

韓國人蔘의 油溶性成分에 관한 研究

제 1 보 Sterol 成分에 관하여

高 英 秀
漢陽大學校 食品科學研究所
(1976년 2월 26일 수리)

Studies on the Oil Soluble Constituents of Korean Ginseng

Part 1. On the Composition of Ginseng Sterols

by

Young-Su Ko

Institute of Food Sciences, Hanyang University, Seoul, Korea

(Received February 26, 1976)

Abstract

Korean ginseng sterols were obtained from the non-saponifiable matters of ethereal extract of the root.

The composition of sterols have been determined by gas liquid chromatography and thin-layer chromatographic analysis.

The results showed that contents of sterols were β -sitosterol, 77.87% by method of triangulation and 82.72% by methode of planimetry and stigmasterol, 15.39% by methode of triangulation and 13.92% by methode of planimetry and campesterol, 6.74% by method of triangulation and 4.36% by methode of planimetry.

서 론

人蔘의 Sterol成分에 관한 研究는 매우 드문편이며 現在까지 發表된 것으로는 高橋等⁽¹⁾ 이 二年生의 白蔘 ether의 冷浸에 키스 에서 β -Sitosterol의 配糖體를 새로 發見하고 그의 糖部가 β -D-glucose이며 이는 Euler等⁽²⁾에 의하여 "Daucosterin" 이라고 命名한 物質과 一致하였으며 또 近藤等⁽³⁾ 이 報告한 Phytosterin이 β -Sitosterol임을 確認한 바 있다.

또 Hörhammer等⁽⁴⁾은 Column과 Thin layer Chromatograph法으로 白蔘의 에타놀 에 키스로 부터 β -Sitosterol 및 2種의 微量의 未知成分들로 構成되어 있다고 하였

다. 그밖에 Kutani등⁽⁵⁾은 人蔘中에는 Phytosterin이 含有되어 있다고 發表한바 있고, Manki等⁽⁶⁾은 人蔘全草의 ether 및 Metanol 抽出物을 實驗한 結果 ether 抽出物中の 不鹼化合物中에서 1-Octacosanol과 β -Sitosterol이 있음을 報告한바 있고 ethanol 抽出物에서는 Panaxadiol, Panaxatriol과 Oleanolic acid등이 存在함을 發表하였으

며 Tsukamoto等⁽⁷⁾의 研究等이 나와있다.

韓國人蔘의 Sterol成分의 Gas liquid Chromatography에 의한 分析은 報告⁽⁸⁾한바 있는데 그 結果로는 人蔘中엔 Campesterol, Stigmasterol 및 β -Sitosterol이 있음을 發表한바 있다.

그런데 安等⁽⁹⁾은 人蔘에 含有된 Phytosterol成分은 β -Sitosterol 分뿐이고 Campesterol이나 Stigmasterol은 含有되어 있지 않다고 밝히고 있다.

著者는 韓國人蔘의 油溶性 成分中에서 Sterol 成分에 관한 연구를 하였기에 그 結果를 보고하는 바 이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

材料人蔘은 京畿道 金浦產의 4年根으로 水蔘의 個當 重量은 20~40gr 이었으며 1974年 10월에 收納한것이며 主根과 尾蔘을 區別하지 않고 함께 乾燥粉碎하여 試料로 使用하였다.

實驗 方法

1) 人蔘의 ether에 키스의 不鹼化物的 檢出

人蔘中의 Sterol成分을 檢出하기 위하여서는 우선 ether의 可溶性成分을 多量 抽出한 다음에 不鹼化物(Unsaponifiable matter)을 檢出하여야 한다.

人蔘의 油性成分의 抽出法은 여러가지 方法⁽¹⁰⁾이 있으며 또 多量의 油性成分을 얻기위한 方法을 利用한⁽¹¹⁾ Methanol라 Chloroform을 加하여 加熱 濾過시킨後에 Solvent를 溜去하는 方法도 있는데 本實驗에서는 油性成分을 얻기 위하여 多量의 人蔘을 大型의 Soxhlet抽出器로 約 5時間 抽出 하였다.

