

人蔘中 Vitamin B 群의 微生物學的檢定 II *

Pantothenic acid 및 Biotin 의 檢定

金 泳 垠 · 許 武 彥**

(Received September 14, 1964)

Young Eun Kim, Moo On Her: Microbiological Assay of Vitamin B group in *Panax Ginseng* Roots II
Assay of Pantothenic Acid and Biotin

Pantothenic acid and biotin contents in *Panax Ginseng* roots were determined microbiologically with *L. arabinosus* 17-5. Detection of the vitamins was achieved by the thin-layer chromatography and PPC. Pantothenic acid and biotin were found at the Rf values of 0.42 and 0.55 respectively on the thin-layer chromatograms. In order to find out whether or not the *L. arabinosus* growth promoting factors contained in the respective ginseng extracts, as shown by the microbiological assay, were really the vitamins respectively, PPC was carried out. Microbiological assay of the vitamins met with results that the average pantothenic acid content in the roots was 6.6r/g, calculated as Ca-pantothenate, and the average biotin content 9.24 mr/g.

第1報¹⁾에 이어 acetyl-CoA 의 構成成分인 pantothenic acid 및 脂質의 生合成에 必要한 biotin 의 含量變化를 檢討코저 著者等은 PPC²⁾ 및 thin layer chromatography³⁾로 人蔘中의 pantothenic acid 및 biotin 을 確認하고 *Lactobacillus arabinosus* 17-5 의 菌株를 使用하여 微生物學的으로 檢定하여 그 結果를 報告하는 바이다.

實 驗

1. 試料. — 第1報¹⁾와 같은 試料를 使用하였다.
2. Pantothenic acid 定量用 人蔘抽出液. — Waring blender에서 粉碎한 試料를 各各 10g 씩 秤取하여 Ives-Strong⁴⁾에 依한 抽出方法으로 抽出하여 全量 200ml로 한 後 pantothenic acid 定量用 人蔘抽出液으로하고 冷蔵庫에서 保存 使用하였다.
3. Biotin 定量用 人蔘抽出液. — Pantothenic acid와 마찬가지로 秤取하여 渡邊²⁾等에 依한 抽出方法으로 抽出한 後 中和하여 200ml로하고 biotin 定量用으로 冷蔵庫에 保存使用하였다.
4. Thin layer chromatography. — 試料 100g을 pantothenic acid 및 biotin 定量用抽出液과 同一하게 抽出하여 活性炭으로 脫色하였다. biotin 抽出液은 中和한 後 減壓濃縮하여 乾固시킨 다음 methanol로 biotin을 抽出하여 使用하였다.

* Paper I: *This Journal* 8, 80 (1964)

** College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

(a) **Pantothenic acid.**—E. Stahl 裝置의 thin layer chromatography plate(20×20cm)에 silica gel G(E. Merck 社 Kieselgel GF₂₅₄)를 塗布한 다음 (層長 0.25mm) 活性化시키고 標準物質과 pantothenic acid 抽出液을 spot 하여 30~40 分間 展開시켰다(展開溶媒 HAC:Acetone:CH₃OH:C₆H₆=5:5:20:70) 展開시킨 glass plate 를 160°, 1~2 hrs. 加熱하고 0.5% ninhydrin 液으로 spray 하여 다시 160° 로 加熱하여 發色시켰다.

(b) **Biotin.**—Pantothenic acid 와 同一한 操作으로 行하였으며 potassium iodoplatinate 로 發色시켰다.

5. **PPC 및 微生物學的檢定.**—標準物質과 pantothenic acid 및 biotin 抽出液을 Whatman No.4. 濾紙(2×30cm)로 5hrs. 室溫에서 上昇展開(溶媒는 물飽和 n-butanol)하여 乾燥後 Rf 0.1씩 切斷하여 5ml의 물로 冷時 抽出하고 各抽出液에 對하여 微生物學的 檢定을 行하였다. 標準 pantothenic acid 의 Rf 値는 0.7~0.8, 標準 biotin 의 Rf 値는 0.75~0.85 였다.

6. **基礎培地.**—Pantothenic acid 및 biotin 定量用基礎培地는 Roberts-Snell 의 培地의 改良型培地⁵⁾에서 各各 Ca-pantothenate, biotin 代身 nicotinic acid 를 加한 培地를 사용하였다.

