

한국인삼의 연근별 단백질 및 아미노산 조성

최 청 · 윤상홍 · 배만중* · 안봉전

영남대학교 식품가공학과 · *대구한의과대학 한의학과

Proteins and Amino Acid Composition of Korea Ginseng Classified by Years

Cheong Choi, Sang Hong Yoon, Man Jong Bae* and Bong Jean An

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyungsan

*Department of Oriental Medicine, Daegu Oriental Medical College

Abstract

For the systematic investigation of biochemical characteristics of Korean ginseng protein by years, protein fractions were analyzed by the techniques of polyacrylamide gel electrophoresis, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and gel filtration, while the amino acid composition was studied by amino acid autoanalyzer. Results of polyacrylamide gel electrophoresis and SDS-PAGE showed a few difference in pattern and number of bands depending on the age of the root. However, the number of bands obtained from polyacrylamide gel electrophoresis and SDS-PAGE was 8 and 7 to 11, respectively. When water extracted proteins were fractionated by Sephadex G-200, the main peak among 2 peaks was collected and lyophilized. Its mol. wt. was estimated to be 43,000 by the SDS-PAGE method. In amino acid composition of water extracted protein and main fraction of gel filtration, arginine content was the highest, 47.17% in water extracted protein and 57.36% in main fraction followed by glutamic acid and asparatic acid. On the contrary, cystine and methionine contents were very low in both cases.

서 론

인삼의 주요 효능의 주체로 알려진 saponin은 1854년 Garriques¹⁾가 처음 분리한 이후 국내외적으로 인삼의 성분중 glucoside, saponin, steroid 등 많은 연구 보고가 있다. 그러나 인삼의 단백질, 펩티드 및 아미노산 조성에 관한 연구는 비교적 적으며 김 등²⁾은 한국산 인삼의 아미노산 조성을 아미노산 분석기로, G-stirner 등³⁾은 한국산 백삼을 여러가지 용매로 추출하여 유리 아미노산 조성을 밝혔고 三浦 등⁴⁾은 연근별 및 부위별로, 이 등⁵⁾은 고속 액체 크로마토 그래피에 의한 각종 인삼제품 중의 유리 아미노산 조성을 분석하였다. Gstirner 등⁶⁾은 한국산 인삼 및 미국산 인삼으로부터 인삼의 펩티드를 여지영동법으로, 이 등⁷⁾은 한국산 인삼 6년근을 methanol과 물을 1 : 1의 비율로 진탕 추출하여 박층 크로마토그래피에 의하여 2종류의 펩티드를 분리하고 이 펩티드를 종이 크로마토그래피로 아미노산 정성실험을 하였으며 정 등⁸⁾은 한국산 인삼 4년근의 수용성 단백질에서 전기영동하여 2개의 band를 확인하였다. 그러나 이들 대부분의 연구에서 얻은 data는 인삼단백질 또는 펩티드에 의한 단편적인 연구결과로써 저자들은 인삼 중에서 중요한 대사의 기초

가 되는 saponin과 다른 활성을 가진 단백질 및 펩타이드를 분리 목적으로 인삼단백질 및 펩티드에 의한 분리 및 아미노산 구성 성분에 대한 종합적인 결과를 얻고자 한국산 인삼의 연근별(1~6년)로 수용성 단백질을 분리하여 polyacrylamide gel electrophoresis로 그 단백질 패턴을 비교하고 주단백질의 분자량 측정과 아미노산 조성을 아미노산 분석기로 분석한 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 인삼은 충남 금산산 수삼 1~3년근을 구입하여 105°C에서 4시간 열처리하여 건조한 것을 사용하였으며 4~6년근은 대구 약령시장에서(금산산) 구입하여 공시재료를 하였다.

