

韓國人蔘의 油溶性 成分에 관한 研究

제2보 : 高速液體 크로마토그래피에 의한 脂肪酸組成에 관하여

高 英秀 · 鄭 普燮*

(漢陽大學校 食品科學研究所, *서울大學校 藥學大學 藥學科)

(1980년 10월 24일)

Studies on the Oil Soluble Constituents of Korean Ginseng

II. On the Fatty Acid Comosition Deterimined by HPLC

Young Su Ko and Bo Sup Chung*

Institute of Food Sciences, Hanyang University, Seoul 133

*Department of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151

(Received October 24, 1980)

Abstract

Fatty acids were prepared from oil from Korean *Panax* ginseng root and were determined by a high performance liquid chromatography.

The major fatty acids in the Korean *Panax* ginseng root oil were found to be linoleic 42.62%, palmitic 29.85%, oleic 12.31%, stearic 7.88% and linolenic acid 7.34%.

序 論

인삼의 유지성분을 크게 나누면 지방산 획분(fatty acid fraction)을 비롯하여 탄화수소류(carbohydrates), 테르페노이드류(terpenoids), 스테롤류(sterols) 및 폴리 아세틸렌계(polyacetylenes)의 화합물들을 예로 들 수 있으며 그중에서도 특히 지방산의 조성은 식품영양학 적인 견지에서 그 의의가 큰 것은 주지의 사실이다.

저자들은 한국인삼의 유용성 성분에 관한 연구의 일환으로서 제 1보⁽¹⁾에서는 인삼유지중의 불검화물(unsaponifiable matters) 속에서 preparative thin layer chromatograph법과 gas liquid chromatograph법을 병행하여 스테롤성분을 분리하여 보고한바 있으며 저자들⁽²⁾의 스테롤성분에 관한 보고 외에도 정유(essential oils) 성분에 관한 보고도 있다^(3~5).

近藤^(6~8)는 에테르 가용성인 산성물질을 얻어서 과

낙산산(panax säure)과 같은 물질이라 기록하고 沈澱法과 감압증류법등을 병용함으로써 리놀레산(linoleic acid)과 포화지방산(saturated fatty acid)의 혼합물이라 하였으며 그의 혼합비는 100대 64.7이라고 보고를 하였다. 그리고 포화지방산은 그의 용점이 56~57°C로서 평균분자량 측정의 결과와 종합하여 볼때에 스테아르산(stearic acid)과 팔미트산(palmitic acid)이 각각 44.3%와 55.7%인 혼합물이라고 보고 하였다.

Komatzu등⁽⁹⁾은 gas liquid chromatograph법에 의해서 인삼줄기의 유지지방산의 조성을 규명한바 있으며 그들은 카프로산(caproic acid), 카프론산(Capronic acid), 카프르산(capric acid), 라우르산(lauric acid), 미리스트산(myristic acid) 및 팔미트산등의 유지지방산이 인삼의 줄기속에 함유하고 있다는 보고를 한바 있다.

정유의 본체인 향기성분에 대해서는 파나센(panacene)으로 酒井⁽¹⁰⁾가 인삼의 에테르 추출물을 탄산나

프리콜 수용액으로 처리하여 일종의 불포화산(unsaturated acid)을 얻어서 역시 과낙산이라고 명명을 한 바있다는 문헌이 소개되어 있다⁽¹¹⁾.

高橋等^(12,13)은 향기성분으로서 과낙시놀(panaxynol)을 보고 한바있고 폴리아세틸렌계의 화합물에 대하여도 발표가 되어 있다⁽¹⁴⁾.

그밖에 아세틸렌계 화합물에 관한보고가 Wrobel 및 Hirsch등의 의해서 발표된바 있으며^(15,16,25), 기타의 유용성 성분에 관한 보고가 문헌에 나와있다^(17,18).

한국인삼의 지방산 조성에 관한 보고는 현재 몇편이 보고되어 있으나 대체로 gas liquid chromatograph법에 의한 보고이며 드문편이고 그중에서 대표적인 것만 골라서 간단히 소개하면 다음과 같다.

