

山藥 粘液成分의 精製와 含量分析에 관한 研究

한용남 · 한승혜* · 이인란*

서울대학교 생약연구소, *이화여자대학교 약학대학

Purification of Mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. japonica* and their Content Analysis

Yong Nam Han, Seung Hye Hahn* and Ihn Rhan Lee*

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460,
and *College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-170, Korea

Abstract—This study was conducted to further characterize mucilages from *Dioscoreae Rhizoma*, which have been known to be proteoglycans. We chose the two types of yams, *Dioscorea batatas* Dec. (club-like) and *D. japonica* Thunb. (cane-like). Repeated gel filtration of a dialyzed water extract of each fresh yam on Bio-gel P-100 and then Sephadex G-150 columns completely separated the mucilage from protein. Furthermore, gel filtration of a water extract from each yam processed by steaming and drying on the Bio-gel P-100 column gave only one polysaccharide peak without protein. These results revealed that the mucilages of yams were only composed of polysaccharide. Then we assessed some properties of the mucilages under three kinds of criteria: a complex-forming capacity between mucilage and alcian blue, mannose content in the mucilage, and viscosity. The complex-forming capacities of two types of fresh yams were closely similar with each other, but the processing of two types of the fresh yams greatly lowered the complex-forming capacity and viscosity.

Keywords—Mucilage · *Dioscoreae Rhizoma* · *Dioscorea batatas* Decaisne · *Dioscorea japonica* Thunb. · proteoglycan · alcian blue · viscosity.

한국산 산약(*Dioscoreae Rhizoma*)의 기원식물로는 마과(*Dioscoreaceae*)에 속하는 마(*Dioscorea batatas* Decaisne) 및 참마(*D. japonica* Thunberg)가 있다. 이들의 뿌리줄기의 주피를 제거하고 그대로 또는 썬서 말린 것을 山藥 또는 저령이라는 生藥名으로 하여 사용한다.¹⁾ 본 연구에서 사용한 시료는 재배품종으로서 우리나라에서 가장 많이 쓰여지고 있는 두 가지 형태의 마, 즉 근봉형 마 및 杖형 마이며, 전자는 *Dioscorea*

batatas 후자는 *D. japonica*에 속한다고 한다.

마와 참마는 한국, 일본, 중국에서 자생하거나 재배하고 있으며, 예로부터 한방에서는 滋養強壯, 止瀉, 止渴, 鎮咳 등의 목적으로 쓰여왔다.²⁾ 마의 뿌리 줄기는 식용으로도 많이 사용하는데, 특히 일본에서는 산마의 여러가지 가공과 인스턴트 식품제조에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.³⁾

산약의 알려진 성분으로는 근경에 점액성분

(mucilage), steroidal saponin (dioscin), starch (16%), vitamin C(5 mg%), 3,4-dihydroxyphenylethylamine (dopamine), phytic acid^{1,2)}, polyphenol oxidase⁴⁾ 등이 있고, 영여자(마, 참마의 葉腋間의 주芽)에는 abscisin II, batatasin I, II, III(휴면유발물질 dormancy-inducing substance)가 있는 것으로 알려져 있다.⁵⁾

마(*D. batatas*)의 mucilage에 관한 최근 연구 보고에 의하면 *Dioscorea mucilage-B*는 부분적으로 acetyl화 된 mannan과 소량의 phosphorous를 함유하는 단백질이 1:2.2 비율로 구성된 결합체로 알려져 왔고,⁶⁾ 참마(*D. japonica*)의 mucilage에도 protein이 함유되어 있고 polysaccharide 분획은 mannose와 glucose가 6:1 비율로 구성되어 있으며 O-acetyl group이 8.8% 함유되어 있다고 보고되어 왔다.⁷⁾

일반적으로, 식물의 점액성 다당류는 다음과 같이 크게 2종으로 분류되고 있다. 1) homopolysaccharide: arabinan, xylan과 같은 5탄당류의 polymer, glycan, mannan, carrageenan과 같은 6탄당류의 polymer, polyuronic acid, phosphogalactan 등, 2) hetero-polysaccharide: glycouronoglycan, heterohexosan, gum arabic, alginic acid 등이다. 그러나 이러한 다당류에는 단백질이 거의 결합되어 있지 않은 것으로 알려져 있으며, 단지 동물의 mucin과 같은 mucopolysaccharide는 단백질이 결합되어 있는 것으로 알려져 있다.⁸⁾

따라서 본 연구자는 산약의 mucilage에 단백질이 약 2/3 함유되어 있다는 보고⁶⁾에 의문점을 가지고 산약의 mucilage정제에 관한 연구를 착수하였다. 종래에는 산약의 mucilage를 정제하기 위해 에탄올 또는 아세톤 용매에 의한 침전법^{6,9-11)}을 이용하였으나, 이 방법은 protein과 다당체를 공침시키고, 다당체를 변성시킬 수도 있으므로 이러한 용매 침전법을 사용하지 않고 대신 mucilage의 변성을 막을 수 있는 gel filtration 방법으로 mucilage정제를 실시하였다.

또한, 앞에서 언급한 바와 같이 대부분의 식물성 점액 물질이 산성 다당류인 경우가 많으므로 이에 착안하여 산성 다당류의 침전시약인 alcian blue dye^{12,3)}와 산약 mucilage가 복합체를

형성함을 알게 되었고 이것을 이용해서 산약 mucilage의 함량분석법을 확립하고, 산약의 가공에 따른 mucilage의 함량변화를 알아 보고자 하였다.

