

## 옷나무 추출물 중 우루시올 동종체의 함량비 분석

조유미 · 정유경 · 김진산 · 이준배 · 팽기정\*

연세대학교 화학 및 의화학과  
(2008. 7. 8. 접수. 2009. 1. 3. 승인)

### The analysis of the urushiol congeners from the extracts of lacquer trees

Yumi Cho, Yu-Kyung Jung, Jinsan Kim and Joonbae Lee and Ki-Jung Paeng\*

Department of Chemistry and Medical Chemistry, Yonsei University, Wonju 220-710

(Received July 8, 2008; Accepted January 3, 2008)

**요 약:** 옷나무는 아시아지역 전역에 주로 분포하며 예로부터 도료 및 약용 식물로 많이 사용되어져 왔다. 특히 우리나라에서 재배되는 옷나무가 그 기능이 더욱 우수하다고 알려져 있는데 그 원인은 명확히 밝혀진 바가 없다. 우선 옷나무에서 우루시올의 추출을 위하여 나무는 soxhlet의 방법으로, 옷나무 추출물은 liquid-liquid extraction (LLE)의 방법을 이용하여 각각의 우루시올을 추출하였으며, 추출한 각 성분들은 high performance liquid chromatography/ultraviolet & visible detector system (HPLC/UV-Vis)에 먼저 적용하여 분리의 최적 조건을 찾았다. 그리고 각 성분에 대한 정확한 분석을 위하여 reverse phase liquid chromatography on-line electro spray ionization mass spectrometer (LC-MS/MS)를 이용하였으며 이를 바탕으로 분자량에 따른 성분 확인과 함량을 연구하였다. 이동상의 조건으로는 methanol : 0.1% formic acid : DDW를 929 : 1 : 70의 부피비로 사용하여 최적의 분리 조건을 얻었다. 이러한 LC의 조건으로 다시 LC-MS/MS에 적용하여 MRM의 방식으로 각각의 함량을 구할 수 있었다. 분자량에 따라 총 4종류의 우루시올 동종체들이 존재를 확인하였다. 본 연구를 통하여 한국산 옷나무 추출물의 경우 외국산 옷나무의 것 보다 겐시슬에 이중결합이 많은 우루시올 동종체의 함량이 많이 존재하며 그 전체적 비율이 높은 것으로 밝혀졌다.

**Abstract:** Active components of lacquer tree referred to as urushiol congeners, which are catechol derivatives with various alkyl or alkenyl substituents. The olefin side chains typically have one, two or three double bonds. In this study, the each congener's ratio analysis of extracts from korean lacquer tree are compared to the one from other asian lacquer tree. Extraction was performed using liquid-liquid extraction (LLE) method with soxhlet system from tree's bark and sap. Extracts were analyzed by reverse phase liquid chromatography and on-line electro spray ionization mass spectrometry (LC-MS/MS).

**Key words :** lacquer tree, extracts, urushiol congeners, LC-MS/MS, analysis

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)33-760-2239 Fax : +82-(0)33-760-2182

E-mail : paengk@yonsei.ac.kr

## 1. 서 론

옷이 어떠한 화학 도료보다 뛰어난 성질을 가지고 있으며 인체에는 무해한 무공해 천연 도료로 알려지면서 많은 주목을 받게 되었다. 예로부터 우리의 선조들은 나무로 만든 도구에 옷칠을 하면 표면이 견고하고 단단해 지는 것을 알고 이를 이용하여 가구 및 목재류에 칠을 하여 사용하여 왔다.<sup>1,2</sup> 뿐만 아니라 옷은 예로부터 식용 및 약용으로도 이용되어 왔다. 어혈 제거, 구충 및 위장질환 등의 민간요법으로 사용 되어져 왔었던 기록이 남아 있으며 오늘날에도 여전히 여름철 보양식으로 옷을 이용한 요리인 옷담과 옷오리 등이 식용에 이용되고 있다. 최근에는 옷 성분에 강한 항암, 항산화 작용 및 항균활성이 있는 것으로 보고가 되어져 이를 이용한 드링크 음료들이 시판되고 있다.<sup>3</sup>

우리나라와 중국, 일본산 옷나무의 수액 또는 생칠(옷)은 우루시올(Urushiol), 고무질, 질소를 함유한 화합물, 물 등으로 구성되어 있으며 이로부터 수분을 적당히 제거한 정제 칠에는 높은 농도의 우루시올이 함유되어 있다고 보고되어 있다.<sup>4-6</sup> 우루시올의 화학구조는 벤젠환에 2개의 수산기를 갖는 카테콜(catechol)화합물에 탄소 수 15개인 긴 지방산을 곁가지(R)가 곁합된 것이다(Fig. 1). 곁가지에 있는 이중결합의 수와

결합 형태에 따라 다양한 우루시올 유도체가 존재한다. 곁가지 R의 주 형태는 4가지로 U1은 단일결합으로만 이루어진 형태이고 U2는 이중결합이 하나 포함된 형태, U3은 이중결합이 두 개, U4는 이중결합이 세 개 포함된 구조를 나타낸다. 그러나 우리나라 및 중국과 일본에서 재배되는 옷과는 달리 동남아 지역에서 재배되는 옷나무로부터 얻은 옷은 비슷한 구조이지만 독성이 아주 강해 인체에 유해한 티스올(Thitsiol)과 락콜(Lacchol)이 옷 추출물의 주요 성분이다.<sup>7</sup> 현재 우리나라 원주 지역의 옷나무에서 채취한 옷의 품질이 우수하다고 알려져 있으나,<sup>8</sup> 이는 옷의 주성분인 우루시올의 함량에 의해 옷의 품질이 달라진다는 예상은 있으나 그 명확한 증거는 아직 밝혀지지 않았다. 또한 이를 위한 우루시올 이성체 성분에 대한 정밀한 조사는 보고된 바 없다.

