

白茯苓, *White Poria cocos*, 中の 脂肪酸 成分에 관한 研究

文順九 · 朴相信 · 閔泰鎮

東國大學校 理科學 化學科

Studies on the Fatty acids in the *White Poria cocos*

Soon-Ku Moon, Sang-Shin Park and Tae-Jin Min

Department of Chemistry, College of Science Dongguk University, Seoul 100, Korea

ABSTRACT: The qualitative and quantitative analysis of fatty acids in the Korean *White Poria cocos*(Schw.) Wolf were performed. Dry powder of sample was extracted with chloroform-methanol(2 : 1, v/v) mixed solvent. The extract was saponified and methylated, and then analyzed by gas chromatography. Total 24 peaks were observed in the gas chromatogram and 5 peaks i.e, C_{8:0} ; caprylic acid, C_{11:0} ; undecanoic acid, C_{12:0} ; lauric acid, C_{12:1} ; dodecenoic acid and C_{16:0} ; palmitic acid were identified. Major components were C_{8:0} and C_{12:1}, and were determined as 6.657 $\mu\text{g/g}$ and 10.176 $\mu\text{g/g}$ respectively.

KEYWORDS: *Poria cocos*(Schw.) Wolf, Caprylic acid, Dodecenoic acid.

복령, *Poria cocos*(Schw.) Wolf 은 구멍장이 버섯과에 속하는 버섯의 일종으로 소나무의 땅속 뿌리에서 자생하며, 예로부터 한방 약재로서 널리 이용되어 왔다.

복령의 성분에 관한 연구는 균사체로부터 분리한 Polysaccharide 의 항암효과(Kanayama 등, 1983), Triterpenoids(Kanematsu 등, 1970a, 1970b), β -1,3-glucan 계통의 Pachyman(Saito 등, 1968), Triterpenoid 계통의 Pachymic acid, Tumulosic acid(Shibata 등, 1958) 등이 보고되어 있으며, Min 등은 복령 자실체중의 Carboxyl porteinase 를 분리정제하여 최적 온도, 최적 pH, 아미노산 조성 및 분자량 측정(Min 등, 1983) 등을 하였고, 리신, 페닐알라닌에 의한 억제효과(Min 등, 1986) 등을 보고한 바 있다. 또한 양송이 버섯의 지방산(Kim 등, 1978a), 나도조개버섯, 구름버섯, 구리빛그물버섯, 메꽃버섯 등의 스테롤(Kim 등, 1976, 1978b, 1978c, 1978d)등, 기타의 고등균류 등에 대한 성분 연구가 많이 보고되어 있다. 이처럼 고등균류의 지방산, 스테롤, 효소등에 관하여는 많이 보고되어 있으나, 풀썩이 다른 백복령 자실체중의 지방산 성분에 관한 연구는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 한국산 백복령중의 지방산 성분을 분석해본 결과, 다른 식물중에 많이 존재하는 Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid 등의 고급 지방산류는 거의 존재하지 않고, 저급 지방산인 Caprylic acid 및 Dodecenoic acid 등이 주지방산으로 존재함을 확인하였다.

材料 및 方法

재료 및 시약

강원도 양양에서 채취한 생복령, *White Poria cocos*(Schw.) Wolf 껍질을 벗겨 내고, 잘게 절단한 후 건조시켜 분말로 만들어 사용하였다.

추출용매로 사용한 methanol, chloroform 은 Hanawa Co.의 특급시약, ethyl ether 는 Tedia Co.의 A.C.S. grade 시약, BF₃-CH₃OH complex, dodecenoic acid 는 Tokyo Kasei Co.의 GC grade 시약을 사용하였으며, 지방산 표준시료(methyl caprylate, methyl nonanoate, methyl caprate, methyl undecanoate, methyl laurate, methyl tridecanoate, methyl myristate, methyl pentadecanoate, methyl heptadecanoate)는 Supelco Co. 제

품(GLC-70, 4-7044 및 GLC-80, 4-7045)을 사용하였다.

추 출

복령분말 시료 500g에 chloroform-methanol (2:1, v/v)의 혼합용매 6l를 가하고, 수욕상에서 72시간 동안 진탕 환류시켜 추출한 후, 추출액을 Rotary evaporator(Büchi Co. 제품)을 사용하여 감압 농축시켜 350 ml가 되게하였다.