실 험 방 법

재 료

시료 산약으로는 곤봉형 마(club-like yam, 이하 type I이라 약함) 및 장형마(cane-like yam, 이하 type II라 약함) 두 종류를 택하였다. Type I은 1990년 6월 경동시장에서 생품으로 구입하였고, type II의 생품은 서울대 생약연구소 재배시험장에서 채집하였다. 두 가지 시료 Type I과 Type II의 증진품은 각각의 생품을 잘게 쪼갬 후 약 1시간 동안 증기로 쪄 후에 그늘에서 약 7일간 風乾하여 절구로 가루를 내어 사용하였다.

시 약

특수시약으로는 carbazole(Junsei Chemical Co., Ltd.), anthrone (BDH Chemical Ltd.), Folin Ciocalteu's phenol reagent (Merk), alcian blue 8GX (Jassen Chimica, content 25%)를 사용하였고, 기타 시약은 모두 first grade 시약을 사용하였으며, gel filtration chromatography용으로는 Sephadex G-150 (fine, Pharmacia Co.) 과 Bio-gel P-100 (100~200 mesh, Bio-Rad Laboratories)을 사용하였다. Dialysis sack은 pore size 12,000 이상의 것을 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다.

기기 및 기구

UV 및 visible spectra는 Gilford system 2600 UV-Vis spectrometer로 기록하였고, 원심분리는 Sorvall RT6000 refrigerated centrifuge 및 Sorvall super-speed centrifuge RC-5B로 측정하였으며, viscosity는 Ostwald viscometer (Leeds and Northrup Co., USA, Model No. 200)를 사용하여 측정하였다.

산약 Mucilage의 물 추출 및 투석

곤봉형 마 생품(fresh type I, 이하 FI이라 약함) 및 장형 마 생품(fresh type II, 이하 FII라 약함) 각각 490 g 및 200 g에 증류수 490 ml,

300 ml 썩을 넣고 mixer로 homogenize한 뒤 하룻밤 방치(4°)한 후 10,000 rpm에서 30분간 2회 원심분리하여 상등액을 각각 670 ml, 400 ml을 얻었다.

두 가지 시료 type I과 type II의 증진품 (steamed/dried type I, type II, 이하 SI, SII라 약함) powder 각각 50 g에 증류수를 200 ml씩 가하여 4°에서 하룻밤 교반한 뒤에 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 각각 155 ml, 150 ml를 얻었다.

FI 및 FII를 각각 68 ml, 60 ml 취하여 냉방(4°)에서 72시간 동안 투석한 후 투석내액을 100 ml, 95 ml씩 얻었다. 또한, SI 및 SII를 각각 77.5 ml, 75 ml씩 취하여 같은 방법으로 투석하여 147.5 ml, 127.5 ml의 투석내액을 얻었다.

산약 Mucilage의 겔 여과

Bio-gel P-100에 의한 겔 여과 : Bio-gel P-100은 50mM Tris-HCl (pH 7.38)로 세척한 뒤, 탈기하여 사용하였으며 이 buffer를 용출용매로 하여, 냉방(4°)에서 column chromatography를 실시하였다.

FI 및 FII를 각각 17 ml(생품 8.5 g 상당량), 15 ml(생품 6.0 g 상당량)를 취하여 Bio-gel P-100 column(2.8×84 cm)에 apply하였다. column 용출액은 5 ml씩 분취하였고, 이 분취들에 대하여 UV 270 nm에서 흡광도 및 hexose test, uronic acid test, protein test를 실시하였다. 또한 FI 및 FII의 투석내액 25 ml(생품 8.5 g 상당량) 및 15 ml(생품 3.8 g 상당량)를 취하여 Bio-gel P-100 column(3.8×68 cm)에 apply하였고, 용출액은 10 ml씩 분취하여 hexose, uronic acid, protein test 및 270 nm에서 UV 흡수를 측정하였다.

SI 및 SII의 물 추출액을 각각 15.5 ml(증진품 5 g 해당량), SI 및 SII의 투석내액 각각 29.5 ml(증진품 4 g 상당량), 25.5 ml(증진품 4 g 상당량)를 Bio-gel P-100 column(2.8×84 cm)에 apply하고, 용출액을 5 ml씩 분취하여 hexose, uronic acid, protein test와 270 nm에서 UV 흡수를 관찰하였다.

Sephadex G-150에 의한 Re-gel filtration:

Sephadex G-150(2.8×49 cm)은 50 mM Tris-HCl (pH 7.38)로 세척한 뒤, 탈기하여 사용하였으며, 이 buffer를 용출용매로 하였고, 실온(25°)에서 column chromatography를 실시하였다. FI의 투석내액을 Bio-gel P-100으로 겔 여과하여 얻은 Fr.a (Fig. 1B) 35 ml를 40° 이하에서 감압 농축하여 15 ml로 하였다. 이 농축액을 Sephadex G-150 column에 apply하여 5 ml씩 용출분획을 얻어 hexose, uronic acid, protein test와 270 nm에서 UV 흡수를 관찰하였다.