韓壽⁽¹⁹⁾은 인삼의 지방산 칩분을 디아조메탄(diazomethane)으로 메칠 에스테르화 한다음에 gas liquid chromatograph법으로 분석을 하여 24종류의 유리지방산이 있다고 하였으며 지체시간과 분리요인을 고려하여서 22개의 지방산을 동정하였다고 보고한 한바있다.

그러나 이 칩분의 알칼리 수용액에 산을 가하였을때 유리지방산의 불용성침전물이 떠오르지 않는다는점과 이 칩분이 278 nm 부분에서 강력한 흡수를 나타낼 뿐만 아니라 알칼리성으로 하면 320 nm 부분으로 긴 파장으로 이동되는점등을 고려하여 볼때, 단순한 지방산의 혼합물이 아니고 페놀(phenol) 성물질이 이 칩분에 많이 들어와 있는 것이라는 의견이 첨부되어 있다.

李壽⁽²⁰⁾은 인삼속에는 올레산(oleic acid), 리놀레산(linoleic acid) 및 리놀렌산(linolenic acid)과 몇종류의 다른 지방산이 함유되어 있다고 발표를 하였으며 尹壽⁽²¹⁾은 인삼계통종의 지방산 성분에 대해서 보고를 한바있다.

최근 辛壽의 보고⁽²²⁾에서는 인삼의 지방질성분에 관한 연구로 수삼과 건삼의 주요지방산은 다같이 리놀레산, 팔미트산, 올레산 및 리노렌산을 함유한다고 하였다.

이상에 언급한바와같이 현재까지 우리나라의 인삼을 추출하여서 비누화(saponification)하여 지방산을 분리하고 에스테르화 한후에 유리지방산을 고속 액체 크로마토그래프법에 의해서 검출한 문헌은 전혀 없음으로 그 의의가 크다고 생각되어서 이에 저자들이 실험한 것을 보고하는 바이다.

材料 및 方法

材 料

본실험에 사용한 인삼재료는 경기도 길포산의 4년근

으로 해당 중량이 약 30~40g이었으며 1978년 10월에 수남한 것으로 주근과 미삼을 전부 같이 섞어서 건조하여 분쇄시킨 다음에 그것을 시트로 사용하였다.

方 法

가. 人蔘의 油脂成分의 抽出

인삼의 유지성분의 추출법은 柴田가 사용한 방법⁽²³⁾이나 또는 상법에 의한 soxhlet extraction method가 대표적이거나⁽²⁴⁾ 본실험에서는 인삼중의 유지성분의 함량이 워낙 거기 때문에 다소라도 다량의 성분을 추출하는데에 도움이 된다고 생각되는 법^(25,26)을 참고로 하여서 다음과 같이 하였다. 즉, 잘게 분쇄한 인삼분말 200g을 2l의 round bottom flask에 넣고 메탄올 400ml에 용해시킨후에 환류냉각기에 연결시켜서 약 5~6시간 수욕상에서 가열하였다.

그런다음 그 용액의 2배인 클로로포름 800ml를 가한후에 다시 1~2시간을 가열하고 여과를 한다음에 그의 잔사물 다시 클로로포름 400ml로 1~2시간동안 가열한후에 여과를 하여 收率이 좋게 하였으며 이 클로로포름 용액을 모두 합쳐서 클로로포름으로 포화시킨 식염수(食鹽 2g을 증류수 300ml에 용해시킨것)로 처음에는 조심스럽게 진탕하여 유탁액(emulsion)을 제거시킨다음 다시 강하게 진탕하였다.

水層은 클로로포름으로 추출하고 그 잔사물 다시한번 클로로포름으로 용해 시킨후에 클로로포름층을 모두 합쳐서 용액을 농축기를 사용하여 농축시킨다음 무수 망초(sodium sulfate, anhydrous)로 건조시킨후에 이 조지방성분을 컬럼을 통과시켜서 정제하여 사용하였다⁽²⁷⁾.

