

## 人蔘根胴體中心部の 遊離아미노산

李美京·朴 薰

韓國人蔘煙草研究所, 大德研究團地

(1987년 6월 5일 접수)

### Free Amino Acids of Xylem – Pith in *Panax ginseng* Root.

Mee-Kyoung Lee and Hoon Park

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Science Town, Daejeon 300-31, Korea

(Received June 5, 1987)

#### Abstract

Composition of free amino acids (FAA) in the central part (xylem plus pith) of tap root in *P. ginseng* was investigated in relation to stem status at harvest. The sum of FAA tended to be higher with dead stem than with healthy one but both were not significantly different. The sum of FAA (3.6-4.9% dried weight) was much less than total FAA, suggesting that water soluble nonprotein fraction contained large quantity of ninhydrin positive components except FAA. Pattern of amino acid composition between both stem status was not different. Ten of all 17 amino acids showed increasing tendency with dead stem and two, glutamic acid and cysteine, decreasing. Major FAA were arginine (relative content 58%), glycine (8.2), lysine (5.9), serine (5.7), glutamic acid (4.2) and aspartic acid (3.5). Above facts strongly suggest that the inside white of red ginseng did not closely related with FAA and that early defoliation or stem death did not decrease FAA. The content of arginine was heighest in all cases reported indicating the important role of nitrogen metabolism. Pattern of FAA composition except arginine was not different in present samples but greatly different with other cases reported mainly due to alanine, phenylalanine, glycine and proline.

#### 서 론

紅蔘을 만들 때 가장 문제가 되는 것은 內空과 內白이다<sup>1,2)</sup>. 內白은 早期落葉이 되는 경우 많은 것으로 보고되었으며<sup>3)</sup> 紅蔘의 紅變物質은 건조중 감소하는 遊離아미노산으로 보았다<sup>4)</sup>. 水蔘의 수용액을 가열하면서 유리아미노산의 급격한 감소가 일어나고 褐變이 되므로 유리아미노산을 褐變物質로 보고 있다<sup>5)</sup>. 이상의 사실은 內白이 아미노산의 부족

에 기인하는 것으로 추론할 수 있고 많은 경우 amino-carbonyl 반응으로 인정하여 이 추론이 당연한 것으로 받아 들일 수 있다. 그러하다면 조기낙엽이 되어 줄기까지 枯死한 경우에는 유리아미노산이 적어야 할 것이다. 본 조사는 지상부의 고사 여부와 관련하여 内皮이 발생하는 胴體中心部の 유리아미노산 함량과 그 조성을 비교하여 内皮的 유리아미노산 결핍가설을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시 료

1985년도 收納(10월 10일)한 2個產地圃(동두천읍) 二等蔘에서 포장별로 葉이 고사한 것과 건전한 두 군의 시료(2~3個根)를 中心部와 周皮部로 分離하여 細切한 후 냉동건조하여 100 mesh로 분쇄(乳鉢)하여 사용하였다. 總遊離아미노산을 ninhydrin법으로 정량하여 그중에서 함량차이가 큰 것<sup>1)</sup>을 아미노산 조성을 조사하는 시료로 하였다.

### 2. 아미노산분석

0.5g 시료에 75% EtOH 40 ml를 가하여 하루밤을 두었다가 상액을 모으고 다시 40 ml를 가하여 70°C 물통에서 30분간 환류추출(2회)하여<sup>6,7)</sup> 상액을 모아 35°C에서 감압건조하였다. 70% acetone을 넣어 원심분리하여 상등액을 다시 감압건조한 후 0.01 N HCl로 녹여 5 ml로 定容하였다. 1 ml를 취하여 0.01 N HCl 함유 30% methanol 2 ml와 합하여 미리 준비한 SEP-PAK C<sub>18</sub>(Waters社)을 통과시켜 처음 1 ml를 버리고 다음 2 ml를 받아 유도체를 만들었다<sup>8)</sup>. SEP-PAK C<sub>18</sub>은 HPLC용 methanol 10 ml로 2회, 0.01 N HCl 10 ml로 1회, 0.01 N HCl 함유 20% methanol 10 ml로 1회 전처리하였다<sup>8)</sup>. 유도체는 시료액 10  $\mu$ l, ethanol 28  $\mu$ l, 물 4  $\mu$ l, triethanolamine 4  $\mu$ l, PITC (phenylisothiocyanate) 4  $\mu$ l를 섞어 실온에서 30분간 방치, 감압건조하여 용해액(disodium hydrogen phosphate, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 710 mg을 1로 녹이고 10% H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>로 pH 7.4로 하고 5% v/v되게 acetonitrile을 첨가)을 200  $\mu$ l 가하여<sup>9)</sup> 10  $\mu$ l를 HPLC에 주입하였다.