당 및 단백질의 분석

검체중 hexoses의 함량은 검액 0.5 ml를 취하여 anthrone-H₂SO₄¹⁴⁾ 법으로 분석하였고, 검체중 uronic acid의 함량은 검액 1 ml에 sodium borate/C-H₂SO₄ 시약 5 ml, carbazol 시약 0.2 ml를 사용하여 carbazol법¹⁵⁾으로 분석하였다. 또한 검체 중 protein의 함량은 Lowry method¹⁶⁾에 의해 측정하였는데 검액 1.2 ml에 alkaline copper solution 6 ml와 Folin ciocalteu's reagent 0.3 ml를 가하여 잘 섞은 후, 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

산약 Mucilage의 함량분석

검액 및 시약조제—검액은 FI, FII, SI, SII 4가지 시료의 물 추출액을 가지고 조제하였다. 4가지 시료의 원액(stock solution) 농도는 Scheme I에 나타낸 바와 같으며, 각 원액을 1/2, 1/4, 1/8의 희석배수로 각 pH에 해당하는 buffer를 가지고 희석하여 mucilage 함량분석을 실시하였다. Buffer는 50 mM sodium acetate buffer(pH

Yam (2.5~5.0 g)

Extracted with 10 ml water at 4°
(Fresh yam: homogenized, Processed-yam powder: stirred overnight)
Centrifuged at 3000 rpm for 10 min
Dialyzed or not with water
To make 100 ml with proper buffer

Stock solution

Final concentration:

1. Fresh/club-like yam: 5.0 g/dl
2. Fresh/cane-like yam: 4.0 g/dl
3. processed/club-like yam: 2.5 g/dl
4. processed/cane-like yam: 2.5 g/dl

Scheme I. Extraction of mucilage from yam and preparation of mucilage stock solution.

4~6)와 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7~9)를 사용하였다. Alcian blue buffer solution은 alcian blue를 0.1%가 되게 각 pH의 적당한 buffer에 충분히 녹여 여과지로 두 번 여과한 뒤 사용하였다. Alcian blue-mucilage complex의 용해제로는 10% acetic acid, 10% formic acid, 30% tween-80 ethanol solution 또는 ethylene glycol을 사용하였다.

함량분석—4 가지 시료의 물 추출액(FI, FII, SI, SII) 및 각각의 투석내액을 검액으로 하여 검액을 0.5 ml씩을 취해 원심분리용 플라스틱 시험관에 넣고 세게 교반하면서 0.1% alcian blue buffer solution을 5 ml씩 가하였다. 2시간 동안 실온에서 방치한 후 형성된 침전을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻었다. 이 침전에 10% HAc 5 ml를 가하여 용해된 alcian blue dye의 흡광도를 620 nm에서 측정하였다. Mucilage의 함량은 unit로서 나타내었다. 즉 검액을 계열 희석하여 alcian blue와 complex를 형성시킨 후 10% 초산으로 용출되는 alcian blue의 흡광도가 1.0일 때 mucilage의 양을 1 unit로 하였다.

산약 mucilage viscosity 측정

4가지 시료의 물 추출액(FI, FII, SI, SII)의 투석내액을 검액으로 하여 Ostwald viscometer^{17,18)}를 사용해서 절대점도(specific viscosity)를 측정

하였고, 표준액으로서 증류수를 사용하여 상대 점도(relative viscosity)를 측정하였다. Specific viscosity 및 relative viscosity의 단위는 CP(centi poise)를 사용하였다.

실험 결과 및 고찰

산약 Mucilage의 정제

곤봉형 마의 Mucilage—곤봉형 마 샘플(FI)의 물 추출액을 Bio-gel P-100 column에서 겔 여과한 결과는 Fig. 1A에 나타낸 바와 같다. Uronic acid positive peak는 void volume 부근의 effluent volume 110 ml에서 하나가 일어났고, hexose positive peak는 effluent volume 110 ml 및 445 ml에서 두 개가 나타났다. 270 nm의 UV 흡수 peak는 effluent volume 110 ml와 130 ml에서 두 개, 370 ml와 480 ml 사이에서 4개, 총 6개의 peak가 나타났으며, protein peak는 void volume 부근의 effluent volume 110 ml와 130 ml에서 두 개, void volume의 3.9배 부근에서 하나가 일어났다. 즉, void volume 부근의 effluent volume 110 ml에서는 uronic acid, hexose, protein, UV 흡수가 모두 일치하는 하나의 peak가 일어났으며, effluent volume 130 ml에서는 또다른 UV 흡수 및 peak protein peak가 일치하여 나타났다. 한편, FI을 투석한 후 Bio-gel P-100