옷의 성분 중 우루시올에 대한 정밀 분석 연구는 19세기 후반부터 시작되었다. 처음에 일본에서 옷나무 수액을 대상으로 연구가 시작되었고 미국에서는 피부염을 일으키는 물질을 분석하려는 연구가 시도된 후 많은 연구가 진행 되어져 왔다. 1950년대 Dawson은<sup>9</sup> 우루시올들을 분리하여 3번 곁사슬의 불포화도에 따라 4개의 물질을 확인하였다. 또 Dawson은 다른 논문에서<sup>10</sup> 옷 추출물중의 천연 물질을 우루시올이라 총칭

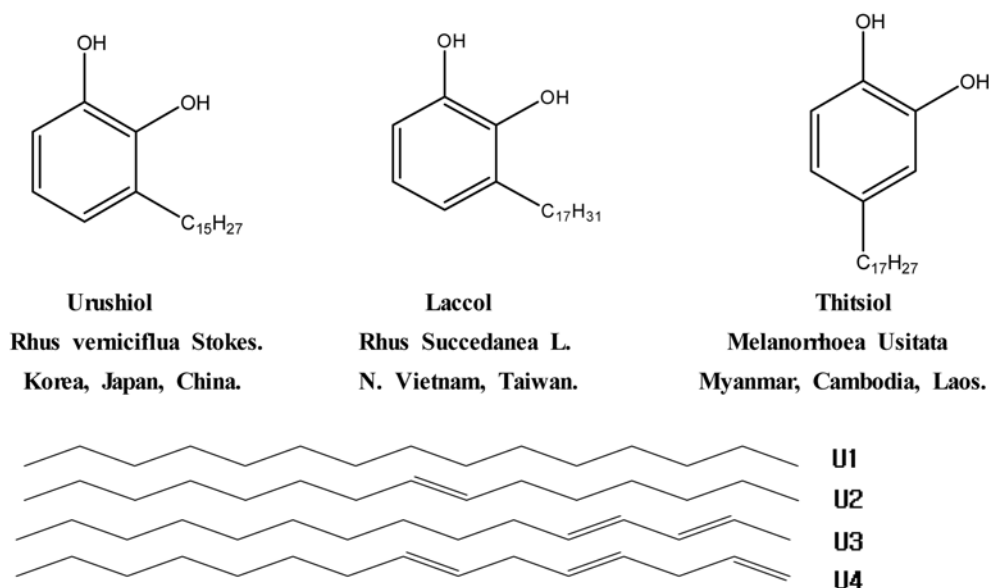


Fig. 1. Structures of urushiol and its side chains (U1 has only single bond, U2 has one double bond, U3 has two double bonds, U4 has tree double bonds). Urushiol is from *Rhus vernicifera* in China, Japan, and Korea. Lacchol is from *R.succedanea* in Vietnam and Taiwan, and Thichiol is from *Melanorrhoea usitata* in Burma and Thailand and Western Poison oak.

하며 3번 탄소 결사슬에 따라 4가지의 명칭을 hydroushiol(I), urushiol(II), urushadienol(III), urushatrienol(IV)이라 명명하였다. Du 등은<sup>11</sup> 옷 추출물의 주성분이 재배지역에 따라 다르다는 것을 밝혔다. 1970년대 Craig 등은<sup>12</sup> 조직 부위별로 기체 액체 크로마토그래피(GLC)분석을 이용해 조성 및 함량 조사를 통해 조직 부위마다 우루시올 함량에 차이가 있다는 것을 밝혔다. Tyman 등은<sup>13</sup> GLC를 이용하여 우루시올 단량체의 조성을 조사하였고, Ma 등은<sup>14</sup> 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 통해 우루시올 단량체를 분리하였다. Yamauchi 등은<sup>15</sup> 10개의 우루시올 단량체를 분리하였고, Du 등은<sup>12,16</sup> 역상 액체 크로마토그래피와 GLC를 이용하여 옷나무의 수액으로부터 우루시올 단량체를 10개 이상의 성분으로 분리하고 확인하였다. Rivero-Cruz 등은<sup>17</sup> 초목 껍질로부터 분리한 우루시올 물질을 GC-MS로 분리, 확인하였다. Kim 등은<sup>18</sup> 옷 중의 우루시올의 성분을 조사하여 유전적, 환경적 요인이 옷의 질에 미치는 영향을 조사하여 우수 육종을 선발할 수 있다고 보고하였다.

최근, 옷의 부가가치가 확대됨에 따라 생산품의 품질을 정하여 확인할 수 있어야 하고 식품 및 의약품과 도료로의 수요 확대에 따라 향후 정확한 품질 평가가 요구되고 있다. 특히 질이 좋은 국산 옷이 비싼 것에 반해 중국 및 동남아 지역에서 수입되는 옷은 저렴하여 무분별한 수입이 예상이 되어진다. 그러므로 우루시올 등의 정밀 분석을 통한 옷 추출물의 등급이나 미량으로 존재하는 독성물질의 함유를 확인할 분석방법의 개발과 표준화가 요구되고 있다. 그러나 현재까지 한국 옷에 대한 정밀 분석 결과가 매우 부족하고 현재 표준 시료가 없는 상태에서 분석된 결과로 정확도를 신뢰하기 어려운 문제가 있었다. 또한 우리나라에서 재배되는 옷나무가 그 기능이 더욱 우수하다고 알려져 있는데 그 원인은 명확히 밝혀진 바가 없으며, 국산 및 외국산 옷나무에 대한 성분의 정밀 비교 분석결과도 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 옷나무 수액에서 우루시올의 효과적인 추출법, 우루시올 동종체들의 분리 및 정밀 분석법을 HPLC 및 LC-MS/MS를 이용하여 개발하였으며, 이를 이용하여 분자량에 따른 성분 확인과 함량을 연구하였다. 또한 옷 가공 등급이 우수하다고 판명된 국산 옷과 우루시올의 총 함량은 더 많으나 옷 가공 자체의 등급평가는 낮은 외국산 옷 중 동종체의 함유 비율에 따른 차이를 조사하여, 이 값으로 우루시올 함량 이외에 옷 추출물들의 등급을 확인할 수 있

는지에 대하여 가능성을 탐색하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

본 실험에서는 2006년 8월에 채취한 원주산 옷나무 수액을 원주 옷 영농조합으로부터 구매하여 사용하였다. 비교를 하기 위한 외국산 옷나무 수액은 이미 정제과정을 거쳐 시중에 판매되는 것으로 경동시장에서 구매하여 사용하였다. 옷나무는 2006년 옷 채취 작업이 끝난 후 베어진 국산 옷나무 껍질과 2005년도에 한국으로 수입된 것으로 추정되는 옷나무 껍질을 2007년 5월 경동시장에서 구매하여 사용하였다.

