

人蔘의 Sterol 成分에 關한 研究(I)

— 中性脂質 分割의 Sterol 含量 調査 —

金萬旭 · 盧吉鳳 · 魏在暉

韓國人蔘煙草研究所

(1985년 4월 6일 접수)

Studies on the Sterols of Korean Ginseng (I) — On the Contents of Sterols in Neutral Lipid Fraction —

Man-Wook Kim, Kil-Bong Nho, Jae-Joon Wee

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

(Received April 6, 1985)

Abstract

Free and esterified sterols in neutral lipid fractionated from the free lipid of Korean white ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) were analyzed by TLC and GLC to investigate the contents and composition ratios. Content of each sterol was as follows: β -sitosterol was about 51.60 mg%, stigmasterol, 8.93mg% and campesterol, 2.17mg%. Fine root tended to have slightly higher contents of sterols than main root. Linoleic and palmitic acid as the major fatty acids in esterified sterols occupied 70% of the total composition.

緒論

Sterol 成分은 人蔘 saponin 과 骨格構造가 類似할 뿐 아니라 強한 生理活性 (physiological activity) 때문에 化學的, 生化學的 또는 藥理學的見地에서 매우 重要的 物質로 알려져 있다. 人蔘中 sterol 成分에 對한 研究는 高橋等¹⁾이 人蔘의 ether 抽出物에서 β -sitosterol 을 確認한 이래 Euler 等²⁾은 glucose 와 結合된 配糖體인 daucosterin 을 確認했으며, 鄭³⁾, 高⁴⁾ 等은 GLC 를 利用하여 高麗蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 中에 campesterol, stigmasterol, β -sitosterol 的 含有組成을 밝힌 바 있다. 그 外에도 Manki⁵⁾, 安⁶⁾ 等에 의해서 β -sitosterol 的 存在가 確認되었으며 辛⁷⁾은 soxhlet 法에 의하여 抽出된 脂肪質成分中 free sterol, sterol ester, steryl glycosides 含量을 調査報告한 바 있다.

그러나 이들의 成分分析에서는 column chromatography 와 thin layer chromatogra-

phy에 의하여 成分分離를 해야 하므로正確한 含量의 測定이 어려울 뿐만 아니라 지금 까지 報告된 結果는 GLC peak area에 의한 組成比만을 밝혔을 뿐이다. 또한 崔等⁸⁾의 結果와 比較할 때도 分析者間 또는 試料에 따라서 상당한 差가 認定되고 있어 이에 對한 檢討를 通하여 韓國產 人蔘(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 脂肪質成分中 sterol 成分 含量 및 分布比를 定立하고자 本 研究를 遂行하였다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 人蔘試料

本 實驗에 使用한 人蔘試料는 曾坪試驗場에서 84年 10月에 採掘된 六年根 水蔘을 胴體(main root), 細根(fine root)으로 나누고, 胴體는 다시 外皮層(epidermis), 內皮層(cortex), 中心部(pith)로 나누어 冷凍乾燥시켜 試料로 使用하였고, 白蔘은 水蔘을 水分含量 10% 內外로 日乾시켰고 紅蔘은 水蔘을 autoclave에서 3시간 가량 쯔後 日乾시켜 水分含量을 역시 10% 內外로 한 것을 cutting mill로 직경 2mm 이하로 粉碎하여 사용하였다.

(2) 試藥

溶媒類는 시판 GR 級을 再蒸溜하여 使用하였고 GLC 分析을 위한 標準 sterol 및 脂肪酸은 特級을 使用하였다. silicic acid는 sigma 社의 액체크로마토그라피用 sil-LC를 使用하였다.

2. 方法

(1) 脂肪質의 抽出

前報⁸⁾와 同一한 方法으로 遊離脂質은 soxhlet 法에 의해 ethyl ether로 24시간 抽出하였고 結合脂質은 85%-methanol로 加溫抽出하였다. 抽出된 粗脂質은 Folch 等⁹⁾의 方法으로 精製하여 分析試料로 使用하였다.

(2) 中性脂質과 極性脂質의 分離

精製된 遊離脂質을 Louser 等¹⁰⁾의 silicic acid column chromatography(SCC) 方法에 의하여, chloroform, acetone, methanol 각 300ml 씩으로 中性, 糖, 磷脂質을 順次的으로 流出시켜 농축後 重量法으로 含量을 계산하였다(Fig.1).