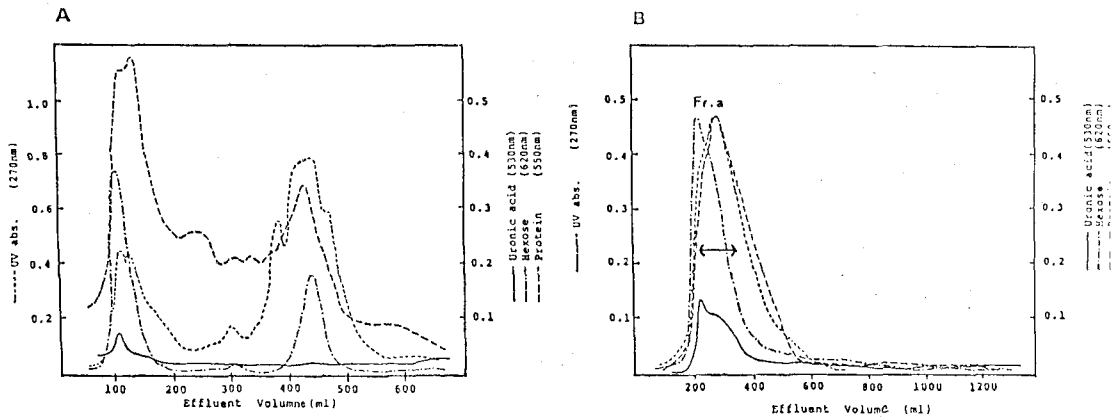


Fig. 1. Gel filtration of a water extract from fresh club-like yam on Bio-gel P-100. The water extracts before(A) and after(B) dialysis were applied on a column of Bio-gel P-100(2.8×84 cm), equilibrated with 50 mM Tris-HCl buffer, pH 7.38. The sample was eluted with 50 mM Tris-HCl buffer, pH 7.38, and five ml of effluent per tube was collected.

column으로 겔 여과한 결과(Fig. 1B), Fig. 1A에서 void volume의 4배 부근을 전후로 하여 용출되었던 저분자분획은 모두 소실되었고, void volume 부근에서 uronic acid, hexose, protein, UV 흡수가 일치하는 peak와 protein, uronic acid, UV 흡수가 일치하는 또다른 단일 peak가 분리되어 나타났다. 따라서, 투석전에 하나처럼 보였던 uronic acid, hexose, protein, UV 흡수 peak가 투석 후에 polysaccharide peak와 protein peak 사이에서 부분적인 분리가 일어났으므로 이들을 더 분리시켜 보기 위해 이 분획(Fr. a)을 모아 다시 Sephadex G-150에 의한 겔 여과를 시도하였다.

Fr. a(effluent volume 210~370 ml)를 농축하여 Sephadex G-150으로 다시 겔 여과한 결과(Fig. 2), void volume 부근의 effluent volume 100 ml에서 uronic acid, UV 흡수가 일치하는 단일 peak와 void volume의 2.5배 부근에서 protein 및 UV 흡수 peak가 서로 완전히 분리되어 나타났다. 결과적으로 Bio-gel P-100에서 부분적으로 분리되었던 polysaccharide 및 protein peak가 Sephadex G-150 column을 통하여 완전히 분리된 것을 알 수 있었다.

곤봉형 마 증진품(SI)의 물 추출액을 Bio-gel P-100으로 겔 여과하여 Fig. 3A의 결과를 얻었다. Void volume 부근에서 강한 hexose peak와 uronic acid 및 UV 흡수가 일치하는 단일 peak를 얻었고 끝이여 여러개의 강한 uronic acid

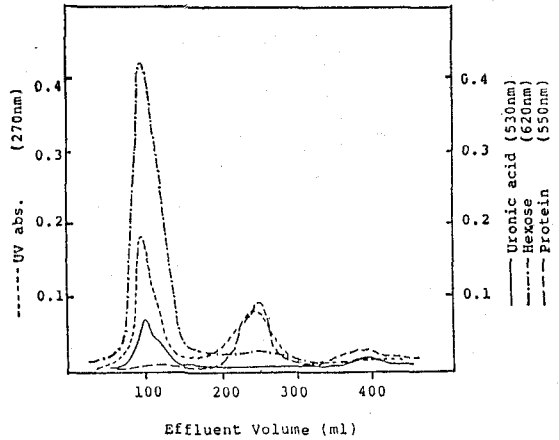


Fig. 2. Re-gel filtration of the mucilage fraction from fresh type I (FI, dialyzed) on Sephadex G-150.

Fr. a from Bio-gel P-100 (Fig. 1B) was concentrated below 40° with rotary evaporator under reduced pressure, and then applied on a column of Sephadex G-150 (2.8×49 cm) which was equilibrated with 50 mM Tris-HCl buffer, pH 7.38.

peak와 함께 UV 흡수 peak를 얻었는데 protein peak는 거의 소실되어 나타나지 않았다. 또한, void volume의 3.4배 부근에서 두 개의 강한 UV 흡수 peak 및 이와 일치하는 uronic acid, hexose peak를 얻었다. 한편, SI을 투석하여 같은 colume으로 겔 여과하여 Fig. 3B의 결과를 얻었는데, protein peak 및 저분자 분획은 거의 모두 소실되었고 void volume에서 hexose와

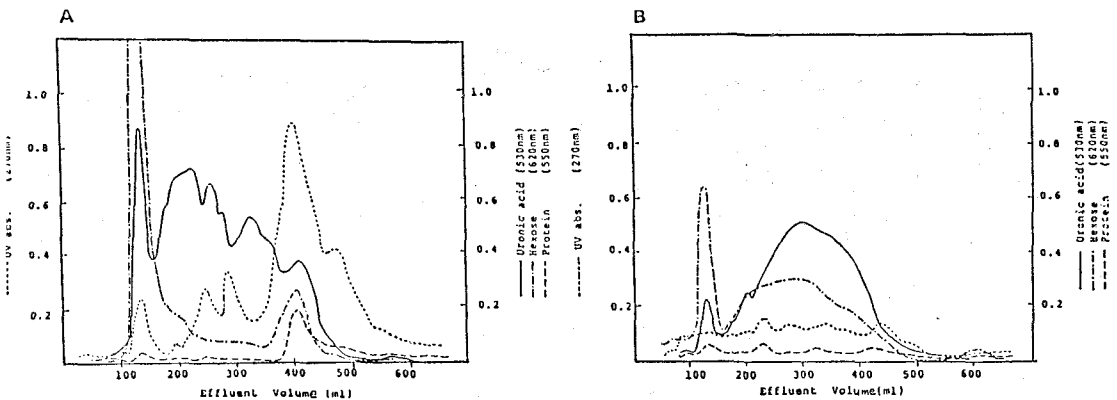


Fig. 3. Gel filtration of a water extract from steamed/dried club-like yam on Bio-gel P-100. The water extracts before(A) and after(B) dialysis were gel chromatographed as those described in Fig. 1.