추출 시 사용한 용매 및 이동상으로 사용한 용매는 모두 HPLC등급으로 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)사의 methanol, toluene, acetone, n-hexane, ethyl acetate 등을 사용하였고 Fluka (Buchs, Switzerland)사의 formic acid를 사용하였다. 실리카겔은 Merck (KGaA, Darmstadt, Germany)사의 0.040-0.063 mm for chromatography (230-400 mesh ASTM)를 사용하였으며, 각 용매와 3차 증류수는 모두 pore size 0.45 µm의 Millipore (Bedford, MA, USA)사의 membrane filter로 여과한 후 Cole-Parmer (Vernon Hills, IL, USA)사의 ultrasonic processor 8893으로 30분간 공기를 제거한 후 사용하였다.

본 실험에서 soxhlet을 하기위한 thimble filter는 Toyo Roshi Kaisha (Tokyo, Japan)사의 Advantec (28 mm I.D.×100 mm)을 사용하였다. 추출한 시료의 여과를 위하여 syringe filter는 Whatman (Maidstone, England)사의 0.45 µm 크기 filter를 사용하였다.

### 2.2. 기기

본 연구에서는 혼합물 형태의 각 시료들의 성분을 분리하고 그 분리한 성분의 분자량 및 함량을 구하기 위하여 LC-MS/MS를 사용하였다. 이때 사용한 LC는 Agilent (Minnesota, USA)사의 1100 Series이고 여기에 Applied Biosystem (Foster City, CA, USA)사 API2000 모델의 triple-quadrupole mass spectrometer를 사용하였다. 실험에서 사용한 이온화법은 ESI/negative ion 모드였고, Agilent (Santa Clara, USA)사의 ZORBAX 300SB-C18 (4.6 mm I.D.×150 mm length, particle size 5 µm) 컬럼을 사용하였다. 시료의 추출을 위해서 초음파분쇄기를 사용하였고, 원심분리기는 한일(경기도, Korea)사의 MF 80을 사용하였다. 시료의 혼합을 위해

서는 Thermolyne (Dubuque, IA, USA)사의 m37615 vortex mixer를 사용하였고, 추출 후 시료의 농축을 위해서는 EYELA (Miyagi, Japan)사 N-1001S-W 모델의 rotary vacuum evaporator를 사용하였다. 사용한 분광기로는 UV 흡수 파장을 확인하기 위하여 Perkin Elmer (Shelton, USA)사의 Lamda 25 UV-Vis spectrometer를 사용하였다.

### 2.3. 분석 방법

2.3.1. 옷나무 또는 옷 수액으로부터 옷 추출물 제조  
본 연구에서는 먼저 옷나무로부터 추출물 시료를 제조하기 위하여 한국과 외국산 옷나무 껍질에 soxhlet의 방법을 응용하였다. 외국과 한국산 1 g의 옷나무 껍질을 320 mL의 methanol과 toluene으로 각 12시간 동안 추출하였다. 추출한 시료는 syringe filter로 거른 후 증발기로 용매를 증발시킨 후 무게를 측정하여 methanol로 희석하여 ppm 단위의 농도로 희석하였으며 HPLC 및 LC-MS/MS에 직접 적용하였다. 또한 외국과 한국산 옷 수액은 methanol과 acetone을 사용하여 Fig. 2의 순서로 액체-액체 추출법(LLE)을 사용하여 추출물 시료를 제조하였다.<sup>19</sup> 다만 메탄올에 의한 용매추출법은 이미 발표된 논문<sup>20</sup>에 따라 1차적으로 아세톤으로 추출 후 그 후 다시 메탄올로 추출을 하였다. 그러나 아세톤에 용해시킨 후 용해된 부분만 얻은 후 메탄올로 추출한 방법과 처음부터 메탄올로 추출 시 얻어진 결과를 비교한 결과 후자에 더 좋은 결과 있어 본 연구에서는

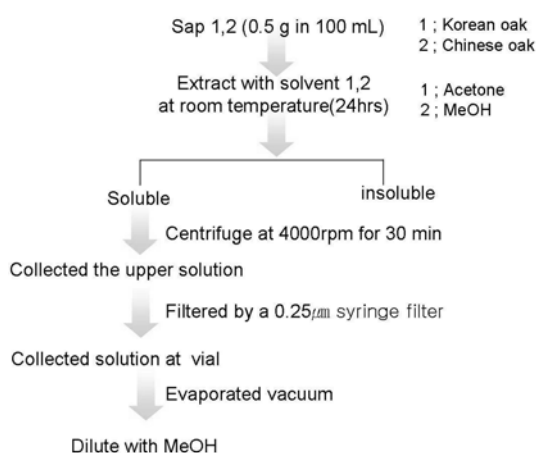


Fig. 2. Schematic presentation of the used purification procedure for urushiol congeners from lacquer tree's sap.

Table 1. Operating conditions for HPLC

Column : ZORBAX 300SB-C18 column (4.6×150 mm, 5 µm, Agilent)
Flow rate : 0.7 mL/min
Mobile phase
1 : solvent A : 100% methanol
2 : solvent B : 929: 1: 70 = methanol : 0.1% formic acid : DDW (v/v/v)
Run time : 20 min
Injection volume : 20 µL
$\lambda_{\max}$ : 208 nm
Column temperature : ambient

methanol 추출법만 선택하여 사용하였다. 각각의 옷 수액 0.5 g을 100 mL의 용매에 녹인 후 상온에서 24 시간 동안 유지 시킨 후 용매에 녹은 부분과 녹지 않은 부분을 나눈 후 다시 녹은 부분만을 rpm 4000에서 30분 동안 원심 분리한다. 원심 분리 후 상층액만을 모아 syringe filter로 여과 한 후, soxhlet시와 같은 방법으로 시료를 제조하였다.