(3) 中性脂質分割中 sterol 成分의 分離

SCC 方法에 의해 分離된 中性脂質을 0.5 mm silica gel 60 TLC plate를 使用, hexane : ether : acetic acid(80 : 20 : 1 v/v)로 展開하고 30% 황산용액을 噴霧시켜 110°C에서 15분간 가온, 炭化시키고 標準 sterol 成分과 Rf 値를 比較하여 遊離 sterol과 結合 sterol을 同定하여 methanol : chloroform(2 : 1)溶液으로 溶出하였다. 結合 sterol은 1.0 N methanolic KOH 5ml를 가해 2시간 동안 saponification 시킨 後

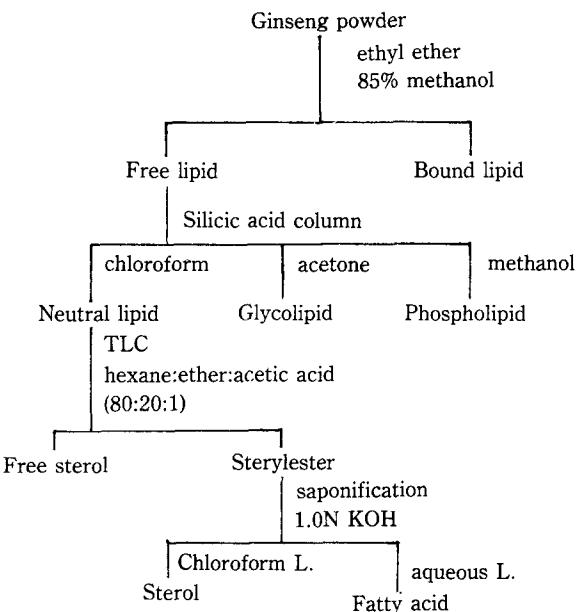


Fig. 1. Scheme of ginseng lipids extraction, fractionation and sterols separation.

chloroform 10ml로 3回抽出하여 sterol을 分離하였고 水層은 ether로抽出, Metcalf等¹¹⁾의 方法으로 methylation 시켜 GLS分析하였다.

Table 1. Instrument and condition of GLC for sterol analysis

Instrument	:	Varian aerograph 3700
Column	:	3% OV-17 on chromosorb WHP(80/100) glass 2mm(i.d.)×6ft
Oven temp.	:	265°C
Detector	:	Flame ionization detector
Injection port temp.	:	280°C
Detector temp	:	290°C
Carrier gas, N ₂	:	25ml/min

Table 2. Instrument and conditions of GLC analysis for fatty acid methyl ester

Instrument	:	Varian aerograph 3700
Column	:	10% DEGS on chromosorb WHP(80/100) S.S. 2mm(i.d.)×6ft
Detector	:	Flame ionization detector
Oven temp.	:	190°C
Injection port temp.	:	230°C
Detector temp.	:	250°C
Carrier gas, N ₂	:	25ml/min

(4) sterol 成分 및 脂肪酸의 GLC 分析

遊離 sterol 및 結合 sterol에서 分離된 sterol을 3% OV-17 column을 使用, Table 1과 같은 條件에서 内部標準物質로 cholesterol을 使用하여 GLC 分析하였다. 한 편, 結合 sterol에서 遊離된 脂肪酸은 10% DEGS column을 使用, Table 2와 같은 條件에서 GLC 分析하였다.

結果 및 考察

(1) 遊離 및 結合脂肪質의 含量

蓼類 및 蓼部位別에 따른 遊離 및 結合脂肪酸 含量을 調査한 結果는 Tab. 3과 같았다.

Table 3. Contents of free and bound lipids in parts of *Panax ginseng* C.A. Meyer

(dry wt : %)

Sample	Portions	Free lipid	Bound lipid	Total
Fresh ginseng	Epidermis	1.65	1.21	2.86
	Cortex	1.55	0.44	1.99
	Pith	1.32	0.1	1.53
	Main root	1.60	0.50	2.10
	Fine root	2.41	0.85	3.26
White ginseng	Main root	1.73	0.55	2.28
	Fine root	2.21	0.72	2.93
Red ginseng	Main root	1.34	0.49	1.83
	Fine root	1.14	0.68	1.82