표준 아미노산액은 표품 아미노산(Sigma 社)을 人蔘의 조성<sup>과 유사하게<sup>10)</sup></sup> Arg 250 mg, His 27.2, Lys 24.0, Tyr 16.0, Asp, Phe 각 14.0, Pro, Thr 각 12.0, Glu, Ala, Val 각 10.0, Ser, Gly, Met, Ile, Leu 각 8.0, Cys 8.8 mg/100 ml로 만들었다. Tyrosine은 0.1 N HCl에 용해시키고 나머지 아미노산은 30% ethanol에 용해하여 만들었다.

HPLC 조건은 Waters 740 data module 장치 Waters Amino Acid Analysis System을 사용하고 PICO-TAG column은 38°C였다. mobile phase는 PICO-TAG eluent A(pH 6.4 sodium acetate buffer 940 ml+0.5 ml triethanol amine+acetonitrile 60 ml)와 eluent B(60% acetonitrile)였으며 automatic gradient control로 아래표와 같이 gradient를 주었다. UV254 nm에서 1 cm/min chart speed로 attenuation 64 $\times$ 에서 측정하였다. Amino acid 계산은 autointegrator에 의하였으며 Tyr, Met, Ile, Leu, Phe 등 작은 peak는 height를 재어 계산하였다.

줄기의 枯死에 의한 각 아미노산의 증감의 유의성을 t검정<sup>11)</sup>에 의하여 검토하였다.

Gradient Table

Time(min)	initial	10.00	10.50	11.50	12.00	12.50	20.00	20.00
Flow(ml/min)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50	1.50	1.50	1.00
%A	100	54	0	0	0	100	100	100
%B	0	46	100	100	100	0	0	0
Curve	*	5	6	6	6	6	6	6

## 결과 및 고찰

PITC법에 의한 인삼 中心部 free amino acids의 HPLC 결과는 Fig.1과 같다. 홍삼細尾의 유리아미노산 함량비에 유사하도록 표준혼합액을 만들어 HPLC를 본 결과는 Fig.2와 같다. 표준 HPLC에서도 미세한 ghost peak이 수개 있으며 이를 참고로 한 시료중의 未同定 peak중 가장 큰 것은 serine 앞에 있는 peak a로 그 양은 histidine 정도이므로 전체 아미노산 함량에 크게 오차를 주지 아닐 것이다. 또한 시료간에도 약간의 변화에 불과하므로 유리

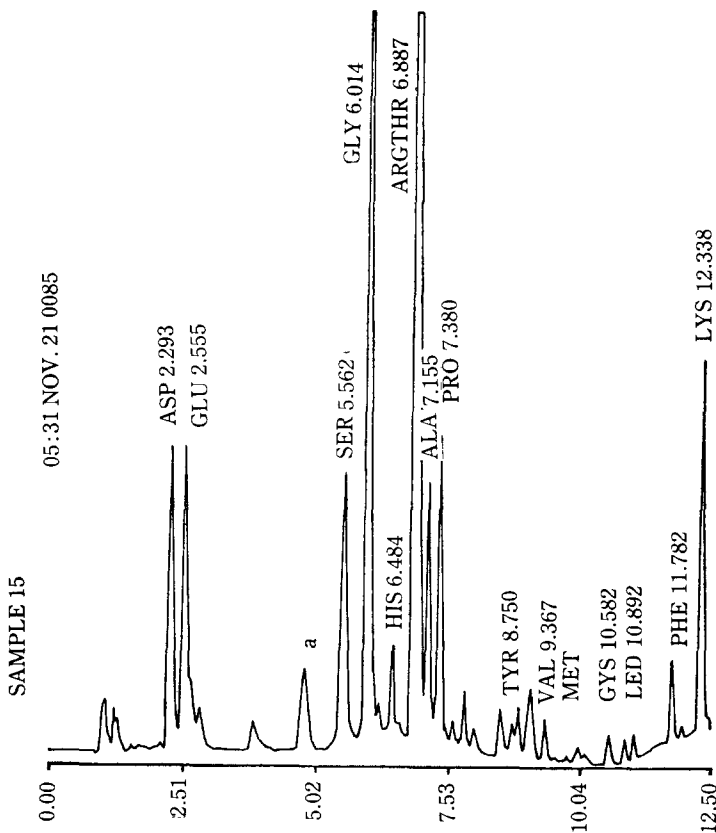


Fig. 1. High performance liquid chromatogram of free amino acids in the central part (xylem and pith) of *P. ginseng* (Field B. SY.). a: unknown