#### 2.3.2. HPLC를 이용한 우루시올 분리 조건

추출한 우루시올은 C<sub>18</sub>컬럼을 사용한 HPLC에서 분석이 시도되었으며 이 때 이동상은 100% methanol을 사용하였다. 검출 파장은 208 nm를 사용하였다. 그러나 이 경우 각 피크들이 너무 일찍 검출되고 또 각 피크들이 거의 분리가 되지 않고 겹쳐져 나왔다. 따라서 이를 해결하기 위하여 HPLC의 이동상의 조건을 929: 1: 70=methanol: 0.1% formic acid:DDW (v/v/v)의 비율로 바꾸어 분석하였다. 이때 사용한 HPLC의 분석 조건은 Table 1에 수록하였다.

#### 2.3.3. LC-MS/MS를 이용한 동종 우루시올의 분리 조건

HPLC에서 분리 조건을 설정한 뒤 이 조건으로 LC-MS/MS에 적용하여 분리 및 분석하였다. HPLC로 완전한 분리 조건을 최적화하기 전 LC-MS를 이용하여 scanning 범위를 full mode로 하여 시료 속에 포함된 전체 분자량에 대한 정보를 확인하였다. 4종류의 우루시올의 각 분자량에 따른 함량을 구하기 위하여 multiple reactions monitoring (MRM) mode를 사용하였으며, 이를 위해서 4종류의 각 모 이온들을 선택하여 시료 주입 후 direct tune mode로 각 분자량에 따라 조각 이온들을 확인하였다. Table 2에 본 연구의 LC-MS/MS의 조건을 수록하였다.

Table 2. Operating conditions for LC-MS/MS

LC conditions	
Column	ZORBAX 300SB-C18 column (4.6×150 mm, 5 μm, Agilent)
Flow rate	0.25 mL/min
Mobile phase solvent A	929 : 1 : 70 = methanol : 0.1 % formic acid : DDW (v/v/v)
Total Run time	25 min
Injection volume	10.0 μL
MS/MS conditions	
Ion source type	electrospray ionization (ESI), API source
Ionization mode	negative ion mode
Scan range	m/z 310~320
Source temperature (TEM) (°C)	25
Ion source gas (gas 1) (psi)	15.0
Heater gas (gas 2) (psi)	5.0
Curtain gas (CUR) (psi)	15.0
Collision gas (CAD) (psi)	4.0
Ion spray voltage (IS) (V)	-4500.0
Collision energy (CE) (V)	-40.0
Declustering potential (DP) (V)	-60.0
Focusing potential (FP) (V)	-400.0
Entrance potential (EP) (V)	-10.0
Collision cell entrance potential (CEP) (V)	-40.0
Collision cell exit potential (CXP) (V)	-3.0
Ion transition Q1 → Q3 (m/z)	313, 315, 317, 319 → 122

### 3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 옻나무로부터 주성분인 우루시올 동종 물질들을 추출하여 LC-MS/MS를 이용하여 성분의

함량을 조사하였다. 흔히 정성분석에서 많이 사용되는 GC-MS는 큰 극성을 가지고 있거나 휘발성이 거의 없거나 혹은 열적으로 불안정한 물질의 분석에는 용이하지 않다. 뿐만 아니라 극성 작용기를 가지고 있는 경우 유도체화를 하여 분석해야 한다는 번거로움이 있었다. 이러한 번거로운 시료처리의 작업 없이 더욱 광범위한 물질들을 분석할 수 있는 것이 바로 LC-MS이다. 특히 아주 유사한 동종체 분석을 위해 분자량으로 시료를 분리해 낼 수 있는 LC-MS/MS를 이용하여 우루시올 동종 물질들의 검출을 시도하였다.

#### 3.1. 우루시올의 분리 최적화

본 연구에서 추출된 우루시올 시료를 추출 조건 그대로 질량분석법에 적용할 경우 각 성분의 머무름 시간이 거의 같아서 분리가 잘 이루어 지지 않았다. 따라서 분리도를 조금 증가할 수 있도록 이동상을 최적화 하는 것이 필요하였다.

이동상으로 methanol 만을 사용할 경우 Fig. 3의 A 처럼 각 성분들이 제대로 분리가 되지 않을 뿐 아니라 컬럼과의 상호작용이 거의 없어 전반적으로 너무 앞에서 분리되어 나오는 것을 알 수 있었다. 이처럼 컬럼에 의해서 1차적인 분리가 되지 않는다면 머무름 시간이 겹쳐져 LC-MS를 이용하더라도 각각의 성분이 갖는 면적에 대한 정확한 비율을 구할 수가 없다. MS에 주입되기 전 컬럼에 의해 각 동종체들이 분리가 되어야 분자량에 따라 각 성분의 함량을 정확히 구할 수 있다. 본 연구에서는 이중결합을 3개 가지고 있는

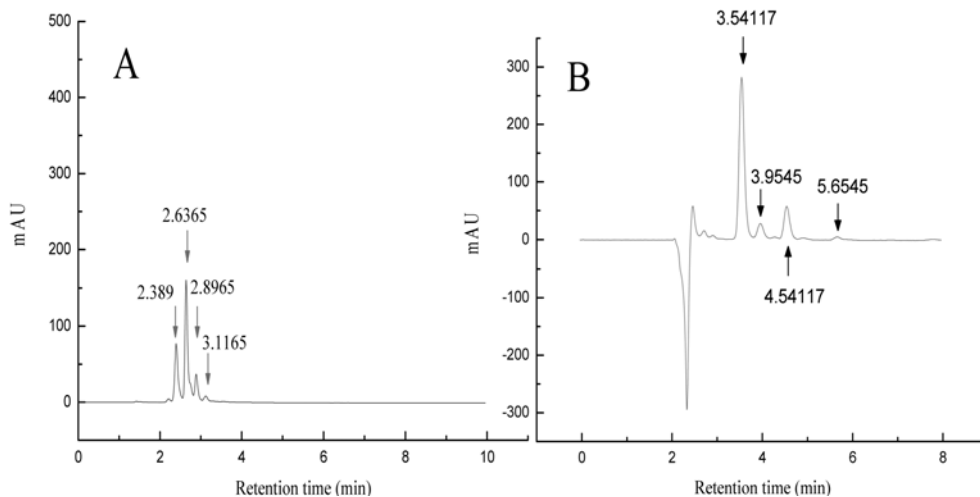


Fig. 3. Chromatograms of extracts from korean lacquer tree's sap with methanol by LLE. Chromatograms A and B are distinguished by mobile phase. ( $\lambda_{max}$  : 208 nm, mobile phase : 100% methanol (A), methanol : 0.1% formic acid : DDW = 929 : 1 : 70 (v/v/v) (B), flow rate : 0.7 mL/min)

