creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

약학석사학위논문

비색법과 크로마토그래프법을 이용한 산성 다당체의 이화학적 특성 분석

Physicochemical characteristic analysis of acidic polysaccharides using colorimetry and chromatography

2018년 2월

서울대학교 대학원

약학과 약품분석학전공

현 규 환

비색법과 크로마토그래프법을 이용한 산성 다당체의 이화학적 특성 분석

Physicochemical characteristic analysis of acidic polysaccharides using colorimetry and chromatography

지도교수 권 성 원

이 논문을 약학석사학위논문으로 제출함

2017년 12월

서울대학교 대학원
약학과 약품분석학전공
현 규 환

현규환의 약학석사 학위논문을 인준함
2017년 12월

위 원 장 _____ 박 정 일 _____ (인)

부위원장 _____ 권 성 원 _____ (인)

위 원 _____ 송 준 명 _____ (인)

국 문 초 록

다양한 식물 추출물로부터 유래되는 산성 다당체는 갈락투론산 중합체를 기반으로 하는 펙틴류(Pectins)이며, 그 외에 아라비노스, 람노스, 갈락토오스와 같은 다양한 단당류들이 함께 결합되어 있는 이질다당체(Heteropolysaccharide)의 일종이다. 최근 이러한 펙틴-유사(Pectin-like) 다당체가 다양한 약리학적 효과를 가진다는 연구들이 보고되고 있다. 특히 그 중 대표적으로 인삼에서 유래되는 인삼 다당체는 면역 증강 효과, 항고지혈증 효과, 항피로 효과, 항암 효과 등을 가진다는 것이 보고되어 있다. 보다 선진적인 품질 평가를 위해서 식물 유래 의약품이나 건강기능식품 내의 산성 다당체의 함량과 품질을 고려하는 것이 중요하다고 여겨지고 있다.

본 연구에서는 인삼과 쌀 추출물 혼합액으로부터 에탄올 침전법을 통하여 분리하여 조다당체를 얻었으며, 얻어진 조다당체 분획을 음이온 교환 크로마토그래프법을 통해 분리하였다. 각각의 얻어진 분획의 물리화학적 특성을 푸리에 변환 적외선 분광법(FT-IR), 고성능 겔 여과 크로마토그래프법을 이용하여 규명하였으며, 비색법을 이용하여 총 다당체 함량, 유론산 함량을 정량하였다. 또한 각 분획을 산 조건에서 가수분해하여 유도체화를 거쳐 고성능 액체 크로마토그래프법을 이용하여 다당체를 구성하는 단당류의 조성을 확인하는 분석법을 구축하였다. 구축된 다당체 분석법을 기반으로, 서로 다른 쌀 품종간의 산성 다당체 함량의 차이를 확인하기 위하여 한국, 중국, 태국, 베트남에서 각각 *japonica* 품종과 *indica* 품종을 수집하여 비색법으로 분석하였다.

인삼 조다당체는 음이온 교환 크로마토그래피상에서 중성 분획과 산성 분획으로 분리되는 것을 확인하였다. 산성 분획에서 유론산의 비율이 높음을 확인하였다. 각 분획의 적외선 분광 스펙트럼에서 카보닐 작용기의 흡수대가 관찰되었으며 산성 분획에서 더 강한 흡수를 보이는 것을 확인하였다. 다른 펙틴류의 스펙트럼과 인삼 다당체의 스펙트럼은 유사했으나 구별 가능한 차이가 있었다. 고성능 겔 여과 크로마토그래프법을 통하여 각 분획은 다양한 크기의 다당체가 포함된 혼합물임을 확인하였다. 가수분해된 다당체의 조성은 갈락투론산이 가장

높았으며, 그 외에 글루코스, 갈락토스, 아라비노스가 주요 중성당으로 존재하였다. 수집된 두 품종의 쌀을 비색법으로 분석한 결과, 총 당의 함량은 *japonica* 품종과 *indica* 품종 간에 통계학적으로 유의미한 차이가 없었으나 유론산 함량은 *japonica* 그룹에서 유의하게 많았다.

이 연구를 통하여, 식물 유래 다당체를 비색법으로 정량하고 이화학적 특성을 규명하였다. 본 연구에서 확립된 다당체 분석법을 기반으로, 추가적인 연구를 통해 효과적으로 천연물 또는 식품 · 건강기능식품 내의 다당체를 정성 · 정량하는 방법이 확립되면 제품의 선진적인 품질관리에 이용될 수 있을 것이다.

주요어: 다당체(Polysaccharide), 인삼(Ginseng), 쌀(Rice), 조성 분석

학번: 2016-21842

목 차

국문초록 i

목차 iii

List of Figures v

List of Tables vi

I. 서론 1

II. 실험 4

1. 인삼 다당체의 특성 분석 4
1.1. 시료 준비 4
1.2. 다당체 추출 4
1.3. 음이온-교환 크로마토그래프법을 이용한 인삼 다당체 분리 5
1.4. 인삼 다당체의 분획별 비색 정량 5
1.5. 인삼 다당체의 조성 분석 6
1.6. 적외선 분광법 7
1.7. 다당체 분자량 분포 측정 7

2. 쌀 품종간 다당체의 정량적 비교 분석 8
2.1. 시료 준비 8
2.2. 쌀 다당체 추출 8
2.3. 쌀 다당체의 비색 정량 9
2.4. 데이터 처리와 통계 분석 9

III. 결과 13

1. 인삼 다당체의 특성 분석 13
1.1. 인삼 다당체의 분리 13
1.2. 인삼 다당체의 분획별 비색 정량 13
1.3. 인삼 다당체의 조성 분석 14
1.4. 인삼 다당체의 적외선 분광 분석 15
1.5. 인삼 다당체의 분자량 분포 분석 15

2. 쌀 품종간 다당체의 정량적 비교 분석 23
2.1. 품종간 쌀 다당체의 비색 정량 23

IV. 결론 26

V. 참고문헌 27

Abstract 29

List of Figures

Figure 1. (a) A schematic description of pectins, (b) The structure of homogalacturonans

Figure 2. The scheme of preparation for ginseng crude polysaccharide fraction.

