피부미용 화장품 소재로서 연복자 추출물의 유리아미노산 및 유리당의 조성과 함량분석

장아람*

서경대학교 뷰티테라피&메이크업학과, 겸임교수

Analysis of Composition and Contents of Free Amino Acids and Free Sugars of *Akebia quinata* Fruit Extracts as Skin Care Cosmesutical Ingredients

Ah-Ram Jang*

Adjunct Professor, Dept. of Beauty Therapy & Makeup, Seokyeong University

This study analyzed pericarp of *Akebia quinata* fruit and hot water extract of seeds and 80% methanol extract to verify the effectiveness of utilizing functional cosmetic materials for skin care. 17 components of free amino acids were identified in pericarp and seeds. Both pericarp and seeds had the highest lysine content in hot water extracts and asparagine in 80% methanol extracts. Protein-free amino acid derivatives were identified in pericarp and seeds, each with 5 components. In the hot water extract, phosphoserine was the highest in pericarp and citrulline was the highest in seeds. In 80% methanol extract, carnosine was the most common in pericarp and citrulline was the highest in seeds. Analysis of the composition of free sugar identified fructose and glucose in pericarp and sucrose and maltose in seeds. As a result, when pericarp and seeds of *Akebia quinata* fruit are extracted with hot water and 80% methanol, free sugar and free amino acid derivatives are present, which is expected to be valuable as functional foods and nutritional cosmetics ingredients for skin beauty.

Keywords: *A. quinata* fruit extract, Derivatives, Free amino acid, Free sugar, Skin care cosmetic

I. 서 론

천연물 소재는 뷰티산업 발전에 따른 화장품 원료의 개발에 있어 빠질 수 없는 중요한 위치를 차지하고 있다. 특히 건강과 아름다움에 대한 현대인들의 관심이 커지면서 천연 또는 유기농 화장품 시장의 가파른 성장세가 눈에 띄는데, 이에 사용되는 생물자원들이 상당 부분 수입산에 크게 의존하고 있어(Jang & Park, 2012), 국내의 우수한 천연물 자원의 탐색과 개발이 시급한 실정이다(Chang, 2002). 이들 천연 추출물들에 각종 생리활성 성분이 있는 것으로 확인되면서 많은 연구자들은 이 분야를 지속적으로 연구하여, 이에 대한 기능성을 확인하였다. 특히 천연물 소재인 식물추출물은 항산화, 항염, 미백, 항균, 항노화 및 면역증강 등의 기능이(Bae et al., 1997; Kim et al., 2000; An et al., 2005; Lee et al., 2012; Ban et al., 2013; Kim et al.,

2013; Jang et al., 2015) 알려지면서, 이를 활용한 피부미용 기능성 화장품 소재로서의 가능성이 제시되었다.

피부의 각질층에는 아미노산과 당류등과 같은 천연보습인자(natural moisturizing factor, NMF)가 고농도로 존재하고 있으며, 천연보습인자 성분 중 유리아미노산은 약 40%정도를 차지하고 있다(Rawling & Harding, 2004). 피부병 중 일부는 각질층의 유리아미노산 함량의 감소에 따른 천연보습인자의 결핍으로 알려져 있으며(Horii et al., 1983), 각질층 내 일정비율의 아미노산은 원활한 각질화 및 피부의 유연성과 탄력성 유지에 중요한 요인이다(Barden et al., 1973).

연복자(燕覆子)는 으름덩굴과에 속하는 낙엽 덩굴성 만목(蔓木)의 열매로서, 익으면 흰 속살을 드러내며 껍질이 벌어진다. 연복자에는 검은 씨가 많은데, 이 씨앗을 먹으면 머리를 맑게 하고, 미래를 알 수 있다고 하여 예지자라고도 한다. 연복자에 대한 연구로 이의 추출물이 구강내 미생물의 항균활성과 부유세포 사멸에 미치는 영향을 조사한 바 있으나, 피부미용 제품 소재로서의 연구는 아직 미미한 상태이다(Lee et al., 2008).