나. 混合脂肪酸의 調製

혼합지방산의 조제를 위하여 상법에 의해서 지방산을 분리하고 불검화물을 제거하여 조제하였다^(23,29). 즉 유지성분 30g을 2규정농도의 potassium hydroxide methanol solution 90ml에 가한다음 1시간동안 환류냉각기 아래에서 끓이면서 비누화를 시킨후에 메탄올 40ml를 수욕상에서 증류시키고 남은 비누액을 separatory funnel에 옮긴다음 비누화물질을 제거시키고 농염산으로 산성으로 하여서 유리된 지방산을 에틸 에테르로 2~3번 추출하고 그 추출액을 포화식염수로 5~6회 세척하여서 중성으로 만든다음에 그것을 건조제로 무수 망초를 사용하여서 탈수시키고 에틸 에테르를 증발건조하여서 얻어진 지방산을 질소 개스를 통과시킨다음에 보관하였다.

다. 脂肪酸의 메틸 에스테르화

지방산의 메틸에스테르화는 Mitchel등⁽³⁰⁾과 Metcalfe 등^(31,32)의 방법에 의해서 三弗化硼素 메탄올시약(boron

trifluoride-methanol reagent, BF_3)을 사용하여 조제하였다. 즉 日本森田化學工業株式會社製의 三弗化硼素-메탄올 콤플렉스(농도 68%)를 메탄올로 희석하여 농도를 12.5%로 한것을 사용하였으며⁽³³⁾ 지방산 약 300 mg을 100 ml의 volumetric flask에 넣고 6 ml의 12.5%의 BF_3 -메탄올시약을 가하여 약 10분간 가열한 후에 포화시열수를 충분히 가하여 생성된 메틸 에스테르를 separatory funnel에 옮긴후 비중점이 낮은 석유 에테르(35~45°C)를 가해서 3회 추출한후에 중성이 될 때까지 증류수로 세척한후 석유에테르층을 건조시켜서 여과후 에테르의 용매를 제거시킨후에 HPLC의 분석용으로 사용하였다.

라. HPLC에 의한 脂肪酸의 分析

본실험에서는 Liquid chromatograph, Waters Associates Model ALC/GPC 244 type을 장치로 사용하였으며 HPLC는 高感度示差屈折計를 사용함으로써 시료를 용해시키는 것만으로 단시간에 재현성이높은 크로마토그램이 얻어지며 gas liquid chromatograph법에서는 분리가 불가능하였던 불포화지방산의 이성체가 분리할수 있으며 HPLC에 있어서는 컬럼의 역할이 가장중요함으로 시료에 대해서 적당한 선택이 기대되는 분리를 얻을수있기 때문에 본실험에서는 지방산의 분리를 위하여 일본의 Waters Associates社에서 개발하여 지방산과 그의 관련물질의 분리에 이용한 μ -Bondapak FFAA column^(34,35)을 사용하여 분리하였으며 실험조건은 다음과 같다.

Apparatus: Liquid Chromatograph, Nihon Waters Associates Model ALC/GPC 244 type
Mobile phase: Acetonitrile: Aqua dest.: Tetrahydrofuran (45 : 35 : 25)

Column: μ Bondapak FFAA C_{18} (4 mm \times 30 cm)

Flow rate: 1.0 ml/min.

Detector: RI: 16 \times

UV: at 254, 0.5 aufs

Chart speed: 0.5 cm/min.

Injection amount: 1 μ l with Hamilton microsyringe

이상의 실험조건에 의해서 인삼지방산의 분석을 HPLC에 의해서 한다음 얻어진 크로마토그램의 피크(peak)의 면적 분포측정법⁽³⁶⁻³⁹⁾에 의해 정량하였다.

結果 및 考察

인삼의 혼합지방산을 메틸 에스테르화 하여서 HPLC에 의해서 분석하기 위하여 표준지방산(standard fatty acid)의 에스테르로서 리놀렌산, 리놀레산, 팔미트산, 올레산 및 스테아르산을 분리한 크로마토그램은 Fig.

1과 같으며 같은 조건으로 인삼의 지방산 메틸에스테르를 HPLC에 의해 분석한결과는 다음 Fig.2와 같고 크로마토그램의 피크의 면적을 측정하여서 정량한 결과는 다음 Table 1과 같다.