油性成分中의 不鹼化物은 常法⁽¹¹⁾에 의하여 다음과 같이 檢出하였다.

즉 人蔘에 테에 키스 約 5g을 秤量하여 250ml의 flask에 넣고 約 50ml의 1 N-alcohol性 KOH液을 加한다음 還流 冷却器로 Water bath上에서 가림 진탕시키면서 約 2時間동안 加熱한다.

아직 식지않은 비누液을 500 ml의 Separatory funnel에 옮기고 量을 모두 合하여 100ml쯤 加한다음에 常溫으로 冷却시킨 다음 ether을 50ml씩 2-3回加하여 攪혼들어서 ether層이 명확하게 分離될때까지 抽出한다. 全 抽出物을 合하여 다른 Separatory funnel에 옮긴後 처음에 水酸化나트륨 溶液으로 洗滌하고 나중에 물을 加하여 그 洗液이 Ph. Pht. 試液에 의해서 紅色이 나타나지 않을 때까지 洗滌하고 ether液을 蒸發乾固한

後에 이 不鹼化物을 desicator속에서 放冷한다.

이렇게 얻은 不鹼化物은 Sterol層의 分離를 위하여 Thin layer Chromatograph法에 의해서 利用 하였다.

2) Sterol層의 分離

不鹼化物中에서 Sterol층만을 檢出하는 方法은 digitonin 折出法⁽¹²⁾이 있고 또는 Column Chromatography法을 利用하거나⁽¹³⁾ 혹은 Thin layer Chromatograph法을 使用하여 Aluminium oxide층⁽¹⁴⁾ 혹은 酸性⁽¹⁵⁾ 또는 Alkali나⁽¹⁶⁾ Silica gel層에 의한 Chromatography法을 利用해서 報告된 것 등이 있으나 이 實驗에서는 위의 여러가지 方法보다도 가장 分離가 잘되는 結果를 얻은 Silica gel G로 直接 TLC法을 利用하여 分離하는 方法⁽¹⁷⁾을 使用하였다.

展開液으로서는 n-Hexane과 ethyl ether同量(1:1)⁽¹⁸⁾을 使用하였으며 이를 5%의 Phosphor molybdic acid의 에다늘 溶液으로 110°C에서 發色⁽¹⁹⁾시켰다.

이 方法으로 人蔘의 不鹼化物을 Benzol溶液으로 해서 0.3mm層의 Thin layer Chromatograph plate로 展開시키고 發色시켜보니 Sterol層이라고 發表한 Mordret⁽²⁰⁾의 成分 確認法에 의하여 나타난 結果와 一致되는 거리가 Start line에서 約 6~7cm 되는곳에 Sterol層의 band가 뚜렷이 나타나며 이는 Mordret의 報告와 一致되는 現象이다.

즉 人蔘의 不鹼化物中에서 Sterol을 分離하기 위해서 Silica gel G.(E. Merck)를 使用하여 두께 0.30mm의 TLC Plate를 製造하는데 30g의 吸着劑에 滿 60ml을 混 合시켜서 500ml의 三角 flask中에서 마개를 막고 50秒 동안 強하게 진탕하여 Plate를 만든後에 約 15分間 室溫에서 乾燥시킨 後 105~110°C에서 1時間동안 活性化시켰다.

油溶性成分 5g을 鹼化시켜서 얻은 不鹼化物은 1.2ml의 Benzol에 溶解시켜서 100ml의 micro pipet에 넣은後에 CAMAG Chromatocharger로 streaking하였으며 TLC를 올려서 sterol層을 얻기 위해서는 적어도 2~3個의 20×20cm의 TLC-plate가 所要되었다.