따라서 이 연구에서는 연복자의 과피와 씨앗 추출물의 피부

*Corresponding author: Ah-Ram Jang

Tel : +82-42-533-0456

E-mail : ahram240@nate.com

접수일(2020년 12월 5일)/수정일(2021년 4월 13일)/채택일(2021년 4월 20일)

미용 기능성 화장품 소재로서 활용을 위한 기초자료 연구를 목적으로 유리아미노산과 그 유도체 및 유리당의 조성 및 함량을 분석하였기에 이를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시료추출

연복자(*Akebia quinata*)의 과피와 씨앗의 피부미용 기능성 화장품 성분으로서의 활용하기 위한 일부 성분분석을 위하여 2017년 9월 하순경 전북 진안군 야산에서 채집하여 식물분류 전문가로부터 동정을 거친 후 사용하였다.

2. 시료추출과 조제

연복자의 과피와 씨앗을 분리 한 후 음건한 다음, 분쇄기로 파쇄하여 분말화 하였으며, 열수 추출은 시료 5 g을 증류수 50 mL에 넣고 100°C에서 1시간 추출하였다. 80% 메탄올 추출은 열수 추출물과 동량을 넣고, 30분씩 초음파 처리하여 추출하였으며, 각각 2회 추출하였다. 추출물은 원심분리(7,000 rpm, 30 min, 4°C)하여 상등액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후, 열수 추출물은 -70°C에서 동결 후, 동결건조기(IL-Shin Bio Base, FD5508, Korea)에서 동결 건조하였다. 80% 메탄올 추출물은 회전 감압농축기(Eyela Co. N-N, Japan)와 40°C 항온수조(Eyela Co. SB-651, Japan)로 감압농축 한 후 시료로 사용하였다.

3. 유리아미노산 조성 및 함량 분석

유리아미노산과 아미노산 유도체의 조성 및 함량분석은 각각의 시료 1 g을 증류수 20 mL에 넣고 100°C에서 1시간 추출하였으며, 5,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 후, 상등액을 -70°C에서 동결한 후, 동결건조기에서 동결·건조하였다. 80% 메탄올 추출물(30초 동안 초음파 처리, Ewtown, CT U.S.A)로 초음파 처리하여 2회 추출 하였고, 5,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 후, 상등액을 회전 감압농축기(Eyela Co. N-N, Japan)와 40°C 항온수조(Eyela Co. SB-651, Japan)로 감압농축 한 후 시료로 사용하였다. 다음 각각의 시료는 아미노산분석용 sample dilution buffer (pH 2.2) 2.0 mL에 용해한 후, membrane filter (0.25 µm)로 여과하여 아미노산분석용 시료로 사용하였다. 유리아미노산 분석은 아미노산 자동분석기(Sycam Co., Germany)와 auto-sampler (Sycam Co., S7130, Germany), solvent delivery system (Sycam Co., S2100, Germany)을 사용하였으며, column은 cation separation column (LCA K06/NA (4.6 × 250 mm))을 이용하여 분석하였다. 이동상의 유속은 0.45 mL/min,

ninhydrin은 0.4 mL/min, reactor temperature 110°C, column temperature 58°C, reagent doing pump 35 mL/min, flow rate 45 mL/min로 하였다.

4. 유리당 분석

유리당 분석은 건조하여 분쇄한 연복자의 과피와 씨앗 각각 1 g을 취하여 증류수 10 mL을 가한 다음 30분간 초음파 처리한 후 원심분리하여 상등액을 취하고, 잔사도 동일한 방법으로 추출하였다. 상등액은 0.45 µm membrane filter로 여과 한 후 유리당 분석 시료로 사용하였다. 표준용액은 fructose, glucose, sucrose, maltose를 acetonitril로 용해하여 각각 10 mg/mL이 되도록 제조하여 0.45 µm membrane filter로 여과 한 후 사용하였다.

유리당의 조성은 HPLC를 이용하여 분석하였고, HPLC 기기는 Waters 486 Differential Refractometer, Waters 717 Auto-sampler, Waters 510 HPLC pump, HPLC system interface module Waters SIM S/N 001040을 사용하였다. 사용 시 column은 Supelcosil LC-NH2 (25 cm × 4.6 mm, 5 µm)를 사용하였다. 성분분리는 isocratic mode로 하였으며, 이동상은 acetonitrile : water (80 : 20, V/V)로 분석하였다. 분석 시 온도는 40°C에서 실시하였으며, 유량은 0.8 mL/min, 주입량은 20 µL로 하였고, run time은 40분으로 하였다.