이상의 결과물보면 인삼중에는 리놀레산의 함량이 가장높고 그다음이 팔미트산, 올레산, 스테아르산등의

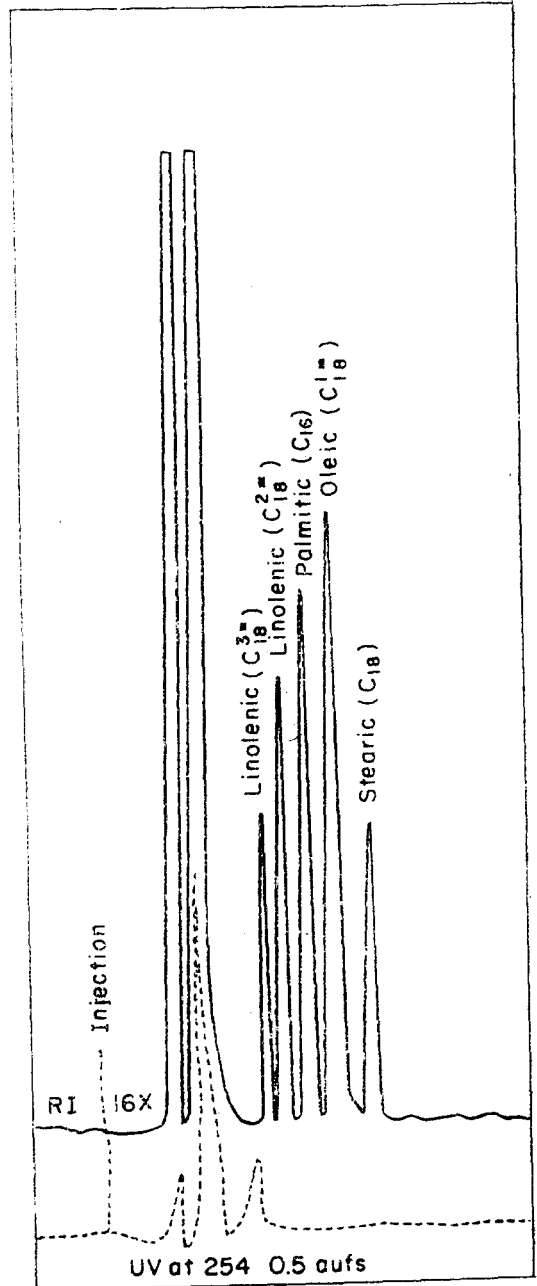


Fig. 1. Chromatogram of fatty acids standard mixture by HPLC

Table 1. Fatty acid composition of oil from ginseng root by HPLC

Fatty Acid	Content (%)
Linolenic	7.34
Linoleic	42.62
Oleic	12.31
Stearic	7.88
Palmitic	29.85