全 plate는 n-Hexane: Ethyl ether (1:1)로 展開하였으며 대개 1個의 plate는 sterol層을 確認하기 위해서 plate의 半을 methanol로 窒素 氣流下에서 spray하여야 되는데 이때에는 sterol層만이 白色으로 明白하게 band가 나타남으로 즉시 表示를 해둔다.

그리고 다시 남은 plate의 半은 5%의 phosphor molybdic acid의 alcohol 溶液(ethanol)으로 spray한後에 110°C의 乾燥器속에서 約 5分間 反應시키면 Sterol層은 黃色 바탕에 유록색으로 band가 呈色되며 이 層은 met hanol로 spray하여 表示해 둔것과 같은 位置인것을 確認

된다.

이렇게 한개의 plate로 sterol層을 確認한 다음에 남겨지의 plate들은 모두 Methanol 溶液만으로 窒素氣流下에서 spray하고 즉시 白色 band가 나타나는곳에 表示를 해 둔다음 그 band만을 긁어서 約 20ml의 Ethyl ether로 3회 elution하고 그 溶液을 Na₂SO₄로 乾燥시키고 蒸發乾固시킨다음 sterol의 Gas liquid Chromatograph 分析에 使用하였다.

그런데 인모리브르酸 溶液은 使用直前に 만들어야 하며 이 實驗에 使用되는 Ethyl alcohol, Ethyl ether 및 Methanol 등은 모두 純粹 한것이어야 하고 모든 實驗은 반드시 N₂ 氣流下에서 하고 保管도 역시 N₂ 氣流下에서 하여야 한다.

3) 總 Sterol 成分의 Gas liquid Chromatograph 分析

以上の 方法에 의해서 人蔘中の sterol 成分層을 preparative TLC法으로 分離시킨 다음에는 3회 ethyl ether로 elution시키고 Na₂SO₄로 乾燥시킨다음에 GLC로 分析 하였다.

이 Sterol은 ether에 溶解 시켜서 다음과 같은 GLC의 操作條件대로 分析을 하였으며 GLC에 의해서 나타난 Sterol의 peak들은 relative retention time의 順으로 整理 하였다.

GLC Conditions

Instrument: Fractometer F₂₀, Perkin Elmer Glas

Column: 3.5m, ϕ 3mm filled with 2.8% UCCW 982, 265° isotherm oven, 280°C Injection-Block/FID
Carrier Gas: N₂ flow rate 40 ml/min., minimum amount, ca. 2

4) Chromatograph法에 의한 Sterol의 分析.

Sterol成分의 계속적인 分離를 위해서 Thin layer chromatograph plate를 65g의 Kieselgur G. (E. Merck)를 120 ml의 蒸溜水에 混合하여 5個의 Plate(200×200 mm)를 0.6mm의 두께로 操作한다.

約 5~6時間동안을 室溫에서 乾燥시킨 다음에 105°C ~110°C의 乾燥器속에서 約 1時間동안 더 活性化시킨다.

TLC法에 의해서 sterol의 成分을 계속 Preparative separation을 하기 위해서는 이렇게 하여 만든 TLC-plate 1個에 sterol이 2mg 所要됨으로 20個의 plate에 所要되는 sterol溶液을 만들려면 40mg의 sterol에 20mg의 色素(Oil Blue N, Serva entwicklungslabor, Heidelberg, West, Germany)를 2ml의 Benzol 溶液에 溶解시켜서 使用하면 되고 이때에 Oil Blue N는 指示藥으로 使用되는 것이다.

그리고 Chromatography를 할때에는 이 液을 約30ml 程度의 Benzol液에 다시 한다.

韓國人蔘에서 檢出した sterol은 微黄色의 粉末이 있는데 여기에 Pigment인 Oil Blue N를 Benzol溶液으로 만들어서 0.1 μ l의 micro pipet로 CAMAG Chrrmortocharger (Firmenich, Germany)로 plate 밑에서 2cm 떨어진 곳을 start line으로 하여 조심스럽게 plate에 골고루 sterol溶液으로 直線을 긋는 것이다.