Figure 3. The scheme of preparation for rice polysaccharide fraction.

Figure 4. Separation of two polysaccharide fractions on DEAE-cellulose column.

Figure 5. (a) The content of total carbohydrate and uronic acid in two fractions, (b) The content of protein in two fractions

Figure 6. (a) The chromatograms of 7 monosaccharide standards, (b) The calibration curves of 7 monosaccharide standards.

Figure 7. (a) IR spectrum of two ginseng polysaccharide fractions, (b) A comparison of IR spectrum of acidic fraction and pectin from citrus.

Figure 8. Calibration curve of molecular weight by 5 pullulan standards.

Figure 9. Gel permeation chromatogram of ginseng polysaccharide acidic fraction.

Figure 10. The amount of uronic acid and total carbohydrate in each sample.

Figure 11. Comparison of polysaccharide content between two varieties.

List of Tables

Table 1. Information on the varieties and nationalities of collected white rice samples.

Table 2. Monosaccharide composition of two polysaccharide fractions and pectin standards.

I. 서론

산성 다당체(Acidic polysaccharides)는 D-갈락투론산 단위체를 기본으로 하는 세포벽 유래 펙틴류(Pectins)에 속하는 다당체로서, 식물의 잎, 씨앗, 줄기, 과육 등 여러 부위에서 추출된다.[1] 최근 다양한 식용·약용 식물의 산성 다당체가 갖는 약리학적 효과가 활발히 연구되고 있다. 주로 NF-κB 억제 활성[2], 항 보체(Anti-complementary) 효과[3], 지라 세포의 증식 작용[4] 등 면역계와 관련된 효과가 많이 보고되고 있으며 이는 유래된 식물 종에 따라 다양하다. 그 중에서도 인삼(*Panax ginseng*)과 인삼을 가공한 홍삼에서 추출한 산성 다당체에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.

인삼(*Panax ginseng*)의 산성 다당체는 진세노사이드(Ginsenoside) 이외의 대표적인 비사포닌 계열 활성 성분으로서, 인삼 본래의 다양한 면역 활성을 설명할 수 있다는 점에서 최근 인삼 연구 분야에서 주목받고 있다. 특히 인삼을 열처리 가공한 홍삼에서 추출된 홍삼 산성다당체(RGAP, Red ginseng acidic polysaccharide)가 대표적이다. 홍삼 산성다당체는 B 세포와 T 세포, 대식 세포의 활성을 증가[5-7]시키며, 상승적(Synergistic) 면역기능 향상 효과가 보고되었다[8]. 면역 관련 효과 이외에도, 홍삼 산성다당체는 항 박테리아 부착 효과[9], 항 피로 효과[10], 항 고지혈증 효과[11] 등의 효능이 보고되어 있다.

구조적 관점에서 산성 다당체는 펙틴(Pectin)의 일종이다. 식물 세포벽에서 발견되는 펙틴은 자연계에서 가장 풍부하게 존재하는 다당체 군 중 하나로서 식물 세포의 성장과 분화, 세포 신호 전달, 수분 공급과 유연성 등 다양한 생리학적 기능과 연관되어 있다[12]. 펙틴은 유론산의 일종인 D-갈락투론산이 α-1,4 글리코시드 결합으로 연결된 호모갈락투로난(Homogalacturonan)구조에 아라비노스(Arabinose), 갈락토스(Galactose), 글루코스(Glucose), 람노스(Rhamnose) 등의 중성당이 곁가지로 결합된 이종다당체(Heteropolysaccahride)이다[13, 14]. 결합된 당의 조성이나 결합 순서는 식물 종에 따라 다양하다. 다만 산성 다당체의 단당 조성이나 단당간의 결합구조가 산성 다당체의 약리학적 효과에 미치는 영향, 즉 구조-활성 상관관계(Structure-activity relationship)는 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다.

산성 다당체의 다양한 약리학적 효과가 밝혀지면서, 식물을 원료로 하는 식품, 건강기능식품 및 의약품 제조 공정의 품질 평가 과정에서 산성 다당체의 함량과 품질을 고려하여야 한다는 요구가 증가하고 있다. 예를 들어 인삼 내의 산성 다당체는 이미 그 효능이 많이 밝혀져 있음에도 불구하고 대한약전 제 11개정에 따르면 진세노사이드 Rg1은 0.10%, Rb1은 0.20% 이상의 규정이 존재하지만 산성 다당체의 함량에 대한 기준은 정해져 있지 않다[15]. 하지만 산성 다당체의 효능에 관련된 연구에 비하여 그 구조, 함량과 같은 이화학적 성상에 관한 연구가 부족하여, 실제 생산 현장에 적용할 수 있는 명확한 기준을 확립하는 데에 필요한 자료가 부족한 실정이다.

본 연구에서는, 활성이 많이 연구되어 있는 대표적인 산성 다당체인 인삼의 산성 다당체를 알코올-비수용성 침전법과 음이온 크로마토그래프법을 통해 분리하여 각 분획을 비색법으로 정량하였다. 푸리에 변환 적외선 분광법(FT-IR)을 통하여 각 분획의 적외선 흡광 패턴을 다른 펙틴류의 스펙트럼과 비교하였으며, 겔 여과 크로마토그래피를 이용하여 다당체 분자량 분포를 측정하였다. 이후 산성 다당체를 단당으로 가수분해한 뒤 고성능 액체 크로마토그래프법을 통하여 단당 조성을 확인하였다. 이와 같은 방법을 통하여 산성 다당체의 이화학적 특성을 총체적으로 분석하는 것을 목표로 하였다.