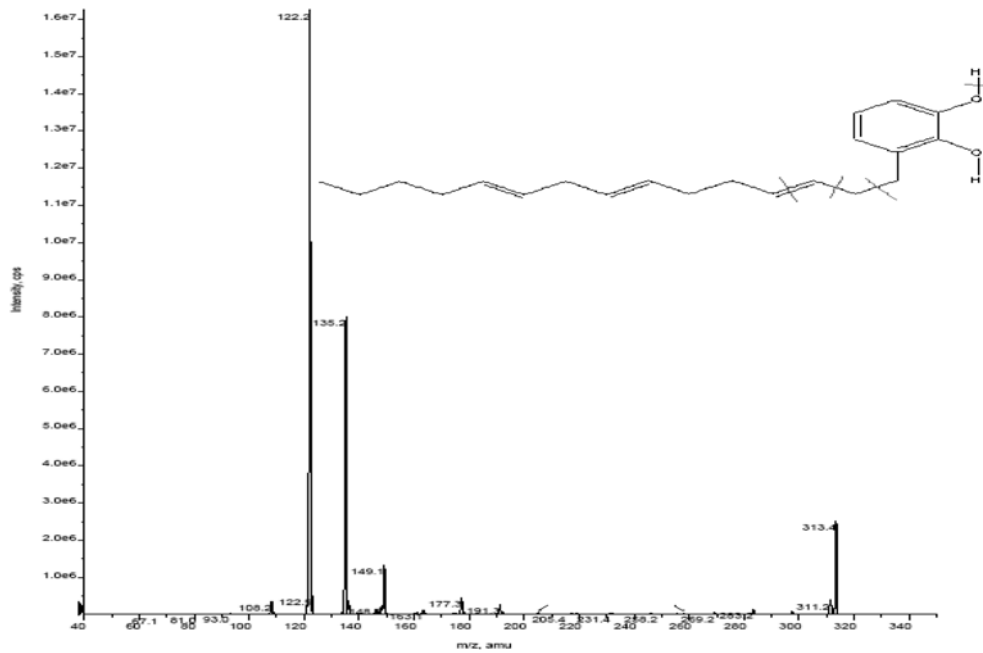


Fig. 4. Fragmentation of 313 m/z molecular ion in urushiol by MS/MS. This urushiol congener's side chain is U4.

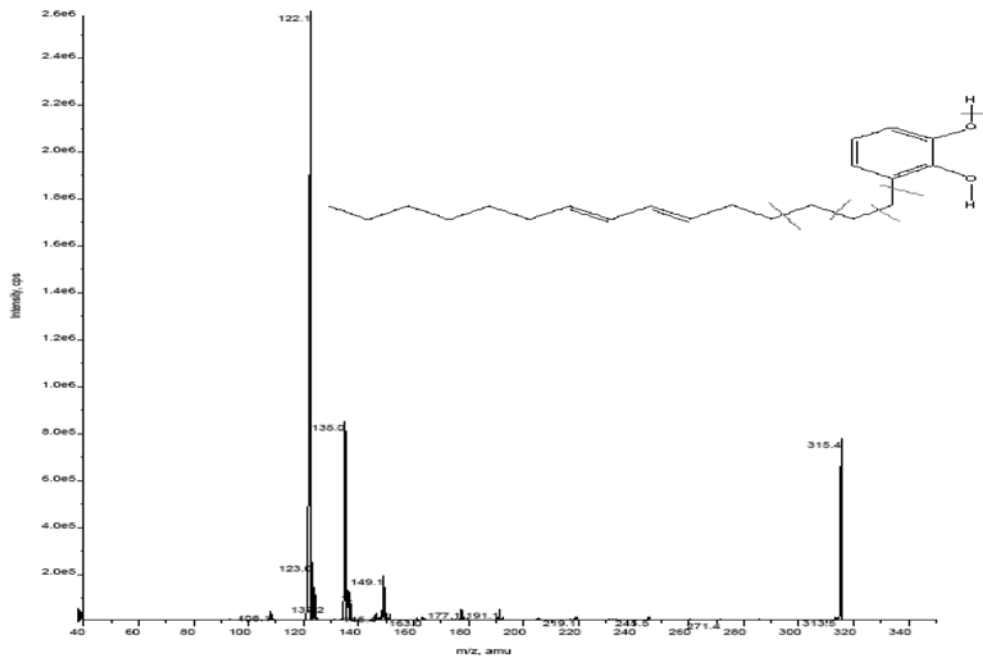


Fig. 5. Fragmentation of 315 m/z molecular ion in urushiol by MS/MS. This urushiol congener's side chain is U3.

우루시올로 molecular ion 313 (m/z)값을 가지는 우루시올의 면적, 두 번째 이중결합을 2개 가지고 있는 우루시올로 molecular ion 315 (m/z)값을 가지는 것의 면적 및 이중결합을 1개 가지고 있는 우루시올로

molecular ion 317 (m/z)값과 마지막 molecular ion 319 (m/z)값을 가지는 우루시올의 면적을 이용하여 함량비를 구하고자 하였으며 이를 위하여 이동상의 조건을 바꾸면서 분리도를 높이기 위한 실험을 하였다.