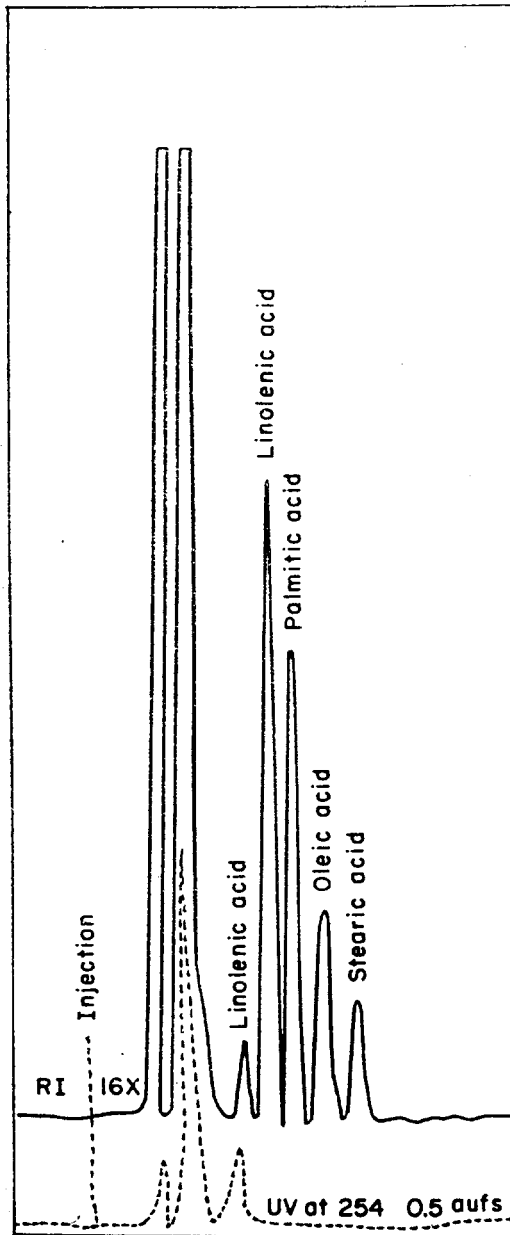


Fig. 2. Chromatogram of ginseng root oil fatty acids by HPLC

그러나 현재까지 발표된 다른 부문에 의하면 인삼에서 많은종류의 지방산이 분리정량되고 있는데 본 실험에서는 그들과같은 많은지방산이 검출되지 않은것이 사실이다.

이유가 어디에 있는지를 확실하게 지적할수는 없으나 저자등이 10여년간 지방산분석을 해오면서 느끼는 걸으로는 인삼지방산의 분획이 잘안되거나 메틸 에스테르화 과정등에서 차이가 나는 수도 있다고 생각된다.

대체적으로 기기분석용의 지방산분리는 양이 적기 때문에 에테르가용성인 폐놀성물질 및 기타의 물질이 지방산획분에 혼입되어서 지방산분리시에 같이 나오는 경우도 있으며 메틸에스테르화과정에서 특히 BF₃-메탄올시약으로 에스테르화시키는 경우에는 Lough⁽⁴⁶⁾나 Fulk⁽⁴⁷⁾이 지적한바와 같이 BF₃-메탄올의농도, 시료채취량, 반응시간등 에스테르화시절때의 반응조건에 따라서는 불포화산에서 유도되는 부생성물이 생성하여 불포화산메틸이 감소되는 경우가 있기때문이다.

그러나 저자등의 생각이 그렇지않을까 하다는것 뿐이고 정확한 원인의 규명이 바람직하다고 생각되어서 이는 앞으로 계속적인 연구가 수반되어야 할것 같다.

본실험의 결과 필수지방산의 1종인 리놀렌산이 42.62%나 함유되어 있어서 한국인삼의 식용영양학적인 의의는 크다고 생각된다.

要 約

한국인삼뿌리의 지방산을 메틸 에스테르화하여 HPLC에 의해서 분석하기위하여 인삼을 분말로 만들어서 클로로포름과 메탄올의 혼합용매(2:1, v/v)로 추출하여서 조지방을 얻어 비누화 시킨다음 BF₃-메탄올시약으로 메틸에스테르화하여서 liquid chromatograph로 분석한 결과 불포화지방산의 함량은 리놀렌산이 7.34%, 리놀레산이 42.62%이고 올레산이 12.31%이었으며 포화지방산으로는 팔미트산이 29.85%이고 스테아르산이 7.88%이었으며 리놀렌산의 함량이 주성분을 이루고 리놀렌산이 7.34%나 함유하고 있음으로 한국인삼에는

순이며 리놀렌산의 함량이 가장 낮았다.

尹⁽²¹⁾과 辛⁽²²⁾은 물론 李⁽²⁰⁾은 인삼속에 리놀렌산이 존재한다고 하였으며 鞠⁽¹⁸⁾등은 6년근 인삼의 유리지방산에는 리놀렌산이 존재하지 않는다고 보고를 하였으나 본실험에서는 7.34%나 함유하고 있어서 尹⁽²¹⁾등을 위시한 기타의 보고⁽²⁰⁻²²⁾와 일치하는 바이다.

필수지방산의 함량이 높음으로 일상 우리가 애용하는 식물성용유와 같이 식품영양학적인 의의가 크다고 생각된다.