수용성 단백질 추출 및 정량

공시료는 시료 : hexane(1 : 20, v/v)으로 3회 반복하여 탈지된 인삼분말 5g을 증류수 20ml 가하여 90분간 각반 진탕하여 4,600g에서 30분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 10,000g에서 1시간 동안 원심분리한 상

Table 1. The content of crude and pure proteins isolated from ginseng according to growing stages

Protein	Protein contents (%) by years					
	1	2	3	4	5	6
Crude protein	14.70	15.12	16.24	16.80	17.80	19.10
Pure protein	6.45	6.51	6.86	7.40	7.60	7.62

등액의 일정량을 Lowry법¹⁰⁾에 의하여 수용성 단백질을 정량하고 그 여액은 냉동건조하여 수용성 단백질을 얻었다. 조단백질의 정량은 탈지한 인삼분말을 micro-K-jeldahl법으로 정량하였다.

Polyacrylamide gel 전기영동

Gel 전기영동은 Devis¹¹⁾와 Ornstein¹²⁾ 법에 준하여 냉동건조된 수용성 단백질 5 mg을 1 ml의 tris-glycine buffer (pH 8.3)에 용해하여 각 30 μ l를 sample well에 loading시켜 stacking gel에서 50V, separating gel에서 gel에서 100V로 약 3시간 전기영동하였다. 영동된 gel은 0.25% Coomassie brilliant blue R 250 염색액으로 2시간 정도 염색시킨 후 acetic acid : methanol : H₂O (70 : 55 : 875, v/v/v) 용액으로 탈색시켰다.

Sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide gel 전기영동

Weber¹³⁾ 등의 일반적 방법에 의해 수용성 단백질 또는 표준단백질을 1% SDS 및 1% mercaptoethanol을 함유하는 0.01M Phosphate buffer (pH 7.0) 1 ml에 용해시켜, 37°C에서 4시간 incubation 하였으며, SDS-polyacrylamide gel 전기영동에 의한 분자량 측정은 표준단백질의 이동 상대치를 standard curve에 의해 측정하였다.

단백질의 분획

냉동건조한 수용성 단백질 500mg을 phosphate buffer (pH 7.0) 2 ml를 가하여 용해시켜 균질화한 다음 filter paper syringer로 여과한 용액을 Sephadex G-200 column (2.0×90.0cm)에 같은 완충용액을 용매로하여 3 ml/10min씩 automatic fraction collector로 받아 280 nm에서 그들의 흡광도를 측정하였다.

아미노산 분석

냉동 건조한 수용성 단백질과 주단백질 5 mg에 6N-HCl로 24시간 110°C에서 가수분해하여 실온에서 rotary evaporator로 염산을 완전 제거한 후 citrate buffer (pH 2.2) 2 ml로 용해하여 아미노산 분석용 시료로

하였다.

결과 및 고찰

수용성 단백질의 추출 및 정량

Table 1에서 보는 바와 같이 단백질량은 차차 증가하여 6년근에서 조단백질 19.10%, 순단백질이 7.62%이었다. 김¹⁴⁾이 보고한 6년근의 조단백질 14.87%보다 대체로 그 함량이 많았으며 조¹⁵⁾가 보고한 4년근 인삼의 조단백질 21.90%, 순단백질 8.20%의 함량보다 대체로 낮았다.

전기영동 패턴 및 분자량 결정

연근별 수용성 단백질의 gel 전기영동한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 연근별에 따라 큰 차이는 없었으나 총 band 수는 8개였으며, 정 등¹⁶⁾이 4년근의 수용성 단백질의 band 수가 2개보다 6개가 더 확인되었다. SDS slab gel 전기영동한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 비슷한 양상을 나타내었으며 2개의 주 band를 비롯하여 7~11개의 band가 확인되었고 주단