그런데 sterol의 分離를 잘하기 위하여서와 自動酸化를 防止하기 위하여서는 sample을 plate에 옮기기前이나 後에 반드시 impregnation⁽²³⁾을 하여야 되며 impregnation에 溶液과 sample의 solvent가 다 蒸發된後에 TLC展開液에 넣어서 Chromatography를 해야 한다.

Impregnation solvent는 7.5%(V/V)의 Tetradecan을 Petroleum ether (b.p. 35-45°)에 使用하였으며 展開液으로는 Aceton 45%, Acetonitrile 45% DistWater 10% 그리고 Acetic acid 1%를 Tetradecan으로 飽和시켜서 使用하였으며 이 液을 混合시킬때에는 2l의 separatory funnel에서 強하게 흔들어 섞은다음에 放置 시켜 놓았다가 使用하였다.

그런데 展開液으로 使用할 수 있는 條件은 separatory funnel 위에 Tetradecan이 둥근 원 모양으로 떠있어야만 完全히 飽和되었음을 알 수 있다.

이렇게 하여서 만든 展開液에 Sterin을 展開시키는데 Violet 빛같이 front line까지 올라가는데 約 1 $\frac{1}{2}$ ~2時間이 所要되었으며 이 모든 操作은 暗所에서 行하였다 一般적으로 淡青色의 band는 sitosterin層의 바로 밑에 있으며 이는 呈色試藥을 쓰지 않고도 곧 肉眼으로 볼 수 있다.

展開가 끝난 다음에 plate의 展開液이 채 마르기 前에 暗室에서 UVlight로 보면 Cholesterol band아래에서 約 5mm 떨어진 곳에 Orange색갈의 형광색소층이 나타나고 이 orange색갈의 fluorescene의 band는 stigmasterin과 Rf値가 같다.

結果 및 考察

前記한 方法에 의해서 人蔘 Sterol은 Gas liquid chromatography에 의해 分析을 하였는데 sterol의 Relative retention times은 下記의 Table I과 같으며 모든 retention time은 Campesterol을 1.0로 하여 比較한 것이다

以上の GLC chromatographic condition과 같이 하여 sterol의 標準品과 人蔘의 sterol의 GLC chromatogram은 다음의 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다.

Table I. Relative retention times of sterols.

Sterols	Relative retentiontime(Rt. rel.)*)
Cholesterol	0.795
Brassicasterol	0.895
Campesterol	1.000
Stigmasterol	1.069
β -Sitosterol	1.210
Δ^7 -Sterol	1.342
Others	1.650

*) All retention times relative to that of 1,000. Campesterol

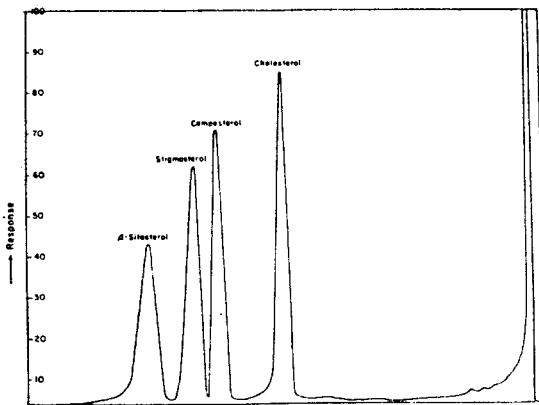


Fig. 1. Gas Chromatogram of the Sterol Standard Mixture.