III. 결과 및 고찰

연복자의 과피와 씨앗을 열수(hot water)와 80% 메탄올(MeOH)로 추출한 추출물의 수율과, 유리아미노산, 유리당, 총 polyphenol과 총 flavonoid 함량, phenolic acid와 flavonoid 조성 및 함량을 분석하고, 일부 생리활성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 추출물의 수율

연복자 과피와 씨앗 1 g을 열수와 80% 메탄올로 추출한 결과 추출물의 수율은 Table 1에서 보는 바와 같이 과피의 수율이 씨앗보다 약간 더 높은 것으로 나타나 부위별로 근소한 차이를 보였다. 그러나 용매에 따른 수율의 차이는 크지 않았다.

Table 1. Total products of *A. quinata* pericarp and seed extracts

Divisions	Hot water	80% Methanol
pericarp	0.417	0.464
seed	0.199	0.117

*Each products was extracted from 1 g *A. quinata* pericarp and seed powder in 20 ml hot water and 80% Methanol, respectively.

이와 같은 결과로 볼 때 연복자 과피와 씨앗의 수용성 물질과 지용성 물질 함량은 비슷하게 구성된 것으로 보인다.

2. 유리아미노산과 단백질 비구성 유리아미노산

연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄올 추출물에 존재하는 유리아미노산과 단백질의 구성요소는 아니지만 유리상태 또는 비타민 등 특수한 화합물의 구성 성분으로 존재하는 단백질 비구성 유리아미노산의 함량과 조성을 분석한 결과는 아래와 같다.

1) 유리아미노산 조성 및 함량

연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄올 추출물의 유리아미노산의 조성 및 함량을 분석한 결과는 연복자 과피의 열수 추출물의 유리아미노산은 총 17종이 분리되었으며, 총 1.14 mg/g 이었다. 이중 lysine이 0.54 mg/g으로 가장 많았고, 다음으로는 histidine이 0.09 mg/g 순이었다. 씨앗의 유리아미노산 함량 또한 열수 추출물에서는 lysine이 0.48로 가장 많았고, 다음으로는 asparagine 0.42, histidine 0.21, arginine 0.21 mg/g 순이었다(Fig. 1).

과피의 80% 메탄올 추출물 유리아미노산은 17종이 분리되

었고 총량은 1.83 mg/g 이었다. 이중 asparagine이 0.42 mg/g으로 가장 많았고, 다음으로는 aspartic acid 0.36, histidine이 0.33 mg/g 순이었다. 씨앗에서도 asparagine이 0.54 mg/g으로 가장 많이 존재하였고, 다음으로는 arginine 0.18, lysine 0.12 mg/g 순이었다(Fig. 1).

이 중 연복자의 과피와 씨앗속의 필수 아미노산의 함량은 과피의 열수 추출물에서는 0.87 mg/g이었고, 80% 메탄올 추출물에서는 1.11 mg/g이었다. 씨앗에서는 열수 추출물에서 0.72 mg/g이었고, 80% 메탄올 추출물에서는 0.78 mg/g으로 나타났다.

위의 결과는 양송이, 느타리, 표고버섯에서 유리아미노산 및 전이아미노산 조성에 대한 연구와(Hong et al., 1989) 썩의 잎, 줄기, 뿌리 추출물에서 유리아미노산의 조성 및 함량을 분석한 연구에서(Jang and Kang, 2019) 각각의 부위에 따라서 유리아미노산의 함량이 다르게 나타나는 경향을 보였는데 이 연구에서도 마찬가지로 과피와 씨앗이 함량의 차이를 나타내었다.

이와 같은 결과로 연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄올 추출물 중에는 유리아미노산 중 주로 asparagine, histidine, lysine이 주로 많이 존재하는 것으로 나타났으며 연복자 과피와 씨앗은 추출물은 각종 아미노산이 다량으로 함유되어 있어 피

Fig. 1. Free amino acids composition and contents of *A. quinata* hot water and 80% methanol extracts.

Fig. 2. Free amino acids composition and contents of non-protein structure of *A. quinata* hot water and 80% methanol extracts.

부각질세포의 활성화에 도움이 되고 또한 피부미용 기능성 식품 또는 기능성 영양화장품 원료로서의 사용 가능성도 있을 것으로 사료되어진다.

2) 단백질 비구성 유리아미노산의 조성 및 함량

연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄을 추출물에서 확인된 단백질 비구성 유리아미노산의 조성은 과피와 씨앗 모두 5종이 확인되었다. 과피 열수 추출물에서는 총 함량 0.51 mg/g 이었고, 이중 phosphoserine이 0.33 mg/g으로 가장 많이 존재하였다. 씨앗의 열수 추출물은 총 함량 0.48 mg/g으로 나타났으며 가장 많은 성분은 citrulline 0.3 mg/g 이었다.