uronic acid가 일치하는 단일 peak와 void volume의 2.3배 부근을 전후로 하여 완만한 hexose와 uronic acid peak가 나타났다.

이 결과로 보아 곤봉형 마의 mucilage는 polysaccharide와 protein이 서로 결합되어 있는 glycoprotein이 아니고 polysaccharide만으로 이루어져 있음을 입증하였다.

장형 마의 Mucilage—장형 마 생품(FII)의 물 추출액을 Bio-gel P-100으로 겔 여과하여 Fig. 4A의 결과를 얻었다. void volume 부근의 effluent volume 110 ml에서 하나의 hexose peak 및 170 ml에서 protein, hexose, UV 흡수물질로 이루어진 또다른 peak를 얻었고, uronic acid peak는 effluent volume 110 ml 및 170 ml에서

두 개가 나타났다. 또한 void volume의 4배 부근에서 두 개의 강한 UV 흡수를 갖는 저분자 분획을 얻었다. FII을 투석한 후 같은 column으로 겔 여과하였을 때, Fig. 4B에 나타난 바와 같이 강한 UV 흡수를 갖던 저분자 분획은 소실되어 2개의 major peak가 얻어졌다. Effluent volume 150 ml에서 hexose와 uronic acid가 일치하는 한 개의 peak와 200 ml에서 protein, UV 흡수, uronic acid가 일치하는 또다른 peak가 분리되어 나타났다. 이 결과는 곤봉형 마 생품(FI)의 gel filtration 결과(Fig. 1B)와 매우 유사하였다.

장형 마 증진품(SII)의 물 추출액을 Bio-gel P-100으로 겔 여과하여 Fig. 5A를 얻었다. Void

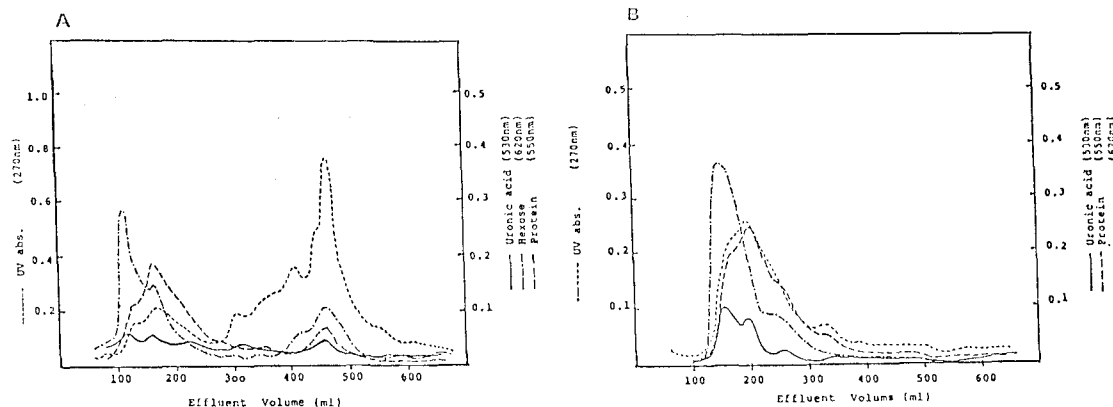


Fig. 4. Gel filtration of a water extract from fresh cane-like yam on Bio-gel P-100. The water extracts before(A) and after(B) dialysis were gel chromatographed as those described in Fig. 1.

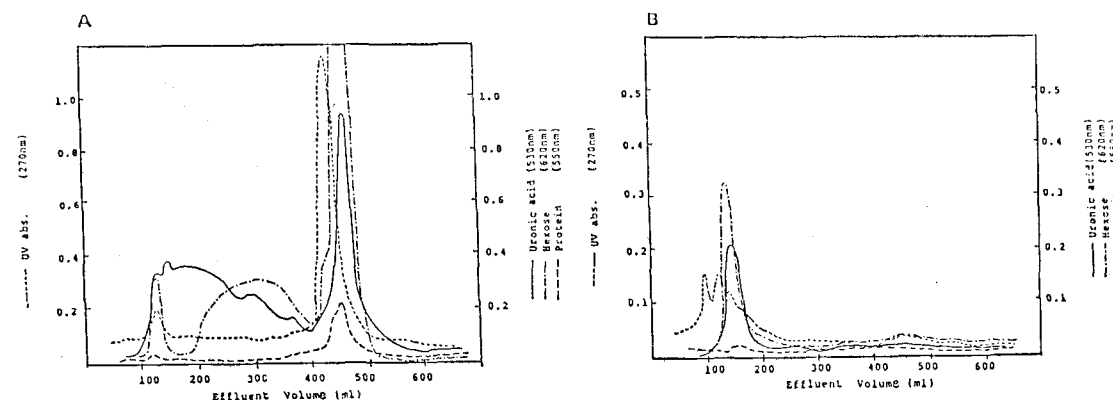


Fig. 5. Gel filtration of a water extract from steamed/dried cane-like yam on Bio-gel P-100. The water extracts before(A) and after(B) dialysis were gel chromatographed as those described in Fig. 1.