나아가서, 인삼의 산성 다당체 분석을 통하여 확립된 비색 정량법을 바탕으로 비교적 산성 다당체에 관한 연구가 부족한 쌀(*Oryza sativa*)에서 산성 다당체를 추출하여 정량적으로 분석하였다. 한국, 중국, 태국, 베트남의 4개국에서 각각 *japonica* 품종과 *indica* 품종을 수집하였으며 각 품종 간의 산성 다당체 함량을 비색법으로 정량 후 통계적으로 비교하였다.

본 연구는 산성 다당체의 이화학적 특성에 대한 기초 연구로서 학술적으로는 식물 산성 다당체의 구조와 그 활성간의 관계에 대한 선행 연구로서 의미가 있으며, 추가적인 연구를 통하여 산성 다당체의 약리학적 효과에 대한 메커니즘을 규명할 수 있을 것이다. 또한 이 연구를 통하여 산성 다당체의 전반적인 분석법을 제공함으로써 식물 유래 건강기능식품 또는 의약품 내의 산성 다당체를 고려한 보다 선진적인 품질 평가 기준을 확립하는 데에 의의가 있다.

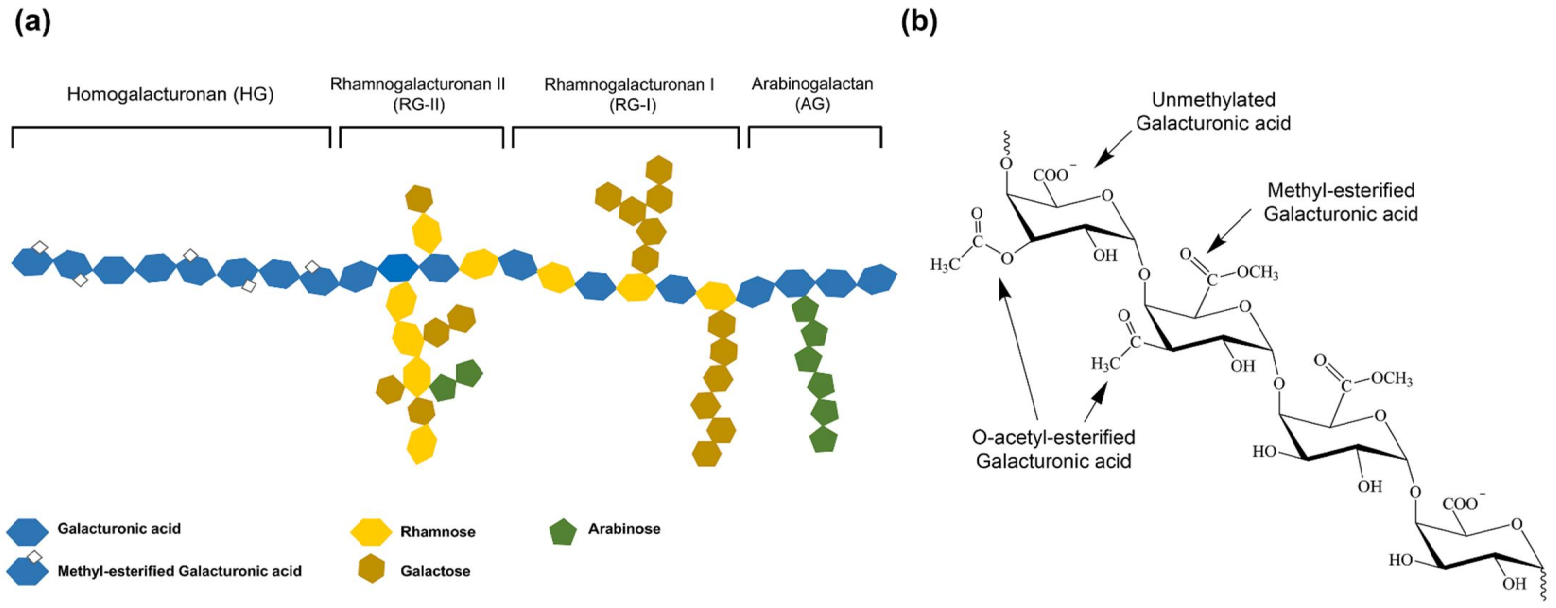


Figure 1. (a) A schematic description of pectins, (b) The structure of homogalacturonans.

II. 실험

1. 인삼 다당체의 특성 분석

1.1. 시료 준비

4년근 이상의 건조되지 않은 수삼 형태의 국내산 인삼(*Panax ginseng*)을 그 크기와 연근에 상관없이 무작위적으로 그룹별로 각각 5개씩, 총 15개의 시료를 경동시장(서울특별시 동대문구 용두동 7)에서 수집하였다. 수집된 시료는 50℃에서 72시간동안 완전히 건조된 후 세절되었으며 최종적으로 80메쉬 이하의 분말로 분쇄되었다. 각 인삼 분말 시료는 동결 건조 후 추출되기 전까지 −70℃ deep freezer에서 보관되었다.