80% 메탄을 추출물에서도 마찬가지로 5종이 발견되었다. 과피는 총 0.27 mg/g이었으며 carnosine이 0.09 mg/g으로 가장 많이 발견되었고 씨앗의 메탄을 추출물은 총 함량 0.42 mg/g 중 citrulline이 0.27 mg/g으로 가장 많은 것으로 나타났다(Fig. 2).

이와 같은 결과로 연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄을 추출물에는 5종 정도의 비구성 단백질 유리아미노산이 존재하는 것으로 나타났는데 특히 연복자의 과피와 씨앗에서는 다른 식물 추출물에서는 잘 발견되지 않는 taurine 성분이 존재하고 있어 인체의 피로 회복과 피부미용에 효과적일 것으로 기대된다.

3. 유리당 조성 및 함량

연복자의 과피와 씨앗의 유리당 조성 및 함량은 아래와 같다 (Table 2, Fig. 3).

과피에서의 유리당은 fructose와 glucose가 검출되었으며, fructose의 함량은 16.4 mg/g이었고, glucose는 6.1 mg/g 이었다. 그러나 씨앗에서는 sucrose와 maltose가 검출되었으며, maltose 함량은 42.3 mg/g이었고, sucrose는 30.3 mg/g이었다. 따라서 과피에서는 fructose와 glucose가 검출되었으나, sucrose와 maltose는 검출되지 않았고, 씨앗에서는 sucrose와 maltose가 검출되어 과피와 씨앗의 유리당 성분에는 차이가 있었다. 함량은 과피에서는 fructose > glucose순이었고, 씨앗에서는 maltose > sucrose 순으로 나타났다.

이와 유사한 연구로 버섯에서 유리당의 조성을 연구한 결과

Table 2. Free sugars composition and contents of *A. quinata* pericarp and seed extracts (mg/g)

Free sugars	Pericarp	Seed
Fructose	16.4	—
Glucose	6.1	—
Sucrose	—	30.3
Maltose	—	42.3

— : not detected

Fig. 3. Contents of free sugars in *A. quinata* pericarp and seed water extracts.

에 따르면, 버섯의 종류에 따라서 당의 조성은 달랐던 것으로 보고되었고(Hur, 1989), 쑥의 잎, 줄기, 뿌리 추출물에서 유리당의 조성 및 함량을 분석한 연구에서도 부위에 따른 당의 조성 및 함량에 있어서 차이가 있다고 하였다(Jang & Kang, 2019). 본 연구에서도 연복자의 과피와 씨앗의 유리당을 분석한 결과 조성 및 함량에 있어서 차이를 보였는데, 함량에 있어서는 씨앗에서 sucrose와 maltose 함량이 상당히 높은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 연복자 씨앗성분이 피부미용화장품으로 사용 시 피부의 천연보습인자 중 당을 공급하는 요인이 되어 각질세포 대사과정에 중요하게 작용 할 수 있을 것으로 사료되어진다.

IV. 결 론

피부미용 기능성 화장품 소재 활용 효과 검증을 위해 연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄을 추출물의 일부 유리아미노산과 아미노산 유도체 및 유리당의 조성 및 함량을 분석한 결과는 다음과 같다.

유리아미노산은 과피와 씨앗모두 열수와 80% 메탄을 추출물에서 각각 17종이 확인되었으며, 단백질 비구성 아미노산 유도체는 과피와 씨앗모두의 열수와 80% 메탄을 추출물에서 각각 5종이 확인되었다. 유리아미노산의 열수 추출물의 경우 과피와 씨앗 모두에서 lysine이 가장 많이 함유된 것으로 나타났으며 80% 메탄을 추출물에서는 asparagine의 함량이 가장 많았다. 단백질 비구성 아미노산은 열수 추출물의 경우 과피에서 phosphoserine, 씨앗에서는 citrulline의 함량이 가장 높았고 80% 메탄을 추출물에서는 과피에서 carnosine, 씨앗에서는 citrulline의 비율이 가장 높았다.

유리당의 조성을 분석한 결과 과피에서는 fructose와 glucose가 확인되었고, 씨앗에서는 sucrose와 maltose가 확인되었다.