volume에서 hexose, uronic acid, UV 흡수가 일치하는 단일 peak와 함께 곧이어 uronic acid의 완만한 peak가 나타났고 hexose의 peak도 완만하게 나타났다. Void volume의 3.5배와 3.8배 부근의 저분자 분획에서는 강한 hexose 및 uronic acid, UV 흡수물질, protein peak가 나타났는데, 이들 peak가 모두 정확하게 일치하지는 않았다. SII를 투석하여 같은 column으로 겔 여과하여 Fig. 5B의 결과를 얻었는데, 저분자 분획 및 protein peak는 모두 소실되었으며 void에서 volume hexose, uronic acid 및 3개의 UV 흡수 peak가 나타났으나 protein은 거의 없었다.

산약 Mucilage의 함량분석

Alcian blue는 bacterial cell이나 histiocyte(조각기), fibroblast(섬유아세포) 등을 염색하는데 사용되어 온 staining agent로서, 실험동물의 위점막피복 점액을 정량하는데 이용되고 있으며,¹³⁾ 이 방법은 동물의 mucin을 정량하는 방법으로서 최적 pH는 5.7이다. 본 실험에서는 alcian blue가 산약 mucilage와 복합체를 형성하여 침전하는 성질을 이용하여 산약 mucilage의 함량

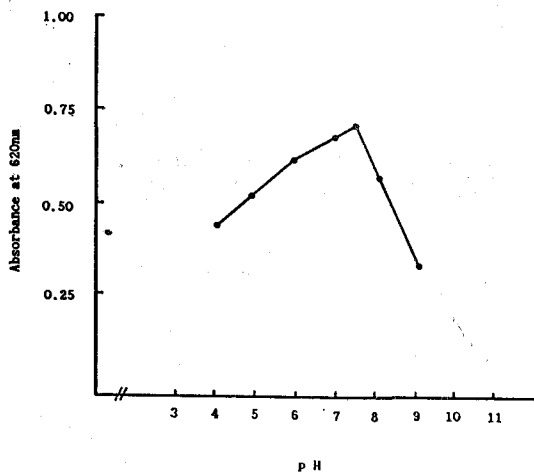


Fig. 6. A pH profile for complex formation of mucilage and alcian blue dye. One half ml of the stock solution from fresh Type I(FI, dialyzed) was added to five ml of 0.1% alcian blue buffer solution. After 2 hr, the precipitate was taken by centrifugation, and dissolved in five ml of 10% HAc. Absorbance of the blue color was measured at 620 nm.

분석을 시도하였다.

Mucilage-alcian blue complex 형성의 최적 pH—산약 mucilage와 alcian blue와의 복합체 형성의 최적 pH 조건을 알기 위해 50 mM sodium acetate buffer를 사용하여 pH 4에서 6까지, 50 mM Tris-HCl buffer를 사용하여 pH 7에서 9까지 검색하였고, 검액은 FI의 투석내액으로 하였다. 그 결과, mucilage-alcian blue complex 형성에 가장 적당한 pH는 반응성이 가장 크게 나타난 7.4 부근이었으며(Fig. 6), 각 pH 조건에서 mucilage의 정량곡선을 얻은 결과(Fig. 7), pH 8과 9에서는 정량성이 없었고 pH 4에서 7.5까지는 모두 정량성을 나타내므로 반응성 및 정량성이 모두 높은 pH 7.4를 최적조건으로 하여 mucilage 함량분석을 실시하였다.

용출용매의 선택—Mucilage-alcian blue complex의 침전물로부터 alcian-blue를 용해시킬 때 가장 효율이 좋은 용매를 찾기 위해 10% HAc, 10% formic acid, ethylene glycol, tween 80을 용해제로 하여 각각의 용출정도를 비교하여 그 결과를 Fig. 8에 나타내었다. Alcian blue의 용출정도는 10% HAc를 용매로 하였을 때 가장 높았고 10% formic acid 및 tween 80에서는 용출이 매우 어려웠으며 ethylene glycol에서는 비교적 용출이 용이하였다. 따라서 mucilage 함량 분석시 용해제로서 10% HAc를 사용하기로 하였다.

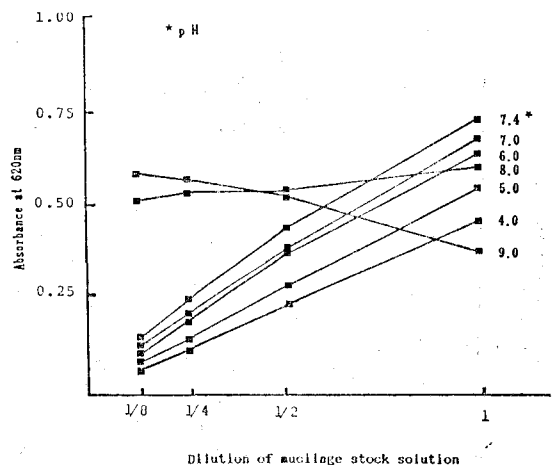


Fig. 7. Determination of mucilage from fresh Type I(FI, dialyzed) under various pH.