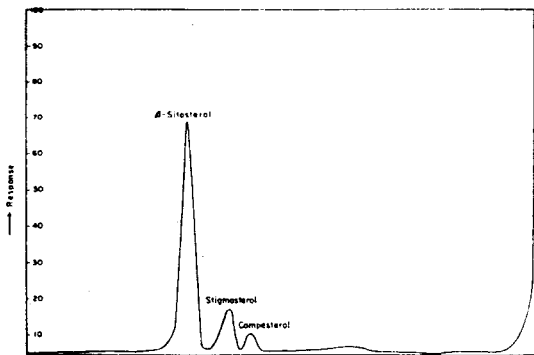


Fig. 2. Gas Chromatogram of Korean Ginseng Sterols.

즉 以上과 같은 實驗條件으로 分析한 韓國人蔘의 Sterol 成分은 普通の 植物 sterol에 많이 分布되고 있는 campesterol, stigmasterol 및 β -Sitosterol이 存在한다는 것을 알수가 있으며, 이 中에서도 특히 β -Sitosterol의 含量이 主成分을 이루고 있음을 또한 確認 할수가 있고 이는 또한 GLC의 Condition이 다른 報告⁽⁹⁾와도

致되는 현상이기도 하다.

以上の Gas liquid Chromatograph法の 分析結果에 나타난 韓國人蔘에 있는 3種의 sterol成分을 planimetry method⁽²²⁾와 半值幅法⁽²³⁾ 등으로 peak의 面積을 測定하여 그의 含量을 定量하였는데 그 結果는 다음 Table II와 같다.

Table II. Composition of Korean ginseng sterols.

Sterols	Sterol Contents (%)	
Campesterol	a*	6.74
	b**	4.36
Stigmasterol	a	15.39
	b	13.92
β -Sitosterol	a	77.87
	b	81.72

*) a : Method of triangulation

**) b : Method of Planimetry

위의 Table II에 나타난 結果에 의하면 韓國의 人蔘中에는 Campesterol이 半值幅法에 의하면 6.74%, 그리고 planimetry法에 의하면 4.36%이고 stigmasterol이 半值幅法에 의하면 15.39%, 그리고 planimetry method에 의하면 13.92%, 그리고 β -Sitosterol의 含量은 半值幅法에 의하여서 77.87%, Planimetry法에 의해서 81.72%임을 알수가 있다.

그리고 Sterol 成分의 계속적인 分離를 위하여 Thin

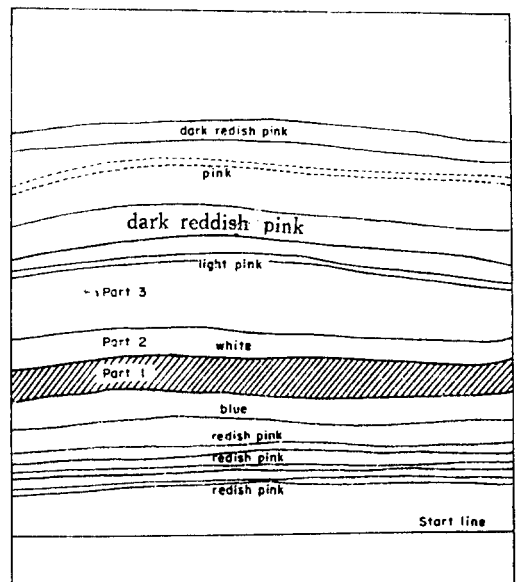


Fig. 3. Color of Ginseng Sterols by preparative Separation under UV-light.

layer chromatography法에 의해서 sterol의 分析을 한 結果는 다음 Fig. 3과 같으며 이것은 人蔘 sterol成分을 TLC로 preparation하여 分離한 것이다.

以上の Fig. 3을 보면 日光下에서는 연한 남색으로보이던 band가 형광下에서는 핑크색으로 보이고 또 보라색 층이 역시 UV-lamp 下에서는 진분홍색으로 나타나며 白色層이 靑色으로 그리고 白色이 연한 분홍색으로 연보라색이 진분홍색 등으로 형광색이 變함을 목격할 수가 있었다.

