량은 5.18%로 구성되어 있다. 유리 아미노산의 총 함량은 433.14mg/100g으로 구성되어 있으며, 유리 아미노산 중에서 필수 아미노산의 총 함량은 94.84mg/100g으로 21.90%를 차지하고 있다. 총 아미노산의 함량은 3159.85mg/100g으로 구성되어 있으며, 총 아미노산 중에서 필수 아미노산의 함량은 1068.18mg/100g으로 35.80%를 차지하고 있다. 총 지방산 조성은 C18:2가 45.05%로 제일 많이 함유되어 있고, C18:3=18.71%, C19=14.70%, C18:1=6.81%, C16=4.35%, C16:1=1.59%순으로 함유되어 있고, 탄소수 홀수 지방산이 14.70% 함유되어 있으며, 불포화 지방산이 72.44%이고, 필수 지방산은 63.76%를 차지하고 있는 결과로 볼 때 유지자원 및 사료의 자원으로 가치가 있다고 판단된다.

문 헌

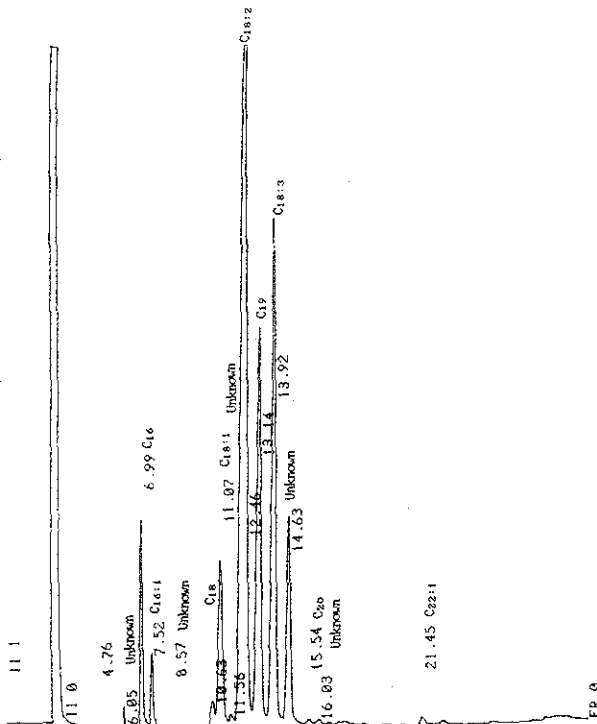


Fig. 3. Gas chromatogram of total fatty acid in the lipid of *Lespedeza x chiisanensis* T. Lee by GC.

1. 李昌福 : 대한식물도감. 향문사, p.468 (1989)
2. Ritter, G. J. : Wood fibers. *J. Forest.*, **28**, 4 (1930)
3. 宋柱澤, 朴萬奎, 金鏞哉 : 韓國資源植物總覽. 國際文化社, p.348 (1974)
4. Lee, S. Y. : *Chunchon Agricultural College Research Bulletin.*, **2**, 78 (1968)
5. 황병호, 이상영 : *Amorpha-fruticosa* 종자의 지방산 조성에 관한연구. 한국식품과학회지, **6** (2), 86 (1974)
6. 김향란, 고무석, 양희천 : 씨리종자의 지질성분에 관한연구. 한국영양식품과학회지, **16** (3), 75 (1987)
7. 이엽, 신호석 : 족제비 씨리종자의 지질성분에 관한연구. 한국식품과학회지, **9** (4), 284 (1977)
8. 박태규 : 전동 씨리의 성장과 질소 고정활성에 미치는 환경 요인의 영향. 경북대학교 교육대학원 생물교육 전공석사 학위 논문 (1991)
9. A.O.A.C. : *Official method of analysis*. 11th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D. C., p.224 (1970)
10. A.O.A.C. : *Official method of analysis* 13th, Association of official analytical chemists, Washington, D. C., p.15, p.126 (1980)

11. 波多野 博行 : アミノ酸 自動分析法. 日本, 化學同人, p.79 (1964)
12. Waters Associates : *Official method of amino acid analysis*. Amino acid analysis system of operators manual of the Waters Associates, U.S.A., p.37 (1983)
13. 波多野 博行 : アミノ酸 自動分析法. 日本, 化學同人, p.63 (1964)
14. A.O.C.S. : *Official and tentative methods of analysis*. American oil chemists society, 3rd ed., Champaign, IL., method Ce 1-62 (1973)
15. 수원 농촌진흥청. 식품분석표. p.22 (1981)
16. 김동훈 : 식품화학. 서울 탐구당, p.408 (1981)
17. Moore, S. : On the determination of cystine as cysteic acid. *J. Biochem.*, **235**, 633 (1960)
18. 김동훈 : 식품화학. 서울 탐구당, p.352 (1981)

(1993년 6월 28일 접수)