지질의 비누화

추출 농축액 175 ml를 취하여 용매를 완전히 감압 증발시킨 후, 잔사에 10% 알콜성 KOH 500 ml를 가하고, 질소 기류중에서 75-85°C로 4시간 동안 비누화 시켰다. 용액중의 에탄올을 감압 증발시키고 잔사에 증류수 500 ml를 가한 후, ethyl ether로 4회 추출하고, 물층에 10% 염산을 가하여 산성으로 한 다음, ethyl ether 80 ml로 4회 추출하고, 무수 황산 마그네슘으로 탈수시키고 감압 건조하여 기름상의 잔사 0.58g을 얻었다.

지방산의 메틸에스테르화

위에서 얻은 시료에 methanol 20 ml를 가하여 녹인 다음, BF₃-CH₃OH complex(BF₃ 함량: 14%) 6.0 ml를 가하여, 질소 기류중에서 80-85°C로 5분간

Table I. Gas chromatographic data of the fatty acid methyl esters from Korean White *Poria cocos*(Schw.) Wolf

Peak No.	Ret.time (min)	Area (%)	Peak No.	Ret.time (min)	Area (%)
1	0.35	-	14	6.65	0.043
2	0.81	0.029	15	7.11	0.237
3	0.95	0.045	16	8.16	1.797
4	1.28	1.175	17	9.05	0.057
5	1.54	0.275	18	9.54	0.066
6	2.22	0.436	19	11.00	0.066
7	3.25	0.102	20	11.94	0.230
8	3.80	0.194	21	12.60	0.054
9	4.18	0.321	22	14.68	0.482
10	4.74	0.065	23	15.58	0.618
11	5.17	0.023	24	16.18	0.455
12	5.64	0.014	25	16.81	0.481
13	6.16	0.016			

가열하여, 메틸에스테르화 하였다(Metcalf 등, 1961). 반응액의 용매를 완전히 감압 증발시켜 얻은 잔사에 2% 중탄산나트륨 수용액을 가하고, 에칠에테르로 추출한 후 에테르층은 탈수, 감압 증발시켰다. 표준물질인 dodecenoic acid(C_{12:1})도 위의 방법에 따라 메틸에스테르화 시켜서 사용하였다.

Gas chromatography의 시행

위에서 얻은 지방산 메틸에스테르 시료에 methylene chloride를 가하여 2 ml로 하였다. 지방산 표준시료는 C_{8:0}, C_{9:0}, C_{10:0}, C_{11:0} 및 C_{12:0}의 혼합시료(각 성분 10mg 포함) 그리고 C_{13:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0} 및 C_{17:0}(각 성분 10mg 포함)에 methylene chloride를 가하여 각각 2 ml로 하였다.

또한 제조한 methyl dodecenoate(C_{12:1}) 100mg에 methylene chloride를 가하여 20 ml로 정용하여 사용하였다.

GC(Hewlett-Packard Co. model HP 5890A)를 사용하여, 위에서 만든 시료 및 표준지방산 시료 용액을 각각 0.5 µl씩 injection 하여, 크로마토그램을 얻었고, 시료 및 표준지방산 시료 용액의 GC 크로마토그램에서, 시료중의 지방산 성분을 동정하였다.

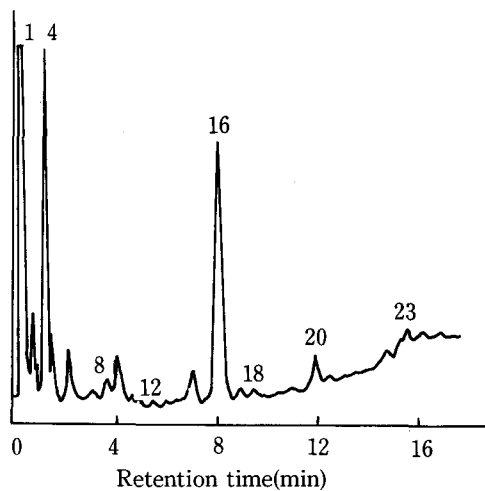


Fig.1. Gas chromatogram of the extracted sample with chloroform: methanol(2:1, v/v) mixed solvent.