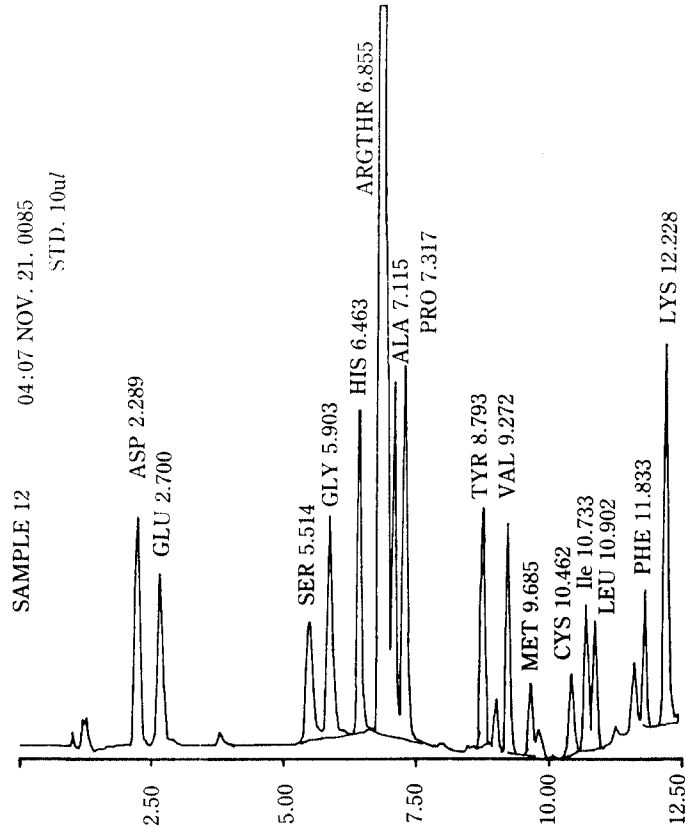


Fig. 2. High performance liquid chromatogram of standard amino acids in similar composition of *P. ginseng*.

아미노산의 조성類似度에도 크게 오차요인으로 작용하지는 않을 것이다.

두개 포장에서 각 포장별 蕐이 고사한 것과 건전한 뿌리의 중심부 유리아미노산 조성은 Table 1과 같다. 17개의 아미노산이 모두 존재하는 것으로 나타났으며 지상부의 조건에 관계 없이 17개 모두 존재하였다. 水蓼이나 白蓼 또는 紅蓼에서 유리아미노산 조사의 경우 17개가 모두 정량된 것은 없다. 傘<sup>11)</sup>은 proline과 valine이 수삼에서 없었으며 李들<sup>12)</sup>은 皮付白蓼 및 홍삼에서 proline, cysteine이 없었다. 傘과 朴<sup>5)</sup>은 처음 동정한 norleucine을 합하여 9개의 아미노산을 수삼즙에서 정량하였다. 成들<sup>10)</sup>도 紅尾蓼에서 proline과 methionine을 정량하지 못하였다.

유리아미노산 총량은 3.6%에서 4.9%(乾重當)의 범위인데 포장간에 차이가 있고 蕐이 고사한 경우 증가하는 경향이나 유의성은 없다(Table 1). Ninhydrin 방법에 의한 총유리아미노산 함량<sup>1)</sup>(Table 2)과 비교하면 시료에 따라 차이가 다르고 일반적으로 차가 크다. 이는 유리아미노산 이외에 peptide들이 많이 있어 ninhydrin과 반응하기 때문이라고 생각된다.

人蓼이 조기낙엽이 되는 경우 内白발생이 많아지는 것으로 보고 되었으나<sup>3)</sup> 본 조사에서 유리아미노산이 감소하지 아니하므로 유리아미노산의 부족이 내백의 원인이 될 가능성은 희박하다.