Fig. 3에 나타난 band 中에서 前記 실험에서 檢出된 sterol의 band인 part 1, 2 및 3을 表示해 둔 다음에 그것을 따로 따로 3個의 Erlenmeyer flask (300 ml)에 담고 Ethyl ether溶液으로 elution한 다음에 Na_2SO_4 (Sicc)로 N_2 氣流下에서 約 2時間 가량 乾燥시킨 後에 濾過하고 蒸發 乾固시킨다.

이때의 人蔘 Sterol의 색같은 Part 1이 靑色, Part 2가 유록색 그리고 Part 3은 보라색으로 나타났으며 이液을 따로 따로 Benzene에 溶解시킨 後에 前記와 마찬가지로 Ethyl ether와 n-Hexane(1:1)의 同量 溶液에 0.25 mm層의 silica gel plate로 Chromatography를 하고 GLC도 前記와 같은 操作條件에 의해서 分析을 하였으며 그의 分析 結果는 역시 Part 1, Part 2 그리고 3에서 모두 β -Sitosterin, Stigmasterin 그리고 Campesterin이 있음이 確認되었고 그中에서 Part 1의 Chromatogram 하나만을 例示하면 다음 Fig. 4와 같다.

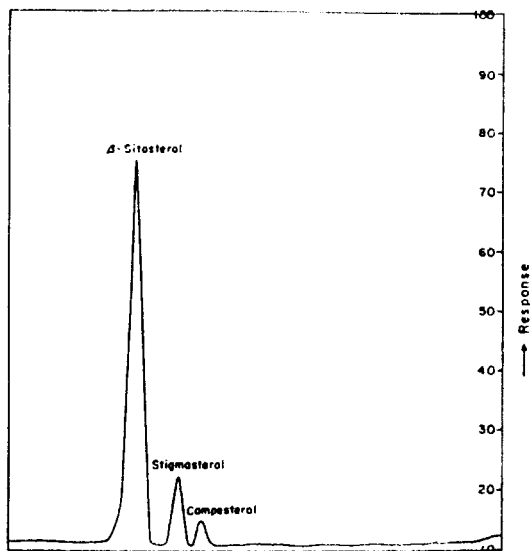


Fig. 4. Gas Chromatogram of preparative Ginseng Sterolation of Part 1.

이렇게 TLC 및 GLC에 의한 Chromatography法에 의해서 人蔘中의 Sterol成分을 Preparative separation까지 하여서 分離하여 본 結果는 韓國人蔘中에는 β -Sitosterol, Stigmasterol 그리고 Campesterol이 含有되어 있음이 確認되었으며 이는 金等⁽²⁴⁾의 結果와도 一致되는 現象이다.

다만 그들의 報告⁽²⁴⁾에는 Campesterol의 含有如何가 明白하지 않을 뿐이었다.

요 약

韓國人蔘의 뿌리中의 ether可溶成分中에서 不飽和物을 檢出한 다음에 Thinlayer chromatography法과 Gas liquid Chromatography法에 의해서 Sterol의 成分을 檢出하였다.

그 結果人蔘中에서 stigmasterol이 半值幅法에 의하면 15.39%. 그리고 planimetry法에 의하면 13.92%이었고 β -Sitosterol은 半值幅法에 의하면 77.87% 그리고 planimetry法에 의하면 82.72%로 가장 含量이 높았고 Campesterol은 半值幅法에서는 6.74% 그리고 Planimetry法에서는 4.36%가 됨을 알수 있다.