水蓼, 白蓼, 紅蓼中 總 脂肪質 含量은 1.8~2.3% 범위로서 水蓼과 白蓼間에는 거의 비슷하여 差異를 보이지 않으나 紅蓼은 다소 減少된 傾向을 나타내었다. 遊離脂肪質 含量도 같은 傾向이었으며 그 含量에 있어서는 辛等⁷⁾의 報告值보다는 높은 數值를 나타냈으나 崔等⁸⁾의 報告와는 거의 비슷한 結果였다. 水蓼試料는 多量의 水分을 含有하고 있기 때문에 抽出過程에서 損失을 줄이기 위해 試料自體의 水分含量을 적당하게 減少시키지 않으면 處理過程이 번잡해질 뿐만 아니라 抽出操作에서 상당량의 損失을 감수해야 된다. 따라서 本 實驗에서와 같이 冷凍乾燥 시킴으로서 物質抽出을 効率的으로 할 수 있다고 생각되며 方法上同一한 과정을 거친 崔等⁸⁾의 報告와는 비슷한 結果를 보였다. 部位別로는 細根(fine root)쪽이 莼體(main root)보다 約 1.3倍 정도 많은 傾向이며 이는 外皮層(epidermis)에서 中心層(pith)으로 갈수록 脂肪質 含量이 줄어드는 점과 皮層比率이 細根쪽으로 갈수록 높아지는 점을 감안해 볼 때合理的인 것으로 判斷되며 이와 같은 경향이 紅蓼에서는 맞지 않는 것은 加工處理過程에서 細根의 變化가 심하다는 것

을 示唆해 준다.

(2) 遊離 脂肪質의 組成

人蔘中 遊離脂質을 silicic acid column chromatography 에 의해 Fig. 1 과 같이 中性, 糖, 磷脂質로 分離하고 減壓, 濃縮하여 重量法으로 그 含量을 調査한 結果 Table 4 와 같았다. 水蔘, 白蔘, 紅蔘中의 中性脂質은 約 60%, 糖脂質은 約 15%, 磷脂質은 約 25% 로서 蔘類別이나 部位別로 큰 差를 나타내지 않았다. 이와 같은 結果는 辛等⁷⁾의 水蔘 및 乾蔘(白蔘)의 遊離脂肪質의 調査結果와는 현저한 差를 나타냈으며 崔等⁸⁾의 報告와도 다소 差가 있었다. 즉, 中性脂質 含量이 가장 높아 60% 以上인 點에서는 共通된 結果였으나 白蔘中 80% 以上이 中性脂質이라고 한 辛의 報告와는 큰 差를 나타냈으며 磷脂質 含量보다는 糖脂質 含量이 많다고 報告된 崔等의 結果와도 다른 結果로서 이는 그들이 지적한 바와 같이 使用試料나 試料處理方法에도 原因이 있는 것으로 생각되며 또한 分析方法上에서 流出溶媒의 종류도 문제겠지만 그 使用量 및 column 的 충진상태 및 silicic acid 的 活性등에 따라 差가 큰 것으로 判斷되어 이의 明確한 區分使用이 必要하다고 생각된다.

Table 4. Compositions of neutral, glyco & phospho lipid fractions of the purified lipids in various gainsengs (%)

	Neutral lipid fraction	Glycolipid fraction	Phospholipid fraction
Korean ginseng			59.2
Fresh ginseng			
— main root	14.5	26.2	
— fine root	53.8	15.7	30.5
White ginseng			
— main root	63.3	12.8	23.9
— fine root	60.5	13.9	25.6
Red ginseng			
— main root	59.5	14.6	25.9
— fine root	54.0	17.9	28.0

(3) Sterol 成分의 分離

遊離脂肪質의 中性脂質을 TLC 로 分離한 結果 10 種의 spot 가 分離되었으며 標準試藥을 利用하여 確認한 結果, 遊離 sterol 과 結合 sterol 은 Fig. 2 에서 보는 바와 같이 分離가 分明하기 때문에 streaking 하여 band 狀으로 篩取하는데 用易하였다. 이와 같은 結果는, 展開溶媒로 pet. ether : ethyl ether : acetic acid(80 : 20 : 1)을 使用한 崔等의 報告나 hexane : ether(80 : 20)을 使用한 鄭³⁾, 辛等⁷⁾의 報告와도 甚 差異를 보이지 않았다.