1.2. 다당체 추출

인삼으로부터 다당체를 열수 추출하는 과정은 Xu Zhang et al., 2009[16]의 방법에 기초하여 진행하였다. 동결 건조된 인삼 분말 100 g에 증류수 1L를 가하여 최종 추출 농도가 100 g/L가 되도록 하였다. 100℃에서 4시간 동안 열탕 추출하였다. 이 때에 물과 분말을 지속적으로 고루 섞어주어 추출이 침전물의 상층부에서만 일어나지 않도록 하였다. 위와 같은 추출과정을 총 3회 반복하였다. 하부에 침전된 불용성 침전물을 원심분리를 통해 제거하여 상등액만을 수집하였다. 수집된 상등액은 회전식 감압 농축기(Rotary evaporator)를 통하여 500 mL로 농축되었다. 상등액을 50 mL 튜브에 분취한 후 4배 부피의 100 % 에탄올을 첨가하여 최종 농도가 80%가 되도록 하였다. 흰색 불용성 다당체 침전물이 관찰되면 12,000 rpm, 8C ° 조건으로 30 분간 원심분리후 상등액을 제거하여 하부의 알코올-불용성 침전 분획을 얻었다. 얻어진 조다당체 분획은 0.25배 부피의 Sevag reagent (1:4 n-butanol:chloroform, v/v)를 처리하여 액체-액체 추출법을 통해 단백질이 제거되었다. 얻어진 조다당체 분획은 동결 건조되어 −70℃ deep freezer에서 보관되었다(Figure 2).

1.3. 음이온-교환 크로마토그래프법을 이용한 인삼 다당체 분리

알코올 침전을 통하여 분리된 인삼 조다당체(Crude polysaccharide fraction)를 음이온-교환 크로마토그래프법을 이용하여 조다당체로부터 중성 분획과 산성 분획을 분리하고자 하였다. 먼저 DEAE-cellulose 고정상 25 g을 컬럼에 충진하고, 충분한 양의 증류수를 이용하여 고정상을 팽창시키고 안정화 하였다. 증류수를 이용하여 컬럼의 유속을 확인하고 30분간 고정상을 세척하였다. 세척 후 조다당체를 50 mg/mL 농도로 녹여 준비하고, 충진된 컬럼 윗부분에 스포이드를 이용하여 채워 넣었다. 이 때 채워진 시료 윗부분에 증류수를 이용하여 샘플이 균일하게 분포하도록 조정하였다. 시료가 채워지면 첫번째로 증류수를 용리액으로 이용하여 용리되어 나오는 중성 다당체 분획을 유리관으로 받아 분리하였다. 색을 띄지 않는 분획이 용출될 때까지 약 100 mL의 용리액을 받은 후 유속을 중단하였다. 그 후 0.5 M NaCl 용액으로 용리액을 교체하여 용리되어 나오는 산성 다당체 분획을 유리관으로 받아 분리하였다. 마찬가지로 색을 띄지 않는 분획이 용출될 때까지 약 100 mL의 용리액을 받았다. 수집 후 Phenol-sulfuric acid 법을 이용하여 각 유리관에 수집된 분획별 다당체 함유량을 확인하였다. 산성 다당체 분획은 잔존하는 NaCl을 제거하기 위해 투석막을 사용하여 12시간 투석하였다. 투석이 끝난 수집액은 회전식 감압 농축기를 통해 충분한 농도로 농축된 후, 동결 건조되어 -70℃ deep freezer에서 보관되었다.

1.4. 인삼 다당체의 분획별 비색 정량

음이온-교환 크로마토그래피법으로 얻어진 각각의 분획에 대해 비색 정량법을 사용하여 총 탄수화물 함량, 유론산 함량, 단백질 함량을 각각 정량하였다. 총 탄수화물은 기준물질로 글루코스를 사용하였으며, 96웰 마이크로플레이트에 적용하도록 수정된 Phenol-sulfuric acid 법을 사용하여 490 nm에서 마이크로플레이트 검출기(Spectramax 190, Molecular Devices, USA)를 통해 정량하고 이를 질량 퍼센트로 환산하였다[17]. 총 유론산 함량은 기준물질로 갈락투론산을 사용하였으며, m-hydroxydiphenol 법을 사용하여 520 nm에서

정량하고 질량 퍼센트로 환산하였다. 단백질은 기준물질로 Bovine serum albumin을 사용하였으며 단백질 정량 키트(Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific, USA)을 통해 565 nm에서 정량하였다.

1.5. 인삼 다당체의 조성 분석

인삼 다당체의 각 분획을 단당으로 분해하여 각 단당간의 구성 비율을 다른 펙틴류의 조성과 비교하고자 하였다. 동결 건조된 각 중성 다당체 분획과 산성 다당체 분획, 2종의 펙틴 표준품(Pectin from apple, pectin from citrus peel, Sigma-Aldrich, USA)을 10 mg씩 Tight cap vial에 넣고 1 M methanolic HCl 10 mL를 가하여 80 ℃에서 16시간동안 메탄올 분해하였다. 반응 후 남은 methanolic HCl을 질소 가스로 모두 제거한 뒤 2M Trifluoroacetic acid 를 10 mL 가하여 120 ℃에서 1시간동안 가수분해하였다. 반응 후 상온에서 식힌 뒤 각 바이알당 1 mL씩 취하여 질소로 건조시켜 분말화하였다. 건조된 다당체에 0.5 mL의 0.3 M NaOH를 첨가한 후 완전히 녹도록 얼음물에서 30분간 sonication하였다. 다당체가 완전히 녹으면 0.5 mL의 0.5 M PMP (1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone)시약을 가하여 70 ℃에서 30분간 유도체화를 진행하였다. 반응 후 0.3 M 당량의 HCl을 넣어 중화한 후 pH를 확인하였다. 남아있는 PMP 시약을 제거하기 위하여 1배 부피의 Chloroform을 넣어 액체-액체 추출을 통해 PMP를 제거하는 과정을 총 5회 반복 후 최종적으로 Chloroform 층을 완전히 제거하였다.