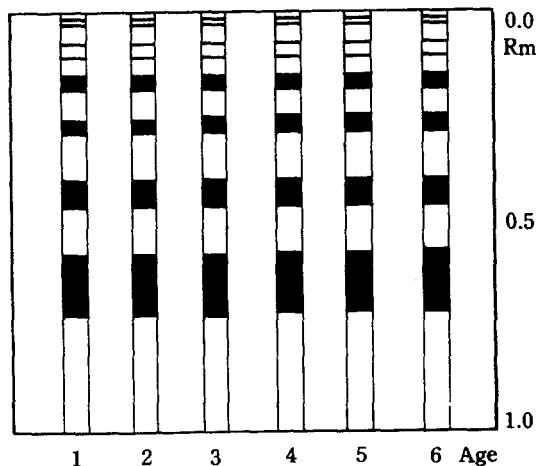


Fig. 1. Comparative polyacrylamide slab gel electrophoresis patterns of water extracted protein from ginseng root at each age

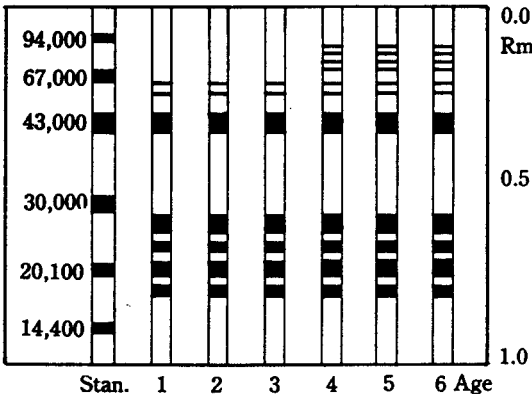


Fig. 2. Comparative SDS-PAGE patterns of water extracted protein from ginseng root at each age.

백질의 분자량은 43,000으로 추정된다.

수용성 단백질의 분획

인삼의 수용성 단백질을 Sephadex G-200으로 분획한 결과는 Fig. 3와 같이 42~60과 120~190ml의 V_e 에서 두개의 peak를 분획하고 이를 냉동건조하여 분석용 시료로 하였다. 이 등⁽⁷⁾이 6년근 인삼을 methanol : H₂O(1 : 1, v/v)로 진탕 추출하여 박층크로마토그래피로 2 종류의 펩티드를 분리한 결과와 비슷하였다.

아미노산 조성

인삼근에서 추출한 수용성 총단백질과 주단백질의 아미노산 조성은 Table 2와 같다. Trace를 포함하여 15~17 종류의 아미노산이 확인되었고 그 함량은 수용성 총단백질의 경우 한,⁽¹⁵⁾ 홍⁽¹⁶⁾ 등이 보고한 인삼내의 유리아미노산 조성에 있어서 arginine의 함량이 가장 많이 함유한 것과 같이 arginine이 45.17%로 가장 많았으며 glutamic acid, 13.78, aspartic acid, 8.98, lysine, 4.71% 순이었다. 주단백질의 아미노산 조성에 있어서도 arginine 57.36%로 그 함량이 가장 많았으나 총 수용성 단백질의 아미노산 조성과 비교할 때 glycine의 함량이 많은 것이 특이 하였다. 총 수용성 단백질과 주 단백질에서 methionine과 cystine 함량은 매우 낮은 것으로 나타났다. Arginine은 유아에 있어서 필요한 아미노산 뿐 아니라 근육에 의한 아미노산 흡수를 자극하고 여러 조직에서 단백질 합성을 증가시키는 somatotrophin 유리의 가장 강력한 아미노산 자극물질⁽¹⁷⁾로 알려져 있으며, Goodhart 등⁽¹⁸⁾은 arginine succinic acid synthetase의 결핍 및 arginine succinic acid lyase⁽¹⁹⁾ 결핍 환자의 치료에 유효하다고 알려져 있으므로 arginine 공급원으로써 인삼 및 그 가공제품의 활용에 대한 가치가 새롭게 간주되어진다.