참 고 문 헌

- 1) Takahashi, M., Isoi, K., Yoshikura, M. and Osugi, T.: *Yakugaku Zasshi* (Japan), **81**, 771(1961); CA 55: 21490(1961); Takahashi, M., Isoi, K., Kimura, Y. and Yosioka, M.: *ibid* **82**(8), 752 (1964); CA 61: 11882b.; Takahashi, M., Abe, K. and Sato, T.: *Tohoku Yakka Daigaku Kenkyu Nempo*(Japan), **1**, (1966); BA 50: 123141(1966).
- 2) Euler, H. and Nordenson, E.: *Z. Physiol. Chem.*, **56**, 223 (1908).
- 3) Kondo, H. et al.: *Yakugaku Zasshi* (Japan), **35**, 779 (1915); *ibid* **37**, 749 (1918); *ibid* **40**, 1027 (1920).
- 4) Hörhammer, L. et al.: *Pharm. Zgt.*, **106**, 1307 (1961).
- 5) Kutani, N. and Oh, J.S.: *Jap. J. Med. Sci. IV. Pharmacol.* **13**, Translation 1940—41. Proc. J. Pharmacol. Soc., 14th Annu. Meeting., 1940. p. 72. (Abstract) (German).
- 6) Manki, T. and Tomimori, T.: *Shoyakugaku Zasshi* (Japan), **20**, (1), 21(1966); BA 29:36991 (1966).
- 7) Tsukamoto, Y., Yagi, A., Mihashi, K. and Mori,

- Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, 16, (11), 2123 (1968); BA 50:89436.
- 8) Chung, B.S.: *Korean J. Pharmacog.*, 5(3), 175 (1974).
- 9) Ahn, Y.P. and Chung, C.C.: *Taehan Hwahak Hoeji*, 14 (4), 281 (1970); CA 75: 95433d.
- 10) Shibata, S.: *Tampakushitsu, Kausan, Kosa*, 12, 32 (1967); Fujita, M., Itokawa, H. and Shibata, S.: *Yakugaku Zasshi* (Japan), 82, 1634(1962); Kim, J.Y. and Staba, E.J.: *Korean J. Pharmacog.*, 4, 193(1973); Staba, E.J. and Kim J.Y.: *ibid.* 2, 71 (1971).
- 11) DGF-Einheitmethode C-III 1a 74 (1956); 日本藥學會編, 衛生試驗法注解金原出版株式會社橋本 115 (1960).
- 12) Windous, M.: *Ber.*, 42, 238 (1906); *Z. Physiol. Chem.*, 65, 110 (1910).
- 13) Firestone, D.: *J. Amer. Oil Chem Soc.*, 45, 210A (1968); Mordert, F.: *Rev. Franc. Corps Gras* 16, 639 (1969).
- 14) Capella, P., Fedeli, E., Cirimele, M., Lanzani, A. and Jacini, G.: *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 40, 660 (1963); Walberg, M.: *Rev. Franc. Corps Gras*, 12, 41 (1965); Audiau, E. and Wolff, J.P.: *Rev. Franc. Corps, Gras* 14, 589(1967); *ibid* 165 (1966); Armandola: *Ind. Aliment. Agr.* (Paris), 5, 64(1966).
- 15) Fedeli, E.: *Rev. Franc. Corps Gras*, 15, 281 (1968).
- 16) Mordret, F.: *Rev. Franc. Corps Gras*, 14, 589 (1967).
- 17) Homberg, E. and Seher, A.: *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 148, 133 (1972).
- 18) 橋本, 廣谷, 向井 油化學(日本), 14, 343 (1965).
- 19) Kaufmann, H.P. and Makus, Z.: *Fette. Seifen. Anstrichmittel*, 62, 1014 (1960).
- 20) Mordret, F.: *Rev. Franc. Corps Gras*, 16, 639 (1969).
- 21) Jentzsh, D.: *GasrChromatographie, zweit, veränderte und erweiterte.* Johannes Illig. Buchrund Offsetdruck, öppingen (1968).
- 22) 池川, 松居. 衛生化學 15, 61 (1969); 松居 Shimadz Review, 28, 45(1971).
- 23) Stahl, E.: *Dünnschicht-Chromatographie, 2. Aufl.*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1967).
- 24) Kim, J.Y. and Staba, E.J.: *Korean J. Pharmacog.*, 4, 193 (1973); Staba, E.J. and Kim, J.Y.: *ibid* 2, 71 (1971).