- Column: 10% EGSS-X on chromosorb W-AW, 80-100 mesh 1/8"×2m
- Temperature: column; 120°C, 4 min $\xrightarrow{6^\circ\text{C}/\text{min}}$ 190°C, 10 min, injector; 230°C, detector(FID); 230°C
- carrier gas: N₂, 30 ml/min

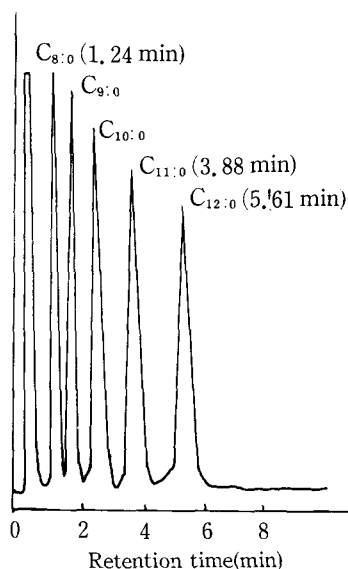


Fig.2. Gas chromatogram of standard fatty acid methyl ester ($C_{8:0}$, $C_{9:0}$, $C_{10:0}$, $C_{11:0}$, and $C_{12:0}$), GC condition: the same condition as in Fig.1.

結果 및 考察

시료 용액의 gas chromatography

추출 시료를 농축하여 비누화 및 메틸에스테르화시켜 gas chromatography를 시행한 결과, Fig.1의 chromatogram을 얻었다.

Fig.1에서의 gas chromatogram에 나타난 각 Peak에 대한 retention time 및 상대적인 편적 백분비를 Table I에 나타내었다.

Fig.1 및 Table I에 표시된 바와 같이, 추출 시료의 gas chromatogram에는 총 24개의 Peak가 나타났으며, 이 중 Peak No 4 및 16이 주성분이고, 그외의 성분들은 미량밖에 존재하지 않음을 알 수 있었다.

지방산 성분의 확인

표준시료 즉 $C_{8:0}$, $C_{9:0}$, $C_{10:0}$, $C_{11:0}$ 및 $C_{12:0}$ 에 대한 gas chromatography를 Fig.1에서의 동일한 조건하에, 시행한 결과 Fig.2의 chromatogram을 얻었다.

Fig.2에서 $C_{8:0}$, $C_{9:0}$, $C_{10:0}$, $C_{11:0}$ 및 $C_{12:0}$ 의 retention time은 각각 1.24, 1.78, 2.68, 3.88 및 5.61 min이었으며, Fig.1의 retention time과 비교하여 시료중에 $C_{8:0}$, $C_{11:0}$ 및 $C_{12:0}$ 의 성분이 존재함을 확인하였다.

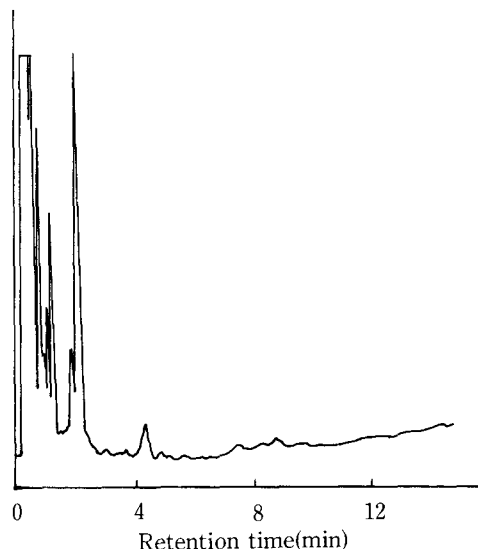


Fig.3. Gas chromatogram of the extracted sample with chloroform:methanol (2:1, v/v) mixed solvent.