Table 1에서 보면 10개의 아미노산이 증가하는 경향을 보이며 methionine, leucine

**Table 1.** Composition of free amino acids in the central part (xylem and pith) of *P. ginseng* root in relation to stem status (ug/g.DW)

	Field A		Field B		Change of content (SY-SN)	Probability (P) in t test
	SY	SN	SY	SN		
Asp.	1138	1494	1706	1292	A	N
Thr.	1362	1660	1160	1132	A	N
Ser.	2242	3036	1794	2274	I	0.2-0.1
Glu	2094	1726	1850	1096	D	0.4-0.2
Pro.	976	1008	872	958	I	0.4-0.2
Gly	4340	3226	2856	2866	A	N
Ala.	778	1428	736	152	I	0.4-0.2
Val.	174	374	166	262	I	0.4-0.2
Cys.	368	279	318	312	D	0.5-0.4
Met.	77	118	60	100	I	0.01
Ile.	72	306	134	210	I	0.4-0.2
Leu.	138	312	158	266	I	0.2-0.1
Tyr.	176	650	281	422	I	0.4-0.2
Phe.	136	434	136	320	I	0.2-0.1
Lys.	2500	2124	2294	2502	A	N
His.	682	924	982	1062	I	0.4-0.2
Arg.	24532	25896	20896	20376	A	N
Sum	41785	48995	36399	36402	I	0.5-0.4

A: alternative I: increase D: decrease N: nonsignificant SY: healthy stem SN: dead stem

**Table 2.** The contents of total free amino acids and soluble protein in the central part (xylem and pith) of *P. ginseng* root (mg/g D.W.)

	Field A		Field B	
	SY	SN	SY	SN
*Total free amino acids	49.5	70.9	44.4	51.0
Soluble Protein	36.2	30.9	26.2	20.8

\*: ninhydrin method; SY: healthy stem; SN: dead stem.

phenylalanine, serine은 그 증가가 비교적 뚜렷하다. 감소경향을 보이는 것은 glutamic acid와 cysteine 둘 뿐이다.

Trichloroacetic acid로 침전시킨 수용성 단백질함량<sup>1)</sup>을 보면(Table 2) 芫이 고사한 경우에 상당히 감소하였다. 즉 芫의 고사는 수용성 단백질이 분해되어 유리아미노산으로 전환된다고 보아야 할 것이다.

紅蓼의 紅色化반응을 일반적으로 알려진 樹變반응으로 보고 紅蓼제조과정에서 유리아미노산이 감소하였으므로 amino-carbonyl 반응으로 보았으나<sup>4)</sup> 紅色度變化와 관계를 보지는 아니하였다. 傘과 朴<sup>5)</sup>은 수삼즙액을 가열하면서 가열 초기에 유리아미노산이 급격히 감소하므로

amino-carbonyl 반응으로 보았으나 갈색도 발현속도와 유리아미노산 감소속도는 비교되지 아니하였으며 그 양자 간에는 상당히 큰 차이를 보이고 있다. 따라서 유리아미노산의 갈변반응에 대한 기여도가 양적으로 분석된 바가 없다. 정상삼에서 유리아미노산이 갈색화에 기여한다고 하더라도 内門의 원인이 아미노산의 부족 때문이라고는 할 수 없다. 유리아미노산이 전물당 4.9% 또는 3.6%나 낙연되어 줄기가 고사된 人蔘에서도 존재하기 때문이다. 아직 이유는 알 수 없으나 아미노산보다도 적은 수용성 단백질과 관계되며<sup>1,2)</sup> 조직의 해면화와 관계가 깊은 것으로 보인다.

유리아미노산의 조성類似도를 단순상관으로 본 것은 Table 3과 같다. 蔘의 고사 유부와 관계없이 상당히 높은 유사도를 보인다. Arginine이 특별히 많기 때문에 제외하고 보면 상관계수는 떨어지지만 유의성은 같다.

본 시험의 有蔘(A포장)의 것 과 蔘<sup>5)</sup>의 6년근 水蔘에서의 조성 과 蔘들<sup>15)</sup>의 皮부백삼(年根不明)의 조성과의 類似도를 보면(Table 3) arginine을 포함한 경우 상당히 같은 pattern으로

Table 3. Pattern similarity of free amino acid composition in *P. ginseng* root.

Relation	with arginine			without arginine		
	n	r	p	n	r	p
*(A)SY-(A)SN	17	0.996	0.001	16	0.932	0.001
(B)SY-(B)SN	17	0.998	0.001	16	0.939	0.001
(A)SY-(B)SY	17	0.998	0.001	16	0.956	0.001
(A)SN-(B)SN	17	0.997	0.001	16	0.913	0.001
(A)SY-WF	17	0.973	0.001	16	0.117	NS
(A)SY-WD	17	0.971	0.001	16	0.303	NS
WF-WD	17	0.988	0.001	16	0.228	NS

refer to Table 1. (A)SY: Field A. Healthy stem, WF: whole fresh root<sup>4)</sup>, WD: whole dried root<sup>12)</sup>, r: simple correlation coefficient, p: probability

나타나나 arginine을 제외하면 pattern간에는 類似도가 인정되지 아니한다. 이는 앞에서 본 바와 같이 검정이 안된 것들이 있을 뿐 아니라 蔘<sup>4)</sup>의 경우에는 phenylalanine이 특히 많은데 蔘들<sup>12)</sup>의 경우에는 alanine이 특히 많고 본 시료의 경우에는 두 경우에 상당히 적었던 glycine이 많아지는 등 arginine 이외의 아미노산에서 變化가 많기 때문이다. 이들 arginine 이외의 아미노산의 변화가 어디에서 기인하는지 알 수 없으나 본 조사에서 포장에 다른데도 거의 차이가 없음을 기상과 관계되는 것 같다.