PMP-유도체화된 단당 혼합물은 고성능 액체 크로마토그래피 시스템(Agilent 1260 infinity, Agilent, USA)에서 표준품의 검량선을 통하여 정량되었다. 검출기는 diode-array detector가 사용되었다. 컬럼은 실리콘 역상 컬럼(Eclipse Plus C18, 3.5μm, 4.6 x 150 mm, Agilent, USA)을 사용하였으며 온도는 30 ℃로 유지되었다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min으로 설정하였다. 이동상 A의 조성은 20 mM phosphate buffer가 첨가된 20% Acetonitrile in water, 이동상 B의 조성은 20 mM phosphate buffer가 첨가된 30% Acetonitrile in water이었다. 조건은 다음과 같다. 0-30분(0-100% B), 30-40분(100% A). 시료는 10 μL 주입되었으며 diode-array detector의 측정 파장은 245 nm였다. 시료의 각 단당을 정량하기 위한 표준품으로

글루코스, 갈락토스, 람노스, 만노스, 아라비노스, 갈락투론산, 글루쿠론산의 총 7종을 선정하였다.

1.6. 적외선 분광법

분리된 다당체 분획 내의 작용기로 인한 적외선 흡광 패턴을 비교함으로써 얻어진 두 다당체 분획 내 호모갈락투로난 사슬의 카복실기 구조를 확인하고자 하였다. 동결건조된 중성 다당체 분획과 산성 다당체 분획을 1 mg/mL의 농도로 증류수에 용해시켰다. 푸리에 - 변환 적외선 분광기(FT-IR 4200, Jasco, USA)가 적외선 분광분석에 사용되었다. Demountable liquid cell에 시료 수용액을 점적한 후 완전히 건조시키는 것을 반복하여 cell 표면에 얇은 시료의 필름이 생기도록 하여 측정 검체를 준비한 뒤 기기 내부에 장착하였다. 시료는 4000 cm^{-1}에서 600 cm^{-1}의 파수 범위에서 측정되었다. Resolution은 4 cm^{-1}, Accumulation은 16회로 설정되었다.

j

1.7. 다당체 분자량 분포 측정

다당체 각 분획을 구성하는 다당체 분자량의 분포를 확인하기 위하여 고성능 겔 투과 크로마토그래프 시스템(Dionex HPLC Ultimate3000 RI System, Thermo scientific, USA)을 사용하였다. 컬럼은 3종의 하이드로겔 컬럼(Ultrahydrogel 120, 500, 1000, Waters, USA)을 serial로 연결하여 사용하였으며 온도는 40℃로 조절되었다. 이동상은 sodium azide 0.1 M in water를 사용하였으며 유속은 1 mL/min으로 유지되었다. 시료는 10 μL 주입하였고 굴절률 검출기(Refractive index detector)로 검출하였다. 분자량 표준 물질로 Pullalan을 사용하였으며, 5종의 표준품 Pullalan 342 Mw, 10000 Mw, 113000 Mw, 393000 Mw, 805000 Mw를 사용하여 검량선을 작성하였다. 시스템을 통해 얻어진 크로마토그래프 데이터는 전용 소프트웨어(Chromeleon 6.8 Extention-pak, Thermo scientific, USA)를 통하여 처리되었다.

2. 쌀 품종간 다당체의 정량적 비교 분석

2.1. 시료 준비

Japonica 품종의 쌀(*Oryza sativa* L.)시료들은 한국과 중국의 다양한 지역에서 무작위적으로 수집되었고 수집 지역에 따라 분류되어 한국에서 10 그룹, 중국에서 10 그룹이 수집되었다. *indica* 품종의 쌀 시료들은 태국과 베트남에서 수집되었으며 태국에서 11 그룹, 베트남에서 8 그룹이 수집되었고, 총 두 가지 품종의 39 그룹의 시료가 수집되었다(Table 1). 각 그룹의 시료는 수집 직후 −40℃에서 보관되었으며 80메쉬 이하의 분말로 분쇄된 후 동결 건조되어 추출되기 전까지 −70℃ deep freezer에서 보관되었다.

2.2. 쌀 다당체 추출

쌀의 다당체 추출 과정은 Sibuya et al., 2014[18]의 방법을 참고하여 진행하였다. 쌀의 지방질을 제거하기 위하여 동결 건조된 쌀 500mg에 3 mL의 1:1 ethanol−ether 혼합물을 처리 후 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 남은 상등액은 질소 가스를 사용하여 완전히 제거되었다. 건조된 침전물에 80 % (v/v)의 에탄올을 첨가 후 원심분리하여 다당체 침전물을 얻었으며, 얻어진 다당체 침전물은 3 mL 증류수에 재분산되었다. 쌀 다당체 침전물 부유액에 α−amylase (2 U/mg of carbohydrate)를 처리하고 40℃에서 1시간 30분간 반응시킨 후, amyloglucosidase (0.33 U/mg of carbohydrate)를 추가로 처리하여 60℃에서 2시간 동안 반응시켜 수용성 녹말 과립을 제거하였다. 효소 처리 후 녹말의 제거 여부는 iodine/KI 염색법으로 확인하였다. 이어서 초원심분리 여과법(Vivaspin 500®, 5000 MWCO)을 통하여 쌀 부유액의 저분자 불순물을 제거한 후, 질소 가스로 건조하여 쌀 다당체 분획을 얻었다(Figure 3).

2.3. 쌀 다당체의 비색 정량

비색 정량법을 사용하여 쌀 다당체의 총 탄수화물 함량, 유론산 함량을 정량하고 품종 그룹별로 비교 분석하였다. 총 탄수화물은 기준물질로 글루코스를 사용하였으며, 96웰 마이크로플레이트에 적용하도록 수정된 Phenol-sulfuric acid 법을 사용하여 490 nm에서 마이크로플레이트 검출기(Spectramax 190, Molecular Devices, USA)를 통해 정량하였다[17]. 총 유론산 함량은 기준물질로 갈락투론산을 사용하였으며, carbazole-sulfuric acid 법을 사용하여 525 nm에서 정량하였다[19].