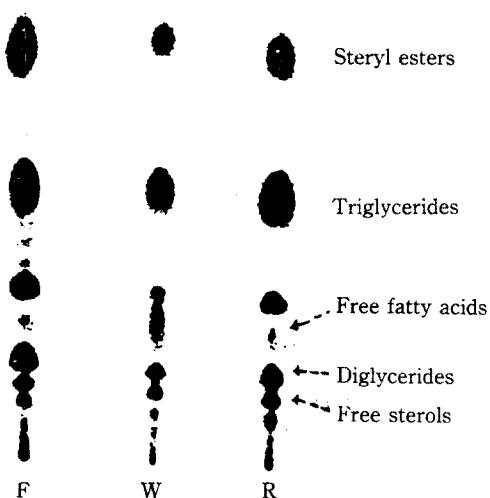


Fig. 2. Thin layer chromatogram of neutral lipids in the free lipids from fresh, white and red ginseng.
F: fresh, W: white, R: red ginseng.

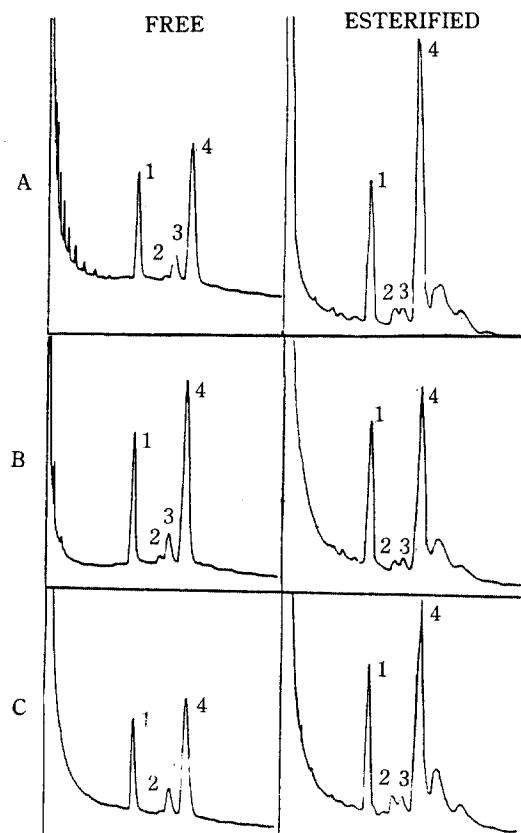


Fig. 3. GLC chromatograms of free and esterified sterols in Korean ginsengs: (A) fresh, (B) white, (C) red ginseng.
 1) cholesterol (IS) 2) campesterol
 3) stigmasterol 4) β -sitosterol

(4) 莼類 및 部位別 sterol 成分含量 및 組成

遊離 脂肪質의 中性脂質중 遊離狀態와 結合狀態의 sterol 成分을 GLC로 分析한 結果 Fig. 3과 같이 內標準物質로 使用한 cholesterol을 비롯하여 3種의 sterol 成分이 잘 分離되었으며 그 含量을 調查한 結果, Table 5와 같았다. 表에서 보는 바와 같이 β -sitosterol의 含量이 가장 많아 49.86~58.7 mg%로서 3種의 sterol 成分의 77~88%를 차지했으며 다음이 stigmasterol로서 約 6~12 mg%였으며 campesterol은 2 mg%内外로서 全 sterol 成分의 4% 以內였다.

이와 같은 傾向은 鄭³⁾, 高等⁴⁾의 結果와 대체로 一致하였다. 莼類別로는 差가 적어 비교적 安定한 化合物임을 나타내지만 白蓼보다는 紅蓼이, 胴體보다는 尾蓼이 變化가 있음을 나타냈다. 特히 stigmasterol 成分은 遊離狀態의 것이 水蓼에 比해 白蓼에서 현저한 差을 보였지만 紅蓼과는 비슷하여 變化가 없는 樣相을 보였다. 胴體와 細根을 比較해 볼 때 전반적으로 細根쪽의 含量이 약간 높은 傾向을 보여 總脂質 含量과 상관이 있음을 나타내었다. 遊離 및 結合狀態의 sterol 含量間에는 campesterol이나 β -sitosterol은 結合狀態의 것이 많았으나 stigmasterol은 遊離狀態로 存在하는 것이 많은 것으로 나타났다.