7. **Pantothenic acid 및 Biotin 의 測定^{5,6,7,8)}.**—第1報의 nicotinic acid 測定方法과 同一하게 BTB 를 指示導으로 0.1N NaOH 로 滴定하였다.

結果 및 考察

1. **微生物學的檢定.**—Fig. 1. 및 2의 標準曲線을 作成하고 試料中の pantothenic acid 및 biotin 의 含量을 試料 g 當으로 表示한 것이 Table 1 및 2이다. Table 1에서 보는바와 같이 pantothenic acid 含量은 栽培年數에 따라 若干의 減少傾向을 나타내고 있으며 table 2의 biotin

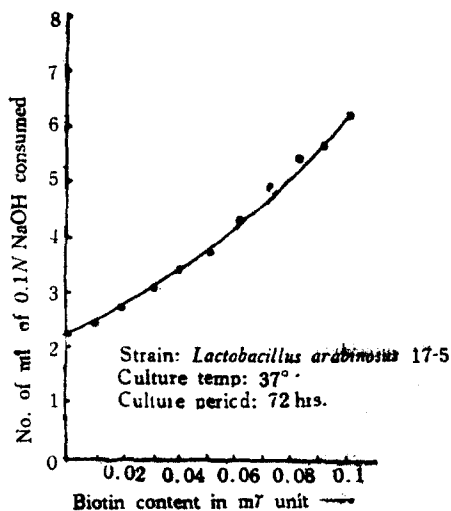


Fig. 1. —Standard response curve of pantothenic acid

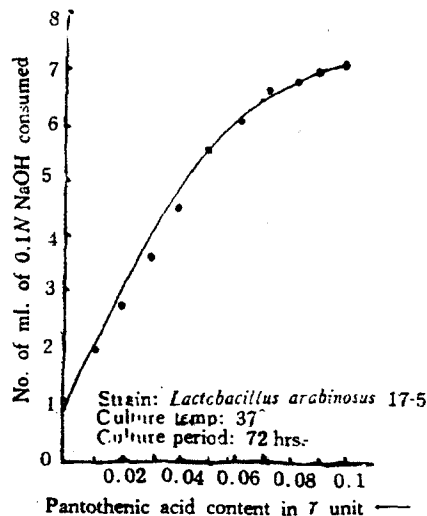


Fig. 2. —Standard response curve of biotin.

TABLE I.— The Biotin Content Variation in Korean *Panax Ginseng*.

Age of root(yrs)	No. of ml. of 0.1 N NaOH consumed	Biotin content (mr/g)
2-year-old root	6.1	9.9
3- "	5.65	8.6
4- "	4.95	7.15
5- "	5.9	9.4
6- "	5.75	9.15

TABLE II.— The Pantothenic Acid Content Variation in Korean *Panax Ginseng*.

Age of root(yrs)	No. of ml. of 0.1N NaOH consumed	Pantothenic acid content(r/g)
2-year-old root	6.8	8.5
3- "	6.5	7.0
4- "	6.3	6.3
5- "	6.1	6.0
6- "	5.6	5.1

含量은 別로 差異를 나타내고 있지 않다. 이와 같은 含量差異는 栽培年數와 相關하고 있다. 고 볼 수 없으며 栽培地의 土壤이나 試料의 生化學的인 變化에서 오는 것으로 生覺되는 바이다.

2. Thin layer chromatography. — 試料의 thin layer chromatography 의 結果는 Fig. 3 및 4 와 같으며 pantothenic acid 는 ninhydrin 에 依해 Rf 0.42 의 紫色斑點으로 나타나며 biotin 은 potassium iodoplatinate 에 依해 Rf 0.55 部位에 장미색 바탕에 白色斑點으로 나타났다.

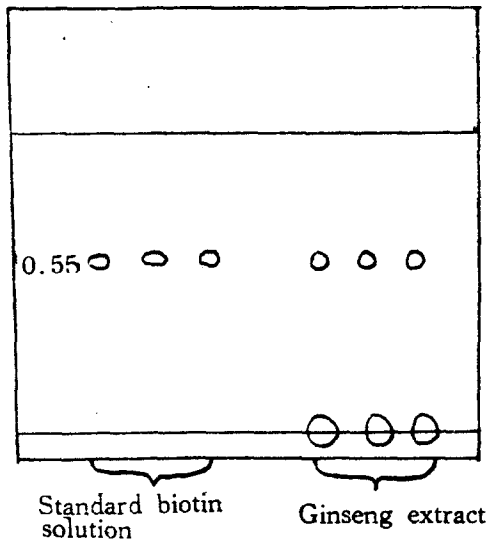


Fig. 3.—Thin-layer chromatogram of pantothenic acid in ginseng extract

Developer, HAC : Acetone : MeOH : benzine = 5 : 5 : 20 : 70; developing time, 30~40 min.; spraying reagent, ninhydrin soln.