2.4. 데이터 처리와 통계 분석

얻어진 정량 수치 데이터들은 스프레드 시트 프로그램(Microsoft Excel 2016, Microsoft Corp, USA)을 통하여 정리되었으며, 표준 검량선 데이터는 마이크로플레이트 데이터 분석 프로그램(Softmax pro, Molecular Devices, USA)으로 처리되었다. 수집된 각 그룹 데이터의 통계적 분석을 위하여 데이터 정리/분석 프로그램(Graphpad prism version 6.0, Graphpad Software, USA)이 사용되었다. Unpaired *t*-tests 는 two-tailed, unequal variance, Welch-corrected 조건에서 수행되었으며, 통계적 유의성 기준은 $p < 0.05$ 로 설정되었다.

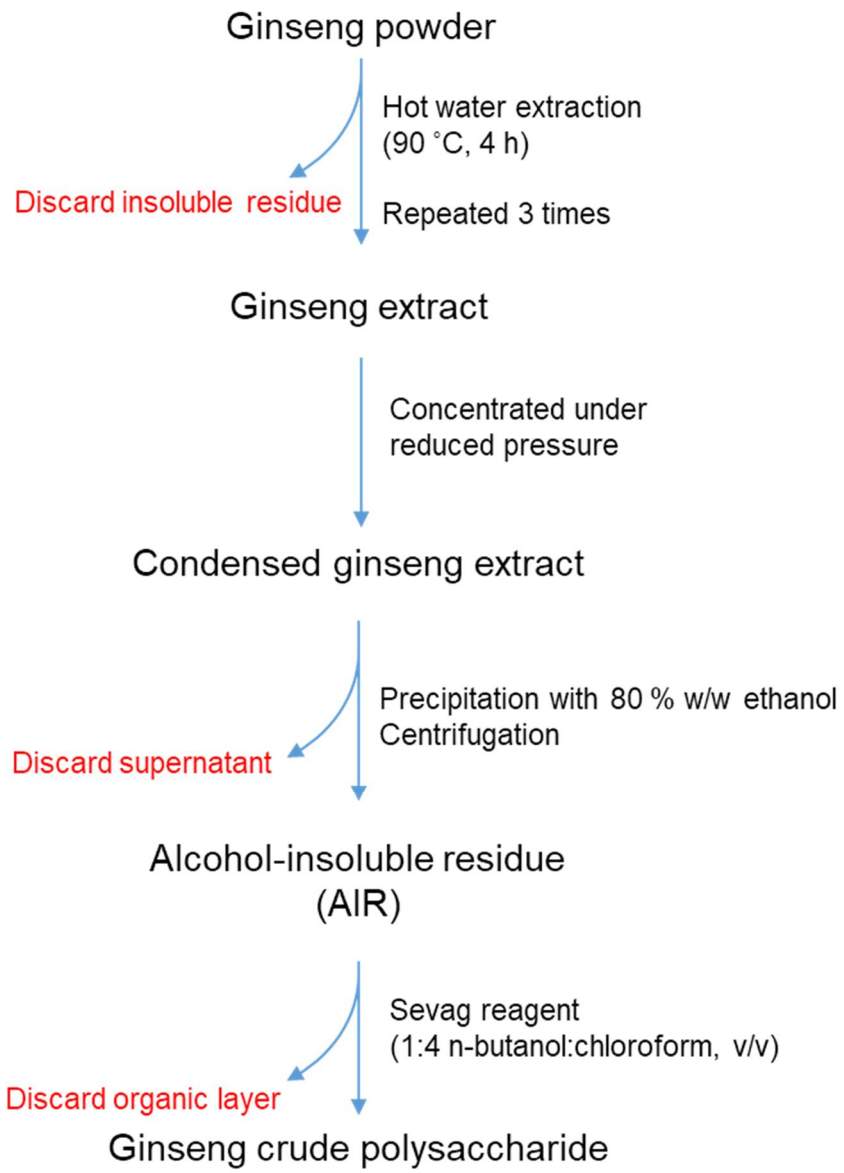


Figure 2. The scheme of preparation for ginseng crude polysaccharide fraction.

Table 1.

Information on the varieties and nationalities of collected white rice samples.

Variety	IDs	Nationality	Variety	IDs	Nationality
japonica	J1	Korea	*indica*	I1	Thailand
japonica	J2	Korea	*indica*	I2	Thailand
japonica	J3	Korea	*indica*	I3	Thailand
japonica	J4	Korea	*indica*	I4	Thailand
japonica	J5	Korea	*indica*	I5	Thailand
japonica	J6	Korea	*indica*	I6	Thailand
japonica	J7	Korea	*indica*	I7	Thailand
japonica	J8	Korea	*indica*	I8	Thailand
japonica	J9	Korea	*indica*	I9	Thailand
japonica	J10	Korea	*indica*	I10	Thailand
japonica	J11	China	*indica*	I11	Thailand
japonica	J12	China	*indica*	I12	Vietnam
japonica	J13	China	*indica*	I13	Vietnam
japonica	J14	China	*indica*	I14	Vietnam
japonica	J15	China	*indica*	I15	Vietnam
japonica	J16	China	*indica*	I16	Vietnam
japonica	J17	China	*indica*	I17	Vietnam
japonica	J18	China	*indica*	I18	Vietnam
japonica	J19	China	*indica*	I19	Vietnam
japonica	J20	China			