· Column: 10% EGSS-X on chromosorb W-AW, 80-100 mesh, 1/8" × 2m
 · Temperature: column; 165°C, 4 min $\xrightarrow{2^\circ\text{C}/\text{min}}$ 190°C, 10 min injector; 230°C, detector(FID); 230°C
 · carrier gas: N_2 , 30 ml/min

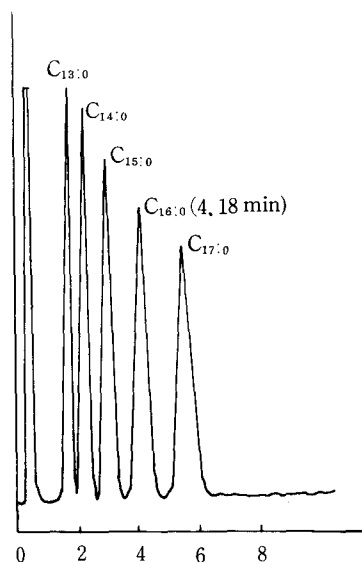


Fig.4. Gas chromatogram of standard fatty acid methyl ester ($C_{13:0}$, $C_{14:0}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$ and $C_{17:0}$) GC condition: the same condition as in Fig.3.

추출시료 및 또 다른 표준시료 C_{13:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0} 및 C_{17:0}에 대한 gas chromatography를 Fig.2와 다른 조건에서 시행하여, Fig.3 및 Fig.4의 chromatogram을 얻었다.

Fig.4에서 C_{13:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0} 및 C_{17:0}의 retention time은 각각 1.69, 2.26, 3.06, 4.18 및 5.67이었으며, 시료 용액의 chromatogram Fig.3의 Peak에 대한 retention time과 비교하여, 시료중에 C_{16:0}의 성분이 존재함을 확인하였다. 또한 추출시료 및 표준시료인 methyl dodecenoate를 같은 조건에서 gas chromatography를 시행하여, Fig.5 및 Fig.6의 chromatogram을 얻었다.

Fig.6에서 methyl dodecenoate의 retention time은 5.26 min이었으며 시료 용액의 chromatogram과 비교하여, 시료중에 C_{12:1} 성분이 존재함을 확인하였다.

주 지방산의 정량

표준시료, C_{8:0}, C_{9:0}, C_{10:0}, C_{11:0} 및 C_{12:0}의

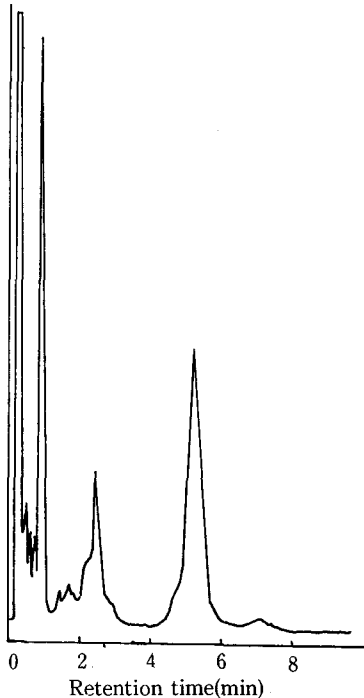


Fig.5. Gas chromatogram of the extracted sample with chloroform: methanol(2 : 1, v/v) mixed solvent.
 · Column: 10% DEGS or chromosorb W, 80-100 mesh, 1/8"×2m
 · Temperature: column; 134°C, injector; 150°C, detector(FID); 150°C
 · carrier gas: He, 25 ml/min

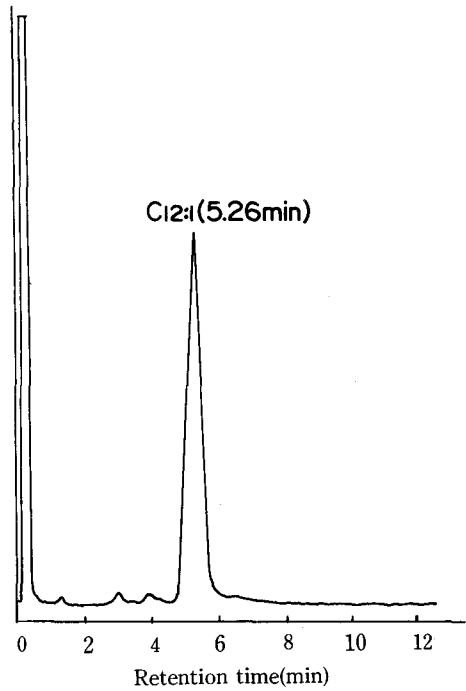


Fig.6. Gas chromatogram of methyl dodecenoate(C_{12:1}), GC condition: the same condition as in Fig.1.

gas chromatogram(Fig.2)과 시료용액의 gas chromatogram(Fig.1) 상의 면적비를 이용하여 주성분인 caprylic acid(C_{8:0})과 dodecenoic acid(C_{12:1})를 정량한 결과, 시료 g당 각각 6.657 μg 및 10.176 μg이 존재함을 확인하였다.