Table 5. Contents of sterols in neutral lipid fraction from free lipid of Korean ginsengs
(*Panax ginseng* C.A. Meyer)

	Campesterol			Stigmasterol			β -sitosterol		
	Free	Ester	Total	Free	Ester	Total	Free	Ester	Total
Fresh ginseng									
— main root	0.70	1.46	2.16	4.93	1.75	6.68	25.01	33.69	58.70
— fine root	1.14	1.98	3.12	10.08	1.96	12.04	27.64	29.14	56.78
White ginseng									
— main root	0.67	1.22	1.87	2.92	1.50	4.42	20.73	33.86	54.59
— fine root	0.81	1.52	2.33	6.24	1.62	7.86	23.01	30.74	53.75
Red ginseng									
— main root	0.47	1.50	1.97	3.88	1.54	5.42	21.67	29.04	50.71
— fine root	0.72	1.50	2.22	6.51	1.55	8.06	22.67	27.19	49.86

(5) Sterylester의 結合 脂肪酸 및 그 組成

Sterylester를 이루고 있는 脂肪酸은 Table 6에서 보는 바와 같이 linoleic acid(18:2)가 約 60% 이상을 차지하는 주된 지방산이지만 그 외에도 palmitic(16:0), myristic(14:0), stearic(18:0), oleic(18:1)과 linolenic acid(18:3) 等은 檢出, 定量할 수 있었다. 18:2, 16:0人蓼脂肪酸의 70% 以上을 차지하는 것으로서 그 組成 패턴이 崔等이 中性, 糖, 營脂質中에서 分析調査한 것과 유사하며 sterylester의 구성지방산 역시 같은 패턴을 보임을 알 수 있었다. 기타 微量의 脂肪酸들은 檢出되지 않았지만 이는 TLC로 分離하여 얻은 總 sterylester의 含量에 관계된 것인지 좀더 究明해야 할 것으

Table 6. Composition of fatty acids from sterylesters in Korean ginsengs (%)

	Korean ginsengs					
	Fresh		White		Red	
	B*	F**	B	F	B	F
14	6.48	7.96	6.38	9.90	7.16	10.22
16	15.55	24.92	18.63	20.69	15.95	26.56
18	4.96	7.05	4.74	7.25	4.74	9.50
18-1	3.80	3.23	3.30	4.12	3.11	7.97
18-2	67.46	51.47	66.06	53.70	67.89	43.83
18-3	1.75	5.36	0.88	0.63	1.15	1.92

* Body

** Fine root

로 생각된다.

要 約

한국 인삼중 sterol 함량 및 그 조성을 구명하기 위해서 neutral, glyco, phospho lipid로 분획분리후 neutral lipid 분획에서 free와 esterified sterol의 함량 및 그 조성을 GLC로 정량 분석했다.

중성 분획중 sterol 함량은 β -sitosterol이 약 51.60 mg%, stigmasterol이 8.93 mg%, campesterol이 2.17 mg%였다. 부위간에는 미삼부가 동체보다 함량이 높은 경향이나, 가공중 변화도 있는 것 같았다. Esterified sterol의 주요 구성 지방산은 myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acid이었으며, 특히 linoleic, palmitic acid가 70%(조성비) 이상을 차지했다.

引 用 文 獻

1. 高橋三雄, 磯井廣一郎, 吉倉正博, 大杉利章: 81, 771 (1961).
2. Euler, H. and Nordenson, E. : J. Physiol. Chem. 56, 223 (1908).
3. Chung, B. S. : Kor. J. Pharmacoy. 5, 175 (1974).
4. 高英秀 : Kor. J. Food Sci. Technol. 8(4) (1976).
5. Manki, T., Tomimori, T. : Shoyacugaku Zasshi 20, 21 (1966).
6. Ahn, Y. P., Chung, C. C. : Taehan Hwahak Hoeji 14, 281 (1970).
7. 辛孝善, 李敏雄 : Kor. J. Food Sci. Technol. 12(3) (1980).
8. 崔康注, 金萬旭, 金東勳 : Kor. J. Food Nutr. 12(4) (1983).
9. Folch, J., Lee, M., Sloane Stanley, G. H. : J. Biol. Chem. 226, 497 (1957).
10. Rouser, G., Kritchevsky, G., Simon, G. : Lipids 2(1), 37 (1967).
11. Metcalf, L. D., Schmitz, A. A., and Pelka, J. R. : Anal. Chem. 38, 514 (1966).