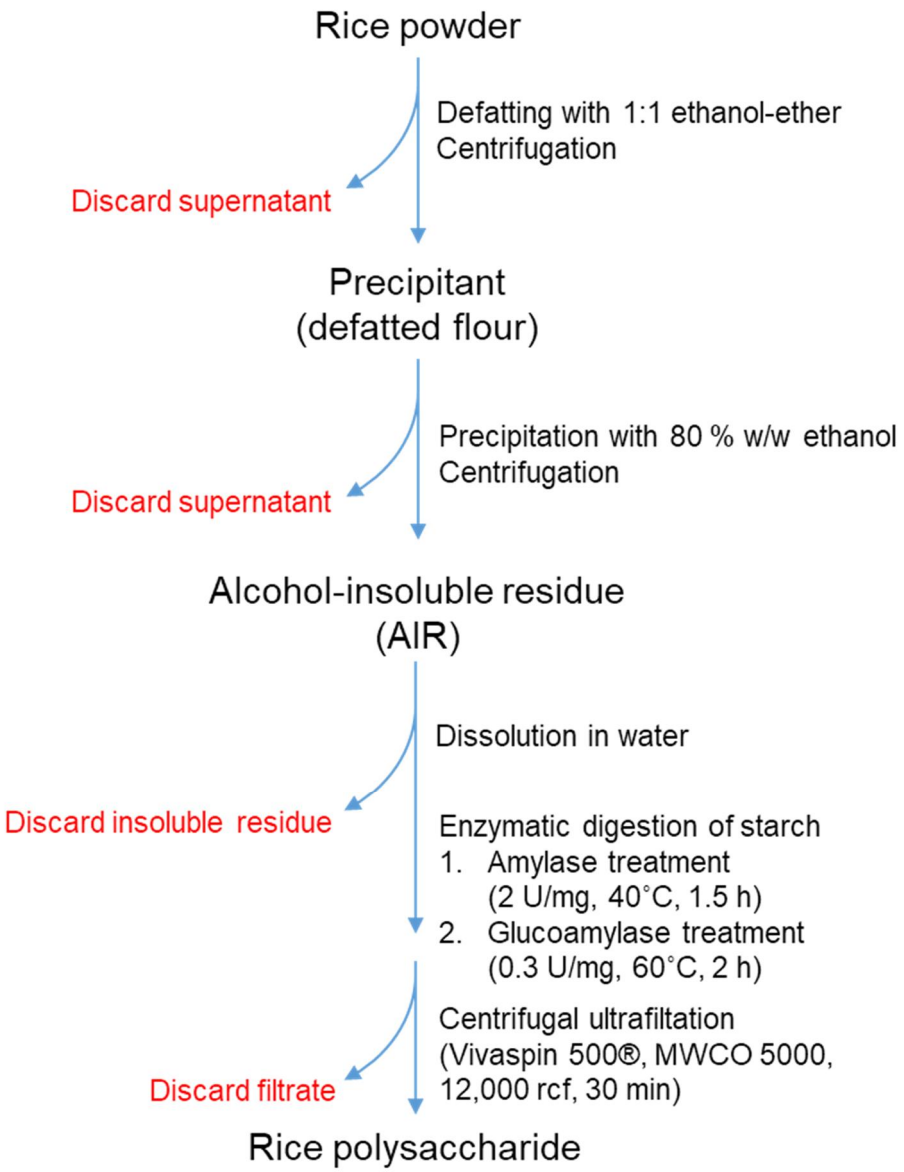


Figure 3. The scheme of preparation for rice polysaccharide fraction.

III. 결과 및 고찰

1. 인삼 다당체의 특성 분석

1.1. 인삼 다당체의 분리

알코올 침전 전처리법으로 얻어진 인삼 조다당체는 음이온 교환 컬럼에 친화성이 낮은 중성 분획과 음전하를 지니고 있는 산성 분획으로 분리되었다. Phenol-sulfuric acid 법을 사용하여 시험관에 모아진 용리액의 다당체 함유 여부를 분석한 결과, 명확하게 분리되는 두 개의 피크가 관찰되었다(Figure 4). 중성 다당체 분획의 피크는 0-7번 시험관에서 얻어졌으며, 산성 다당체 분획의 피크는 15-21번 시험관에서 얻어졌다. 총 2.750 g의 조다당체 분말을 분리하여 중성 다당체로서 1.357 g, 산성 다당체로서 0.198 g을 얻었으며 Recovery는 56.5 %로 계산되었다. 이를 통하여, 인삼의 다당체는 화학적 성질이 구분되는 두 다당체 그룹으로 분리될 수 있음을 확인하였다. 또한, 기존 효능 연구를 바탕으로 약리학적 효능을 지닌다고 보고된 활성 다당체 성분은 산성 분획에 더 많이 포함되어 있을 것으로 추측할 수 있었다.

1.2.인삼 다당체의 분획별 비색 정량

얻어진 두 분획에서 비색 정량법을 사용하여 총 탄수화물, 총 유론산, 총 단백질 함량을 정량하고 질량 백분율로 환산하였다. 기준물질을 글루코스로 하여 Phenol-sulfuric acid법으로 정량한 총 탄수화물은 중성 분획에서 77.4 %, 산성 분획에서 25.7 %이었고, m-hydroxydiphenyl법으로 정량한 총 유론산은 중성 분획에서 0.8 %, 산성 분획에서 28.2 %로 측정되었다(Figure 5a). 총 탄수화물 함량 대비 유론산 함량 비율($\frac{Uronic\ acid\ content\ (mg/g)}{Total\ carbohydrate\ content\ (mg/g)}$)이 산성 분획에서 중성 분획에 비해 88.2배 높으므로, 호모갈락투론산 구조를 갖는 펙틴류 다당체의 비율이 산성 분획에서 압도적으로 높다고 추정할 수 있다. 단백질 정량 결과 중성 분획에서 1.82 %, 산성 분획에서 5.07 %의 단백질이 검출되었다. 이는 음이온 교환 수지상에서 음전하를 띤 단백질이 컬럼과의 친화력이 높아 NaCl 용리액에서 더 많은 비율이

용리되어 나오는 것으로 설명할 수 있다.