文 獻

1. 高英秀 : 韓國食品科學會誌, 8(4), 201 (1976)
2. 鄭普燮 : 韓國生藥學會誌, 5(3), 173 (1974)
3. 鄭普燮 : 韓國生藥學會誌, 7(1), 41 (1976)
4. 鄭普燮, 任東秀 : 서울大學校教授論文集, 2, 127 (1977)
5. 高英秀 : 專賣廳 人蔘研究所 研報, 16, 185 (1976)
9. Kondo, H. : *Yakugaku Zasshi*, 35, 779 (1915)
7. Kondo, H. : *Yakugaku Zasshi*, 37, 749 (1918)
8. Kondo, H. : *Yakugaku Zasshi*, 40, 1027 (1920)
9. Komatzu, M. and Tomimori, T. : *Shoyakugaku Zasshi*, 20, 21 (1966)
10. 酒井太郎 : 東京醫學會誌, 31 (1917)
11. 襄孝文 編著 : 高麗人蔘, 大韓民國專賣廳 (1978)
12. 高橋三雄, 磯井廣一郎, 木村壽考, 吉倉正博 : 日藥誌, 81, 771 (1961)
13. 高橋三雄, 磯井廣一郎, 木村壽考, 吉倉正博 : 日藥誌, 84, 752 (1964)
14. 韓秉勳, 安丙準 : 第25回 大韓藥學會 學術報告抄錄, 24 (1977)
15. Wrobel, J. T., Dabowski, Z., Gielzynska, H. K., Iwanow, A., Kazinska, K., Poplawski, J. and Ruszkowska, J. : *Thuszczce Srodki Piorace Kosmet.*, 17(2), 63 (1973)
16. 田中治 : 和漢藥, 10, 548 (1973)
17. The Research Institute, Office of Monopoly, Republic of Korea : *Abstract of Korean Ginseng Studies*(1687-1975), p.45 (1975)
18. Il Hwa Co. : *Korean Ginseng Studies*, Seoul, Korea, (1977)
19. 鞠塚豪, 安承看 : 韓國生藥學會誌, 4, 17 (1968)
20. Lee, C. Y. and Lee, T. Y. : *Symp. Phytochem.*, p.171 (1961)
21. 尹泰憲, 金乙詳 : 韓國食品科學會誌, 11(3), 182 (1979)
22. 辛孝善, 李敏雄 : 韓國食品科學會誌, 12(3), 185 (1980)
23. 柴田承二 : 蛋白質, 核酸, 酵素, 12, 32 (1967)
24. 日本藥學會編 : 日本衛生法註解, p.177 (1980)
25. Bligh E. G. and Dyer, W. I. : *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911 (1959)
26. Singh, H. and Privett, O. S. : *Lipids*, 5, 692 (1970)
27. Wuthier, R. E. : *J. Lipid Res.*, 7, 558 (1966)
28. *Über neueren Methoden zur Untersechung von Fetten und Fettprodukten*(Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft E.V.) (1974)
29. 高英秀 : 西北岳大學校博士學位論文集 (1962)
30. Mitchel, J. Jr., Smith, D. M. and Bryant, W. M. D. : *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 4 (1940)
31. Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. : *Anal. Chem.*, 33, 363 (1961)
32. Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Peika, J. R. : *Anal. Chem.*, 38(2), 514 (1966)
33. 清野肇, 千原直子, 渡邊昭一郎 : 油化學, 24(1), 59 (1975)
34. Satoh, M., Nakayama, C. and Takahashi, Y. : *Fragrance J.*, 4(6), 78 (1976)
35. 高英秀, 張有慶, 李孝枝 : 韓國營養學會誌, 12(1), 43 (1979)
36. Lovins, R. E., Ellis, S. R., Tolbert, G. D. and McKinney, C. R. : *Anal. Chem.*, 45 (1953)
37. Aizetmüller : *Fctte, Seifen. Anstrichmittel*, 76, 14 (1974)
38. Cooper, M. J. and Anders, M. W. : *J. Chrom. Sci.*, 13, 407 (1975)
39. Unbehend, M., Scharmann. H., Strauß, H. J. and Billeck, G. : *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 78, 639 (1976)
40. Lough, A. K. : *Biochem. J.*, 90, 4c (1964)
41. Fulk, W. K. and Shorb, M. S. : *J. Lipid Res.*, 11, 276 (1970)