일반적으로 이동상에 산을 첨가하면 시료가 너무 앞에 나오는 것을 막을 수 있고 시료와 이동상인 methanol 간의 상호작용이 너무 빠르게 진행되어 분리가 잘 이루어지지 않는 경우 methanol의 이동상에 물을 첨가하면 시료와 컬럼 간의 상호작용이 조금 천천히 진행될 수 있도록 돕는다. 따라서 본 연구에서는 산을 첨가하여 시료가 검출되기 시작하는 시점을 조금 낮추기 위하여 formic acid를 첨가하였고 이동상에 물을 첨가하여 새로운 이동상의 조건을 만들었다. 여기서 얻어진 최적의 이동상 조건은 methanol : 0.1% formic acid : DDW = 929 : 1 : 70으로 부피비의 조건이었다. 이를 적용하여 실험 후 Fig. 3의 크로마토그램을 얻었다. 표시된 각 시간에 따라 3.5411분에 검출된 peak는 side chain에 이중결합을 3개를 포함한 우루시올 동종체의 것이고 3.9545분에 검출된 peak는 side chain에 이중결합을 2개를 포함한 우루시올 동종체의 것이다. 그리고 세 번째 4.5411분에 검출된 peak는 side chain에 이중결합 1개를 포함한 우루시올 동종체의 것이다. 마지막으로 5.6545분에 검출된 peak는 side chain이 단일결합만으로 이루어진 우루시올 동종체의 peak로 이는 아주 미량이 포함되어 있어 잘 보이지는 않았다. 이 이동상 조건은 후에 LC-MS/MS에도 적용하였다.

3.2. LC-MS/MS를 이용한 우루시올의 검출

옷나무 수액을 methanol을 이용하여 용매추출법으로 우루시올을 추출하였다. 그리고 추출한 시료는 methanol로 희석하여 시료를 제조하였고 제조된 시료는 methanol : 0.1% formic acid : DDW=929 : 1 : 70의 부피 비로 제조된 이동상으로 HPLC 컬럼에서 1차적으로 분리되었다. 시판되는 표준물질이 없는 우루시올은 GC-MS를 비롯한 다른 여러 분석방법들을 적용한 경우 정확한 정량이 매우 어려웠다. 따라서 본 연구에서는 우루시올에 포함된 각 성분들의 함량의 비율을 더욱 더 정확하게 조사하기 위하여 LC-MS/MS를 사용하였다.

본 연구에서 사용하는 multiple reactions monitoring mode (MRM) 방식을 적용하기 위해서는 먼저 각 성분들의 특정 조각 이온의 값을 결정해야한다. 1차적으로 쪼개어 졌을 때 얻게 되는 각각의 m/z값을 하나씩 설정하여 tune 방식으로 인위적으로 다음 MS에서 쪼개어 주어 그때 생기게 되는 조각이온을 보고 그 중에서 적절한 조각이온 m/z값을 결정하는 것이다. LC-MS의 경우 일반적으로 1차 MS에 의해 쪼개어져 얻어지는 ion의 m/z값은 molecular ion의 m/z값이다. 따라서 본 연구에서는 각 성분의 molecular ion의 m/z값인 313, 315, 317, 319를 1차 MS에 의해 얻어지는 m/

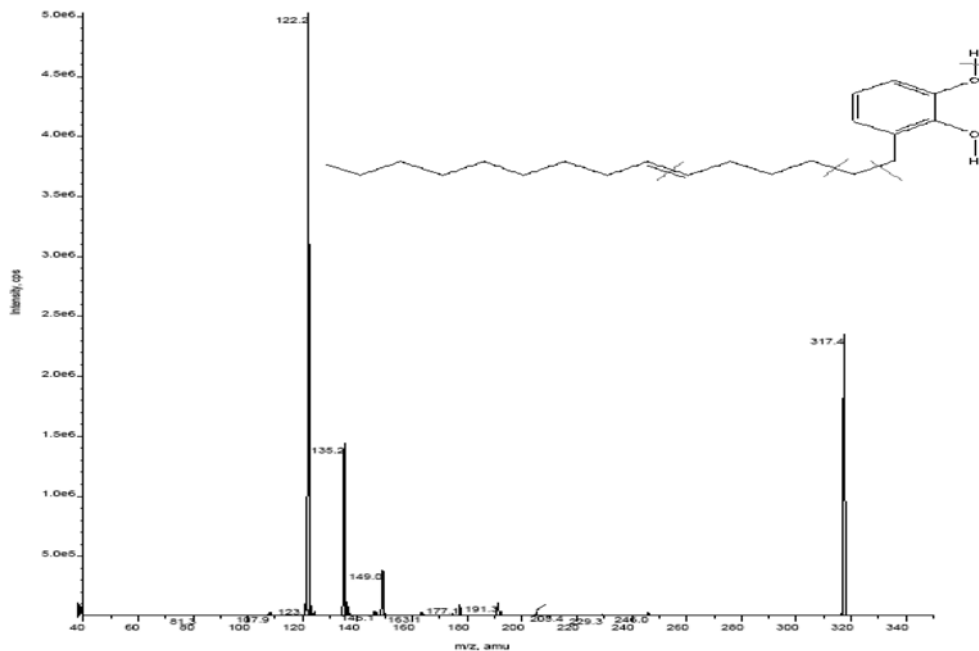


Fig. 6. Fragmentation of 317 m/z Molecular ion in urushiol by MS/MS. This urushiol congener's side chain is U2.