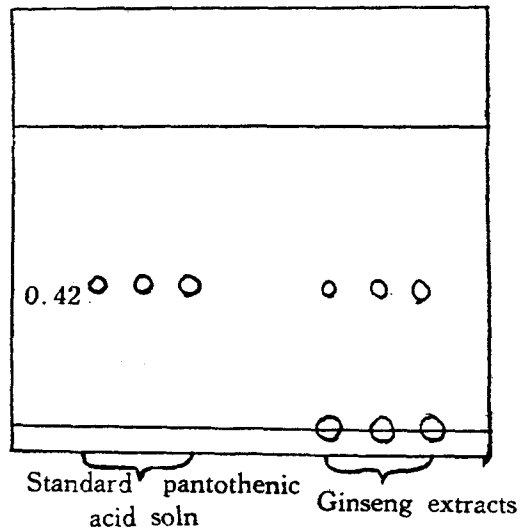


Fig. 4.—Thin-layer chromatogram of biotin in Ginseng extract

Developer, HAC : acetone : MeOH : benzine = 5 : 5 : 20 : 70 ; developing time, 30~40 min.; spraying reagent, potassium iodoplatinate soln.

2. PPC—試料에 對한 paper partition chromatography에 依한 分離後, 微生物學的 檢定結果는 pantothenic acid는 Rf 0.75(0.7~0.8)이며 試料中에 Rf 0.15(0.1~0.2)에 *L. arabinosus* 17~5의 發育을 促進시키는 pantothenic acid-like factor가 存在함을 알 수 있었었다. 그러나 biotin에 있어서는 PPC의 結果 Rf 0.80의 部分만이 *L. arabinosus* 17~5의 發育을 促進하는 物質임을 알 수 있었었다.

4. 菌株 및 基礎培地.—Robert-Snell의 培地의 改良型 基礎培地를 使用하여 biotin을 定靈할 때에는 *L. arabinosus* 17-5의 發育에 biotin이 pantothenic acid만큼 不可缺한 factor가 아님을 알 수 있었었다. 따라서 pantothenic acid 缺乏培地에서 보다는 biotin 缺乏培地에서의 *L. arabinosus*에 發育이 良好하였고, pantothenic acid만큼 銳敏한 發育曲線을 作成할 수 없었다.

5. Biotin 抽出液.—試料에서 biotin 定靈用 抽出液을 調製할 때, 黃酸을 多量으로 使用하면, 中和에 依해 Na_2SO_4 가 生成되어 *L. arabinosus*의 發育에 相當한 影響을 미쳤으며 이와 같은 鹽類濃度에서는 그 發育이 抑制當함을 알 수 있었었다.

結 論

人蔘의 各年根別(2,3,4,5,6年根) pantothenic acid 및 biotin의 含量은 各年根間의 有意한 差異가 없었고 人蔘(水蔘)中의 pantothenic acid의 平均含量은 calcium pantothenate로 計算하여 6.6r/g, biotin의 平均含量은 9.24 mr/g였다.

끝으로 本實驗의 人蔘試料을 分讓하여 주신 中央專賣技術研究所 洪淳根先生, 施設의 便宜를 보아주신 中央工業研究所食品工業科 諸先生任께 衷心으로 感謝한다.

REFERENCES

- 1) 金, 田, 安, 本誌, 8, 80(1965)
- 2) Takeshi Watanabe, Minoru Goto, *J. Pharm. Soc. Japan*, 74, 157(1954)
- 3) H. Gänshirt, A. Malgacher, *Die Naturwissenschaften*, 47. Jahrgang, 279(1960)
- 4) M. Ives, F. M. Strong, *Archiv. Biochem.*, 9, 251(1946)
- 5) E. C. Roberts, E. E. Snell, *J. Biol. Chem.*, 163, 499(1946)
- 6) H. R. Skeggs, L. D. Wright, *J. Biol. Chem.*, 156, 21(1944)
- 7) L. D. Wright, H. R. Skeggs, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 56, 95(1944)
- 8) E. E. Snell, L. D. Wright, *J. Biol. Chem.*, 139, 675(1941)