Table 1. Mucilage contents in the two types of fresh yams and their steamed/dried yams

Assessment of mucilage contents*	Fresh yam		Processed yam	
	Type I ^b	Type II ^c	Type I	Type II
Method 1 (unit/g dried yam)	109.5	111.0	26.1	28.9
Method 2 (mg/g dried yam)	6.4	10.0	18.6	12.2
Method 3(cP)				
Relative viscosity ^a	7.0	10.6	1.04	1.03
Specific viscosity	7.7	11.7	1.16	1.15

* Mucilage contents were assessed by three kinds of method, as follows:

Method 1: Mucilage-alcian blue complex-forming capacity.

One unit was defined as optical density at 620 nm to be one after the complex was dissociated by 10% acetic acid.

Method 2: Mannose content in the mucilage

It was analyzed by anthrone reaction with mannose standard, expressed mannose mg per one gram of dried yam.

Method 3: Viscosity of the mucilage

Viscosity was measured with Ostwald viscometer. *Water was used as standard solution.

^b Type I: club-like yam (*D. batatas*)

^c Type II: cane-like yam (*D. japonica*)

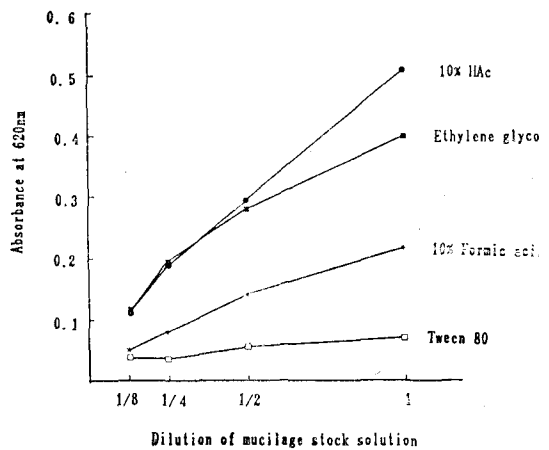


Fig. 8. Elution of alcian blue from mucilage-alcian blue complex by various reagents.

One half ml of the stock solution from fresh Type I (FI, dialyzed) was added to five ml of 0.1% alcian blue in 0.2 N sodium acetate (pH 5.7) buffer solution. After 2 hr, the precipitate was taken by centrifugation, and dissolved in five ml of each reagent. Absorbance of the blue color was measured at 620 nm.

검량선 작성—산약 mucilage의 alcian blue와의 complex 형성이 pH 7.4에서 최적조건이었고, 이 complex의 용해제로는 10% 초산이 가장 좋았으므로 이러한 조건하에서 투석한 시료에 대

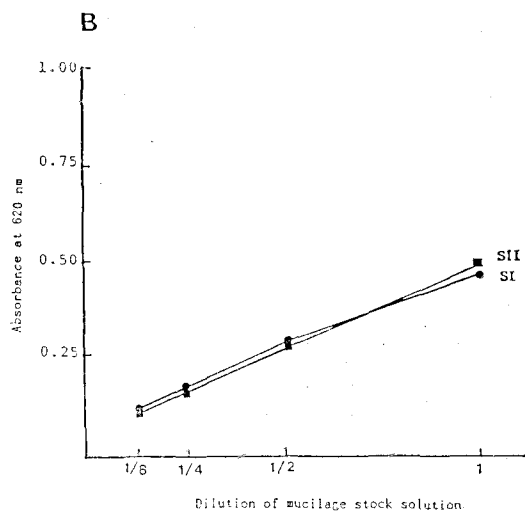
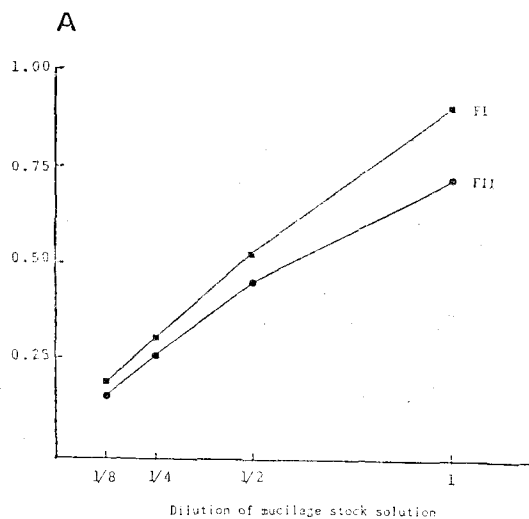


Fig. 9. Calibration curves for mucilages from fresh yam samples.

The samples were the stock solutions from the dialyzed fresh(A) and steamed/dried(B) yams. The measurement were carried at pH 7.4 as those described in Fig. 6,

해 검량선을 작성하였다. Fig. 9에 나타난 바와 같이 검량선은 직선에 가까우나, 약간의 불룩 형태를 나타내었다.

Mucilage의 정량—산약 중의 mucilage 함량을 alcian blue의 흡광도를 기준으로 하였다. 즉 complex를 형성한 alcian blue의 620 nm에서의 흡광도가 1일때 mucilage의 함량을 1 unit로 하였다. 검액을 stock solution으로 투석한 후 사용하였다. 산약 중의 mucilage 함량은 산약을 함량이 될때까지 건조시킨 후 1g당 함량(unit)으로 나타내었다(Table I).