이와 같은 결과로 연복자의 과피와 씨앗의 열수와 80% 메탄을 추출물은 유리 아미노산과 아미노산 유도체 및 유리당이 존재하고 있어 피부미용 영양 화장품 성분 및 피부미용 기능성 식품으로서의 활용 가치가 있을 것으로 기대된다.

References

- An, B. J., Lee, C. E., Son, J. H., Lee, J. Y., Choi, G. H., & Park, T. S. (2005). Antioxidant, Anticancer and Tyrosinase Inhibition Activities of Extracts from *Rhododendron mucronulatum* T. *Applied Biological Chemistry*, 48(3), 280-284.
- Baden, H. P., Goldsmith, L. A., & Fleming, B. (1973). A comparative study of the physicochemical properties of human keratinized tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 322(2), 269-278. doi:10.1016/0005-2795(73)90303-6
- Bae, S. C., Kim, D. Y., Kim, T. H., Jun, J. B., Jung, S. S., Lee, I. H., Yoo, D. H., Kim, S. Y., Lee, E. Y., & Chang, S. Y. (1997). Nitric oxide (NO) in inflammatory arthritis. *Korean Journal of Medicine*, 52(1), 32-41.
- Ban, H. J., Kim, M. Y., & Ko, K. S. (2013). A study on the cosmetic ingredient of the methanol extract of *Acanthopanax sesiliflorus seeman*. *Journal of Korean Society for Beauty, Culture and Arts*, 2(2), 36-42.
- Chang I. M. (2002). Current Trend of Natural Products Industry and Utilization of Herbal Materials. In *Proceedings of the Korean Society of Crop Science Conference*, 28-37.
- Hur, Y. H. (1989). Studies on Free-Sugars, Sugaralcohols, Amino acids and Mineral Contents in Edible Mushrooms. *Journal of Environmental and Sanitary Engineering*, 4(2), 27-32.
- Horii, I., Kawasaki, K., Koyama, J., Nakayama, Y., Nakajima, K., Okazaki, K., & Seiji, M. (1983). Histidine-rich protein as a possible origin of free amino acids of stratum corneum. *Current Problems in Dermatology*, 11, 301-315. doi:10.1159/000408684
- Hong, J. S., Kim, Y. H., Kim, M. K., Kim, Y. S., & Sohn, H. S. (1989). Contents of free amino acids and total amino acids in *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 21(1), 58-62.
- Jang, A. R., Song, Y. S., Kim, M. K., & Lee, K. K. (2015). Evaluation on the phenolic acid compositions and possibility of functional cosmetic ingredients of *Hibiscus syriacus* Bark extracts. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 21(5), 895-902.
- Jang, A. R., and Kang, S. M. (2019). Composition and contents of free amino acids, free sugar, and phenolic acid and flavonoids of *A. princeps* var. *orientalis* extracts. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 25(1), 142-147.
- Jang, H. S., & Park, H. J. (2012). Real Option Analysis of Pharmaceutical R&D Investment under the Nogoya Industry. *The Korean Journal of Health Economics and Policy*, 18(3), 121-138.
- Kim, M. S., Lee, D. C., Hong, J. E., Chang, I. S., Cho, H. Y., Kwon, Y. K., & Kim, H. Y. (2000). Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 32(4), 949-958.
- Kim, D. H., Park, S. R., Debnath, T., Hasnat, M. A., Pervin, M., & Lim, B. O. (2013). Evaluation of the antioxidant activity and anti-inflammatory effect of *Hericium erinaceus* water extracts. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 21(2), 112-117. doi:10.7783/KJMCS.2013.21.2.112
- Lee, G. D., Kwon, Y. R., Lee, Y. S., Jeon, J. G., Han, S. K., & Chang, K. W. (2008). Inhibitory effects of *Akebia quinata* fruit extract against mutans *streptococci*. *Journal of Korean Academy of Dental Health*, 32(4), 485-494.
- Lee, Y. K., Song, Y. S., & Lee, K. K. (2012). Evaluation of antioxidant, tyrosinase inhibitory and anti-inflammatory activities of turmeric (*Curcuma longa*) extracts. *International Journal of Beauty Cultural Arts*, 1(1), 2-8.
- Rawlings, A. V., & Harding, C. R. (2004). Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic Therapy*, 17, 43-48. doi:10.1111/j.1396-0296.2004.04S1005.x