摘 要

한국산 백복령을 chloroform-methanol(2 : 1, v/v) 혼합용매로 추출한 다음, 비누화 및 메틸에스테르화 한 후 gas chromatography에 의하여 얻은 총 24개의 Peak 중, caprylic acid(C_{8:0}), undecanoic acid(C_{11:0}) lauric acid(C_{12:0}), dodecenoic acid(C_{12:1}) 및 palmitic acid(C_{16:0})의 5개 성분을 확인하였으며, 그중 주성분인 C_{8:0}과 C_{12:1}은, 시료 g당 6.657 μg 및 10.176 μg 이었다.

參考文獻

Kim, B.K., Kang, C.Y., Choi, E.C. and Kim, K. H.(1976) : Studies on the constituents of the

- higher fungi in Korea(VII). Sterols from *Daedaleopsis tricolor*(Fr.) Bond. et Sing. *Kor. J. Mycol.* **4**(1) : 27-30.
- Kim, B.K., Lee, M.H. and Shim, M.J.(1978a): Studies on the constituents of the higher fungi of Korea(IX). Fatty acids from *Agaricus bisporus*. *Kor. J. Mycol.* **6**(1) : 5-8.
- Kim, B.K. and Kwon, Y.(1978c): Studies on the constituents of the higher fungi of Korea(XIII) -A sterol from *Boletus aereus* Bull. *Kor. J. Mycol.* **6**(2) : 11-13.
- Kim, B.K., Sohn, J.S. and Chim, M.J.(1978d): Studies on the constituents of the higher fungi of Korea(X). Sterols from *Mycoporus affinis*(Blame et Nees) Kuntze. *Kor. J. Mycol.* **6**(1) : 53-56.
- Kim, B.K., Jang, S.Y. and Shim, M.J.(1978b): Studies on the constituents of the higher fungi of Korea(VIII). Sterols of *Coriolus versicolor*(Fr.) Quel. *Kor. J. Mycol.* **6**(1) : 1-4.
- Kanayama, H., Adach, N. and Togami, M. (1983) : A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem. Pharm. Bull.* **31**(3) : 1115-1118.
- Kanematsu, A. and Natori, S.(1970) : Triterpenoids of hoelen(fuling), sclerotia of *Poria cocos*. II. *Chem. Pharm. Bull.* **18**(4) : 779-783.
- Kanematsu, A. and Natori, S.(1970) : Triterpenoids of hoelen(fuling), sclerotia of *Poria cocos*. I. *Yakugaku Zasshi.* **90**(4) : 475-479.
- Min, T.J., Chung, K.S. and Kim, J.W.(1983) : Purification and properties of carboxyl proteinase from the *Poria cocos*(Schw.) Wolf(I) *Kor. Biochem. J.* **16**(3) : 205-215.
- Min, T.J., Park, S.S. and Moon, S.K.(1986) : Studies on the characterization of carboxyl proteinase in *Poria cocos*. *Kor. J. Mycol.* **14**(2) : 101-107.
- Saito, H., Misaki, A. and Harada, T.(1968) : A comparison of the structure of curdikan and pachyman. *Agr. Biol. Chem.* **32** : 1261-9.
- Shibata, S., Natori, S., Fujita, K., Kitagawa, I. and Watanabe, K.(1958) : Metabolic products of fungi XV. Pachymic acid, a constituent "Bukuryo"(Fu Ling), a sclerotium of *Poria cocos*. *Chem. Pharm. Bull.*(Tokyo). **6**(6) : 608-611.
- Metcalf, L.D. and Schmitz, A.A.(1961) : The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **33**(3) : 363-364.