본 조사에서 arginine은 전 아미노산의 56%~61%로 이제까지 수삼이나 백삼에서 보고된 것<sup>4,12)</sup>과 유사하다. 네 시료의 평균은 58.3%로 蔘들<sup>12)</sup>의 48.2%와 蔘<sup>4)</sup>의 68.6% 사이에 위치한다. 본 시료에서는 arginine 다음으로 glycine(8.2%), lysine(5.9%), serine(5.7%), glutamic acid(4.2%), aspartic acid(3.5%)의 順으로 많으며 이들의 합은 arginine과 함께 85.5%가 된다. Arginine의 생리적 의의가 무엇인지 질소대사의 연구를 통하여 밝혀야 할 중요한 과제라고 생각한다. 갈색화반응과 관련해서가 아니라 조직의 치밀도와 관련한 질소대사면에서의 추구가 内門과 arginine과의 관계해명에 흥미있는 결과를 줄 것이기 때문이다.

## 요 약

收納時期 6년근 水蓼의 胴體中心部의 유리아미노산 조성을 지상부의 枯死有無와 관련하여 조사하였다. 유리아미노산의 총합은 枯死葉의 경우에 증가하는 경향이나 유의성은 없었다. 유리아미노산 총합(3.6~4.9% 乾重)은 ninhydrin法에 의한 총유리아미노산 함량과 차이가 컸으며 이는 수용성 非蛋白質 분획에 상당량의 유리아미노산 이외의 ninhydrin 반응물이 있음을 나타낸다. 葉의 枯死가 유리아미노산 組成類似度에 영향을 주지는 아니하였다. 17개 아미노산중 10개가 葉枯死에 의하여 증가하는 경향을 보였고 두개(glutamic acid, cysteine)는 감소경향을 보였다. 주요 amino acid는 arginine(상대함량 58%), glycine(8.2), lysine(5.9), serine(5.7), glutamic acid(4.2), aspartic acid(3.5)였다. 이상의 결과는 末期落葉이나 葉枯死가 유리아미노산을 감소시키지 아니하므로 유리아미노산이 体内과 관계되지 아니함을 강력히 시사한다. 보고된 모든 경우에 arginine의 함량이 가장 높으므로 질소 대사에 중요한 역할이 있을 것이다. 본 조사결과가 기타 보고된 것과 유리아미노산 조성 유사도에서 arginine을 제외한 경우 유의성이 없는 것은 주로 alanine, phenylalanine, glycine 및 proline의 변화 때문이다.

## 인용문헌

1. 박 훈, 이명구, 윤종혁, 이미경, 조병구, 이종률 : 栽培條件이 紅蓼品質에 미치는 影響研究, 人蓼研究報告書(栽培分野) 215 韓國人蓼煙草研究所(1985).
2. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, 栽培條件이 紅蓼의 內空·內白에 미치는 影響研究 同書 259, (1986).
3. 홍정국, 남기열, 권석철 : 수삼품질개선시험, 인삼연구보고 37, 고려인삼연구소(1978).
4. 金銅淵 : 韓農化지 16 : 60(1973).
5. 金萬旭, 朴來正 : 高麗人蓼學會誌 5, 122(1981).
6. 박 훈, 전재근, 조인호 : 韓農化지 15, 35(1972).
7. 黃鍾奎, 梁熙天 : 人蓼文獻特集 5, 123(1974).
8. Amino acid analysis system operator's manual. Millipore Waters Chromatography Division (1983)
9. Henrikson R.L. and Meredith S.C.: Anal. Biochem. 136; 65 (1984)
10. 성현순, 김우정, 양차범 : 高麗人蓼學會誌 9, 95(1985).
11. Gomez K.A. and Gomez A.A.; Statistical procedures for Agricultural Research, John Wiley and Sons (1984)
12. 李盛雨, 黑崎敏晴, 禹相圭, 尹泰憲 : 韓國營養食糧學會誌, 11 : 37(1982).