생품과 증진품의 type I과 II 사이에는 mucilage 함량이 거의 비슷하였으나 증진한 후에는 mucilage 함량이 현저히 감소하였다.

Mannose 함량분석

산약 mucilage에는 mannose가 다량 함유되어 있다고 보고되어 있으므로⁶⁾, mannose를 표준물질로 하여 FI, FII 및 SI, SII의 4가지 시료 검액에 대하여 mannose 정량을 실시한 결과(Table I), mannose 함량은 FI 보다 FII가, SII 보다 SI이 높았다. 한편, mucilage 함량의 경우와는 달리 mannose의 함량은 두 가지 시료에서 모두 증진품이 생품보다 현저히 높았다.

산약 mucilage의 viscosity

4가지 시료의 물 추출액(FI, FII, SI, SII)을 투석하여 각각의 투석내액에 대해 점도를 측정 한 결과는 Table I과 같으며, 생품에서는 relative viscosity와 specific viscosity 모두 FII가 FI 보다 높았으나 증진품에서는 SI와 SII가 거의 비슷하였고, 두 가지 시료 모두 증진품이 생품보다 점도가 매우 낮은 것으로 나타났다.

결 론

산약의 수용성 점액물질(mucilage)은 이제까지 proteoglycan으로서 보고되어 왔다. 본 연구에서는 종래의 mucilage 정제법인 에탄올 침전법과는 다른 방법을 시도하여 산약 mucilage를 정제하였고, 이 물질에 대한 정량법을 확립하였으며 가공에 따른 mucilage 성상 및 함량변화를 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 곤봉형 마, *Dioscorea batatas* 및 장형 마,

D. japonica 두 가지 생품시료의 물 추출액을 투석하여 Bio-gel P-100 column으로 겔 여과한 후, polysaccharide의 지표로서 hexose 및 uronic acid를, protein의 지표로 UV 흡수 및 Lowry정량법을 이용하여 각 용출액을 분석한 결과, polysaccharide와 protein peak가 부분적으로 일치하는 각각 2개의 peak들을 얻었고, 이 분획을 Sephadex G-150으로 다시 겔 여과하여 polysaccharide peak와 protein peak가 완전히 분리됨을 알았다. 또한, 생품 마를 증진법에 의해 가공하였을 때는 겔 여과 chromatogram에서 protein peak를 확인 할 수 없었으므로 산약의 mucilage는 protein을 함유하지 않음을 알았다.

2. 두 종류의 산약에 함유되어 있는 mucilage의 성상을 알기 위한 지표로서 alcian blue와의 복합체 형성능력, mannose 함량 및 점도를 type I, type II의 물추출물의 투석액을 가지고 측정 한 결과, type I과 type II의 생품 시료간에 복합체 형성 능력에는 큰 차이가 없었으나, mannose 함량 및 점도는 type I 보다 type II가 더 높았다. 한편 두 가지 시료의 생품과 증진품을 비교해 볼 때, 생품시료에 비해서 증진품시료는 복합체 형성능력 및 viscosity가 현저히 감소하는 반면, mannose content는 오히려 증가하였으며 특히 type I에서는 현저히 증가하였다.

<1990년 12월 1일 접수 : 12월 15일 수리>

문 헌

1. 韓大錫 : 生藥學, 東明社 p. 159 (1988).
2. 鄭普燮, 申民教 : 圖解 鄉藥(生藥) 大事典, p. 148 (1985).
3. 朴富吉 : 江原大學研究論文集 6卷, 江原大學出版部, p. 89 (1972).
4. Mori, Y., and Sato, M.: *Kaseigaku Zasshi* 15, 203 (1964).
5. 高木敬次郎 外 : 和漢 藥物學, 南山堂, p. 106 (1982).
6. Tomoda, M., Ishikawa, K. and Yokoi, M.: *Chem. Pharm. Bull.* 29, 3256 (1981).
7. Kiho, T., Hara, C. and Ukai, S.: *Chem. Pharm. Bull.* 33, 270 (1985).
8. 宇井信生 外 : 生化學, Data Book, 日本生化學會,

- pp.480-498.
9. Satoh, T., Mizuguchi, J., Suzuki, S. and Tokura M.: *Nippon Kagaku Zasshi* **88**, 216 (1967).
 10. Satoh, T.: *Nippon Kagaku Zasshi* **88**, 982 (1967).
 11. Maisaki, A., Ito, T. and Harada T.: *Agric. Biol. Chem.* **36**, 761 (1972).
 12. 清木 雅雄 外: 日薬理誌(*Folia Pharmacol. Japon.*) **95**, 257 (1990).
 13. Kitagawa, H., Takeda, F. and Kohei, H.: *Arzneimittelforschung* **36**, 1240 (1986).
 14. Bial, M.: *Deut. Med. Woch.* **28**, 253 (1902).
 15. Elson, L.A. and Morgan, W.T. J.: *Biochem. J.* **27**, 1824 (1933).
 16. 宇井信生 外: 生化学实验 讲座, 蛋白質の 化学, 日本生化学会, pp.51-53 (1974).
 17. Castellan, G.: *Physical Chemistry*, pp.345-347 (1985).
 18. Martin, A.: *Physical Pharmacy*, pp.436-439 (1975).