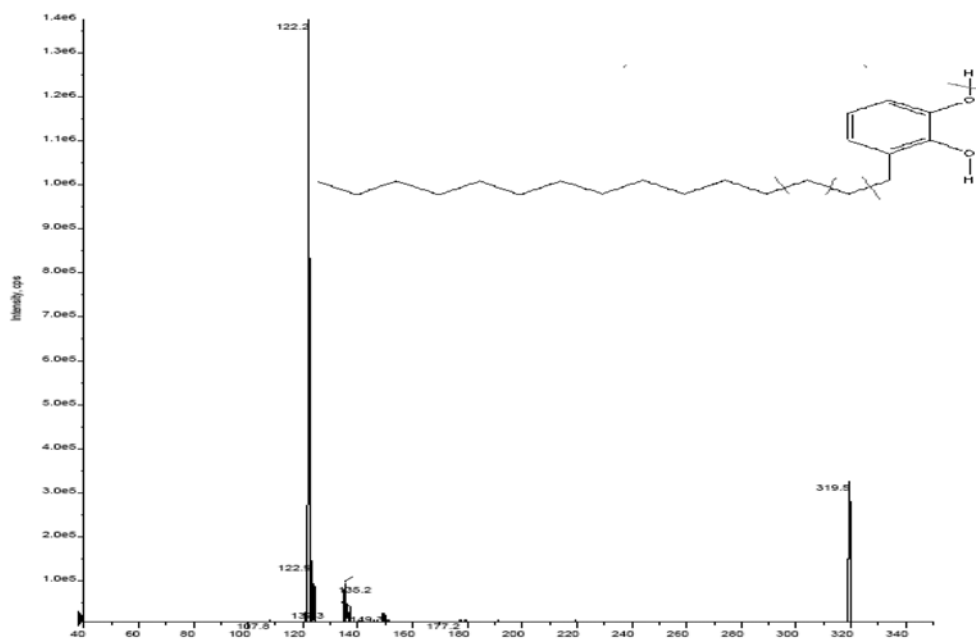


Fig. 7. Fragmentation of 319  $m/z$  Molecular ion in urushiol by MS/MS. This urushiol congener's side chain is U1.

$z$ 값으로 결정하고 각각의  $m/z$ 값만 하나씩 통과시켜 그들의 조각 이온을 조사하였다.

Fig. 4부터 Fig. 7은 각 성분들이 2차 MS에 의해서 가지게 되는 조각이온의  $m/z$ 값을 나타낸 것이다. 이 실험을 통하여 우루시올의 각 성분의 molecular ion인 313, 315, 317, 319  $m/z$ 값들이 가지는 조각 이온들을 알 수 있었다. 모든 성분이 가장 높은 감도의 조각 이온 값으로 122  $m/z$ 를 가지고 있어 이 값이 쪼개질 때 얻어지는 product ion의 값으로 결정하였다. 각 molecular ion  $m/z$ 값을 Q1에 설정하고 122  $m/z$ 값을 Q3에 설정하여 이 두 가지의 값을 동시에 만족하는 성분들에 의한 면적 값을 얻었다. 실험 시 외부 조건의 변화가 없도록 하기 위하여 각 조각 이온들을 얻기 위하여 설정한 파라미터들은 LC-MS/MS 적용 시에도 같은 조건으로 설정해 주었다. Table 3은 각 성분들의 함량을 알아보기 위하여 LC-MS/MS에 적용할

때 사용된 각각의  $m/z$  값을 정리한 것이다.

### 3.3. LC-MS/MS를 이용한 우루시올 동종체간의 함량비 분석

위의 조건을 통하여 외국산과 한국산 옻나무 수액 으로부터 얻은 우루시올 추출물을 실험에 적용하였고 MRM mode로 얻게 된 각각의 성분의 면적에 대한 크로마토그램을 Fig. 8에서 얻을 수 있었다. 첫 번째 peak는 결사슬에 이중결합 3개의 Fig. 1의 U4구조의 우루시올의 함량을 나타내는 것이고 두 번째 peak는 결사슬에 이중결합이 2개 포함된 Fig. 1의 U3구조의 우루시올 함량을 나타낸 것이다. 그리고 세 번째 peak는 결사슬에 이중결합을 1개 포함하고 있는 Fig. 1의 U2구조의 우루시올 함량을 나타낸 것이고 마지막 peak는 결사슬이 단일결합으로만 이루어진 Fig. 1의 U1구조의 우루시올의 함량을 나타낸 것이다.

실제적으로 우루시올 동종체의 표준물질들을 구입하거나 확보하기가 거의 불가능한 상태이기에 LC-MS/MS의 MRM을 통하여 얻어진 면적을 통하여 우루시올 각 성분들의 함량비를 이용하여 그 질을 추정하고자 하였다. 실험 결과 이중결합이 3개인 우루시올이 한국산과 외국산 모두에 제일 많이 존재한다는 것을 알 수 있었다. 그리고 두 번째로 많이 존재하는 우루

Table 3. MS/MS data of urushiol by direct tune mode

Urushiols	Fragmentation ( $m/z$ )	( $m/z$ ) for MRM
C=C * 3	313, 149, 135, 122	Q1 : 313, Q3 : 122
C=C * 2	315, 149, 135, 122, 108	Q1 : 315, Q3 : 122
C=C * 1	317, 191, 149, 135, 122	Q1 : 317, Q3 : 122
C=C * 0	319, 149, 135, 122	Q1 : 319, Q3 : 122



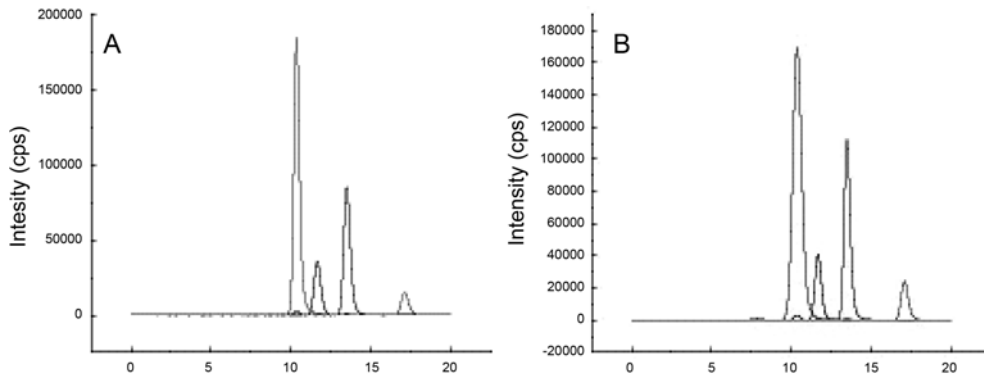


Fig. 8. LC-MS/MS MRM chromatogram of urushiol congeners extracted from korean (A) and chinese (B) lacquer trees.