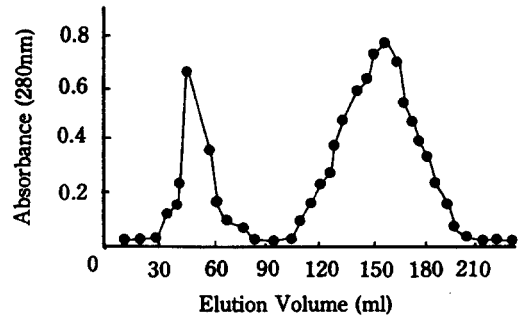


Fig. 3. Fraction of Water extracted protein on the Sephadex G-200 column (2.0x90.0 cm)

요 약

연근별로 인삼 단백질의 생화학적 특성을 체계적으로 규명하기 위하여 polyacrylamide gel 전기영동, SDS-PAGE, gel filtration 및 아미노산 자동분석기에 의한 실험결과는 다음과 같다. 인삼의 수용성 단백질을 Sephadex G-200으로 분획하여 얻은 2개의 peak 중 주 단백질은 SDS-polyacrylamide gel 전기영동에 의해 분자량은 43,000으로 추정되었다. Polyacrylamide gel

Table 2. Amino acid composition of the water extracted protein and main fraction protein in ginseng root (ug/mg)

Amino acids	WEP	MFP
Lysine	0.0348	0.0190
Histidine	0.0206	0.0135
Arginine	0.3338	0.3425
Aspartic acid	0.0663	0.0297
Threonine	0.0215	0.0083
Serine	0.0156	0.0159
Glutamic acid	0.1018	0.0706
Proline	trace	trace
Glycine	0.0146	0.0578
Alanine	0.0242	0.0184
Cystine	trace	trace
Valine	0.0165	0.0069
Methionine	0.0048	trace
Isoleucine	0.0134	0.0055
Leucine	0.0299	0.0090
Tyrosine	0.0168	trace
Phenylalanine	0.0241	trace

WEP : water extracted protein

MFP : main fraction protein

전기영동 및 SDS-PAGE에 의한 band의 수는 연근에 따라 별 차이 없이 각각 8 및 7~11개 확인되었다. 인삼의 수용성 단백질과 그의 주 단백질을 아미노산 분석한 결과 arginine이 각각 45.17과 57.36%로 최대의 함량을 나타내었고 methionine과 cystine의 함량은 매우 낮았다.

문헌

1. Garriquess, S. : *Ann. Chem. P*
1. Garriques, S. : *Ann. Chem. Pharmacol.*, **90**, 231 (1954)
2. 김동연 : *한국농화학회지*, **16**, 60 (1973)
3. Gstirner, F. and Vogt, H. J. : *Archiv der Pharmazie*, **300**, 371 (1967)
4. 三浦三郎, 官澤洋一 : *한국인삼심포지움, 한국생약회*, p.107 (1974)
5. 이성우, 黒崎敏晴, 이상규, 윤태현 : *한국영양식량학회지*, **11**(3), 37 (1982)
6. Gstirner, F. and Vogt, H. J. : *Archiv der Pharmazie*, **299**, 936 (1966)
7. 이정근, 김영기, 유영진 : *전국학술지*, **22**, 23 (1978)
8. 정시련, 전경희 : *영남대학교논문지*, **14**, 225 (1980)
9. Lowry, O. H. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
10. Davis, B. J. : *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 404 (1964)
11. Ornstein, L. : *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 321 (1964)
12. Weber, K. and Osborn M. : *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
13. 김동연 : *한국농화학회지*, **16**(2), 60 (1973)
14. 조성한 : *한국농화학회지*, **20**, 188 (1977)
15. 홍대식 : *아카데미논취*, **4**, 241 (1976)
16. 홍순희, 최강주, 조영현 : *고려인삼연구보고서*, p. 335 (1980)
17. Montgomery, S. and Dryer, K. L. : *Biochemistry*, The C. V. Mosby Co., St. Louis, **8**, 586 (1980)
18. Goodhart, R. S. and Shils, M. E. : *Modern Nutrition in Health and Disease*, Lea and Febiger, Philadelphia, p.1210, (1980)
19. Brusilow, S. W. and Batshaw, M. L. : *Lancet*, **1**, 124 (1979)

(1984년 9월 28일 접수)