시올은 이중결합이 1개 존재하는 우루시올로 이 또한 외국산과 한국산 모두 같다는 결과를 얻었다. 즉, 한국산과 외국산 모두 전체적으로 존재하는 우루시올의 각 성분의 양은 비슷함을 알 수 있었다.

그러나, 모든 우루시올 성분들이 많이 존재한다고 하여 그것의 질이 우수하다고 판단하기는 어렵다. 일부에서 외국산 옷나무 수액을 정제하여 우루시올 성분만을 농축하여 칠공예에 사용할 때 그것의 질이 특별히 높아지지 않았기 때문이다. 즉 단순한 우루시올의 함량만으로 한국산 옷의 우수성을 설명하기는 어려웠다. 본 연구에서는 우루시올의 성분 중 일정 성분의 함량에 따라 그 질이 결정될 수도 있다고 판단하였다. 특히 이중결합이 고분자화 등에 많은 영향을 미치기에 이중결합을 많이 가진 우루시올 동종체일수록 높은 품질의 칠 막을 형성한다고 생각해 볼 수 있다. 따라서 외국산과 한국산 옷나무 수액의 질적 우수성을 판단하기 위하여 각 성분들의 존재에 대한 함량의 비율을 구하는 것이 필요하였다. 따라서 각 성분 중 가장 미량으로 존재하는 단일결합으로만 된 우루시올의 양을 기준으로 다른 우루시올의 존재 비율을 구하였다.

Fig. 9에서 나타내듯이 한국산 옷나무 수액의 경우 가장 작게 존재하는 단일결합(U1)의 우루시올보다 이중결합이 3개(U4)인 우루시올의 비율이 외국산의 것보다 높다는 것을 알 수 있었다. 옷 가공 등급이 우수하다고 판명된 국산 옷과 우루시올의 총 함량은 더 많으나 옷 가공 자체의 등급평가는 낮은 외국산 옷 중 동종체의 함유 비율에 따른 차이를 조사하여, 이 값으로 우루시올 함량을 비교, 평가하는 것 이외에 옷 추출물들의 등급을 확인할 수 있는지에 대하여 가능성을 확인하였다. 즉, 본 실험에서 사용한 외국산의

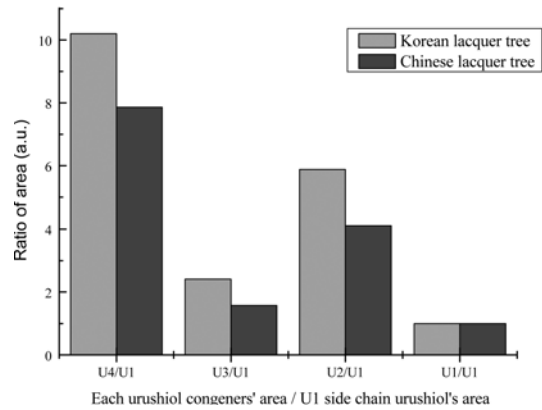


Fig. 9. Ratio of content from each component in 100 µg/mL of urushiol congeners extracted from korean and chinese lacquer trees. Value of criterion was content of urushiol congener's area that has U1 side chain. (n = 5)

경우 이미 정제과정을 거친 후 수입된 것이기에 전체적으로 단지 농축된 것 일 뿐으로, 우루시올의 함량이 많아도 가공등급이 높지 않은 일부 외국 산 옷에 대한 과학적인 판단을 할 수 있을 것으로 기대되었다.

이상과 같이 얻어진 연구 결과는 미량 독성물질의 검출 및 외국산 옷나무와 한국산 옷나무의 가공 등급을 평가하기 위한 유용한 자료로 사용될 수 있을 것이라 판단된다.

### 감사의 글

논문은 연세대학교 학술연구비(2006)의 연구비용을 일부 지원받았습니다. 이에 감사드립니다. LC-MS/MS 기기를 사용하게 허락하여 주시고 결과에도 많은 조

언을 해주신 포항공대 장윤석 교수에게도 깊은 감사를 드립니다.

### 참고문헌

1. 박영규, “목칠공예”, 솔, p. 50-53(2005).
2. J. Kumanotani, *Prog. Org. Coat.* **26**, 163-195(1995).
3. 최진규, “약이 되는 우리 풀 · 꽃 · 나무 2”, 한문화, p. 148-156(2001).
4. R. Oshima and J. Kumanotani, *Carbohydr. Res.*, **127**, 43-57(1984).
5. L. Rong, *Progress in Organic Coatings.*, **51**, 238-243 (2004).
6. M. J. Kim, *J. Korea. Plant. Res.*, **11**, 70-79(1998).
7. P. D. Adawadkar and M. A. ElSohly, *Phytochem.*, **22**, 1280-1281(1983).
8. M. J. Kim, Y. H. Choi, and S. S. Kwak, *J. Korea Plant. Res.*, **11**, 40-46(1998).
9. C. R. Dawson, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2959-2963(1954).
10. C. R. Dawson, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5070-5074(1954).
11. Y. Du and R. Oshima, *J. Chromatogr.*, **284**, 463-473 (1984).
12. J. C. Craig and C. W. Waller, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 483-485(1978).
13. J. H. P. Tyman and A. J. Matthews, *J. Chromatogr.*, **235**, 149-164(1982).
14. C. Y. Ma, *J. Chromatogr.*, **200**, 163-169(1980).
15. Y. Yamauchi and R. Oshima, *J. Chromatogr.*, **243**, 71-84(1982).
16. Y. Du and R. Oshima, *J. Chromatogr.*, **295**, 179-186 (1984).
17. J. F. Rivero-Cruz, D. Chavez, B. H. Bautista, L. A. Ana and R. Matat, *Phytochem.*, **45**, 1003-1008(1997).
18. M. J. Kim, *J. Breed. Korea*, **29**, 115-123(1997).
19. J. H. P. Tyman, *Chem. Soc. Rev.*, **8**, 499-537(1979).
20. 윤중국, 박사학위논문, 배재대학교, p. 30(2005).