1.3.인삼 다당체의 조성 분석

각 단당의 정량을 위하여 PMP-유도체화를 완료한 총 7종의 표준품의 크로마토그램을 확인하였다. 7종의 단당 피크는 설정된 조건상에서 머무름 시간의 겹침 없이 깨끗하게 분리되었으며 설정된 정량 범위 내에서 정량적임을 확인하였다(Figure 6). 인삼 다당체 중성 분획, 산성 분획, Pectin from apple, Pectin from citrus의 가수분해된 단당 혼합물은 표준품과 같은 방법으로 처리되었으며 크로마토그램의 모든 단당 피크가 정량 범위 내에서 측정되었다(Table 2). 상대적 정량 결과, 중성 분획의 조성에서는 글루코스가 97.9 %로 단당 구성비의 대부분을 차지하였으며, 일부 중성당인 갈락토스와 아라비노스도 각각 1.1 %와 1.0%였다. 반면, 산성 분획에서는 갈락투론산이 32.2%로 가장 높았으며, 중성당인 글루코스, 갈락토스, 아라비노스가 각각 24.0 %, 24.4 %, 18.1 %로 비슷한 비율로 관찰되었다. 갈락토스와 아라비노스는 자연 펙틴류에서 관찰되는 대표적인 구성 성분들이며[1], 또한 인삼 다당체의 산성 분획에서 호모갈락투로난 이외의 중성 단당 3종의 비율이 유사하다는 기존의 연구와 상당 부분 일치한다[16]. 펙틴 표준품 2종의 경우 Pectin from apple과 Pectin from citrus 모두에서 갈락투론산이 각각 59.0 %, 55.3 %로 가장 높은 비율을 보였다. Pectin from apple의 경우 중성당인 글루코스, 갈락토스, 아라비노스가 각각 10.5 %, 12.6 %, 6.7 % 존재하였고 인삼의 산성 다당체에서는 검출되지 않았던 만노스와 람노스가 각각 1.2 %, 4.3 % 검출되었다. Pectin from citrus의 중성당은 글루코스와 갈락토스가 각각 5.2 %, 23.4 %로 갈락토스의 비율이 높았으며, 람노스가 7.6 %의 높은 비율로 관찰되었다. 조성 분석 결과를 고찰하면 인삼 다당체의 중성 분획은 글루코스가 대부분을 차지하는 것으로 보아 전처리 과정에서 제거되지 않은 인삼의 수용성 녹말에서부터 유래하였다고 추정하였다. 산성 분획은 갈락투론산이 가장 많고 글루코스, 갈락토스, 아라비노스를 주 구성당으로 하는 펙틴류이나 그 단당의 세부 구성 성분비는 사과 또는 감귤류에서 추출된 펙틴과는 상이하다고 할 수 있다. 단당 조성과 그 결합 방식의 차이점이 다른 펙틴류에는 없는 인삼 산성 다당체만의 독특한 약리학적 효능을 갖게 하는 것으로 생각된다.

1.4.인삼 다당체의 적외선 분광 분석

적외선 분광법을 사용하여 카복실기 특유의 흡광 패턴을 찾고 이를 통해 인삼 다당체의 호모갈락투로난 구조를 관찰하고자 하였다. 인삼 다당체의 산성 분획에서는 1600 cm^{-1} 부근의 파수대에서 C=O 카보닐 그룹의 뚜렷한 적외선 흡광이 관찰되었으며, 중성 분획의 스펙트럼과 비교하였을 때 흡광의 정도가 확연히 강한 것을 확인하였다(Figure 7a). 이온화된 카복실 그룹의 symmetric stretch에 의한 흡광과 관련이 있는 1300 - 1400 cm^{-1} 부근의 스펙트럼은 두 분획에서 서로 유사하였다(Figure 7b). Pectin from citrus와 산성 분획의 적외선 흡광 스펙트럼을 서로 비교해 보았을 때, Pectin from citrus의 스펙트럼에서는 인삼 다당체에서는 관찰되지 않는 1750 cm^{-1} 부근의 강한 흡광이 관찰되었다. 이는 이온화되지 않은 카복실기의 C=O 결합에 의한 흡광이라고 추정하였다. 또한 Pectin from citrus의 스펙트럼에서는 산성 분획에 비해 1250 cm^{-1} 부근에서 강한 흡광을 나타내었고, 이는 이온화되지 않은 카복실 그룹의 C-OH 결합의 stretch와 bending에 의한 적외선 흡광으로 추정되었다. 따라서, 인삼 다당체의 호모갈락투로난 구조는 상당 부분 메틸화되어 있지 않으며, 대부분 이온화되어 있는 카복실기를 함유하고 있는 형태로 추정된다.

1.5.인삼 다당체의 분자량 분포 분석

고성능 겔 투과 크로마토그래피를 통하여 인삼 다당체 분획에 함유되어 있는 다당체들의 분자량을 추정하고 그 분포를 분석하였다. Pullulan 표준품을 사용하여 얻은 검량선은 log(0.3 kDa) - log(800 kDa) 사이에서 유의하게 직선성을 나타내었다(Figure 8). 중성 분획의 겔 투과 크로마토그램에서는 구별되지 않는 연속적인 하나의 피크만이 관찰되었고, 분자량 산술 평균(Mw)은 244.7 kDa로 계산되었다. 산성 분획에서는 다섯 개의 피크가 관찰되었으며, 검량선에 따라 각 피크의 분자량은 530 kDa, 100 kDa, 47 kDa, 5 kDa, 0.56 kDa 로 계산되었다(Figure 9). 이 중 47 kDa의 다당체가 피크 넓이를 기준으로 가장 큰 비율을 차지하였다. 기존의 인삼 다당체에 관한 연구에 따르면, 50 kDa 부근의 다당체에서 항바이러스[20], 항보체[21], 림프구 증식 활성[22] 등의 약리학적 활성들이 보고되었다. 따라서 관찰된 5개의 피크 중 47 kDa의 다당체가 약리 활성이 있을 것으로 기대된다.

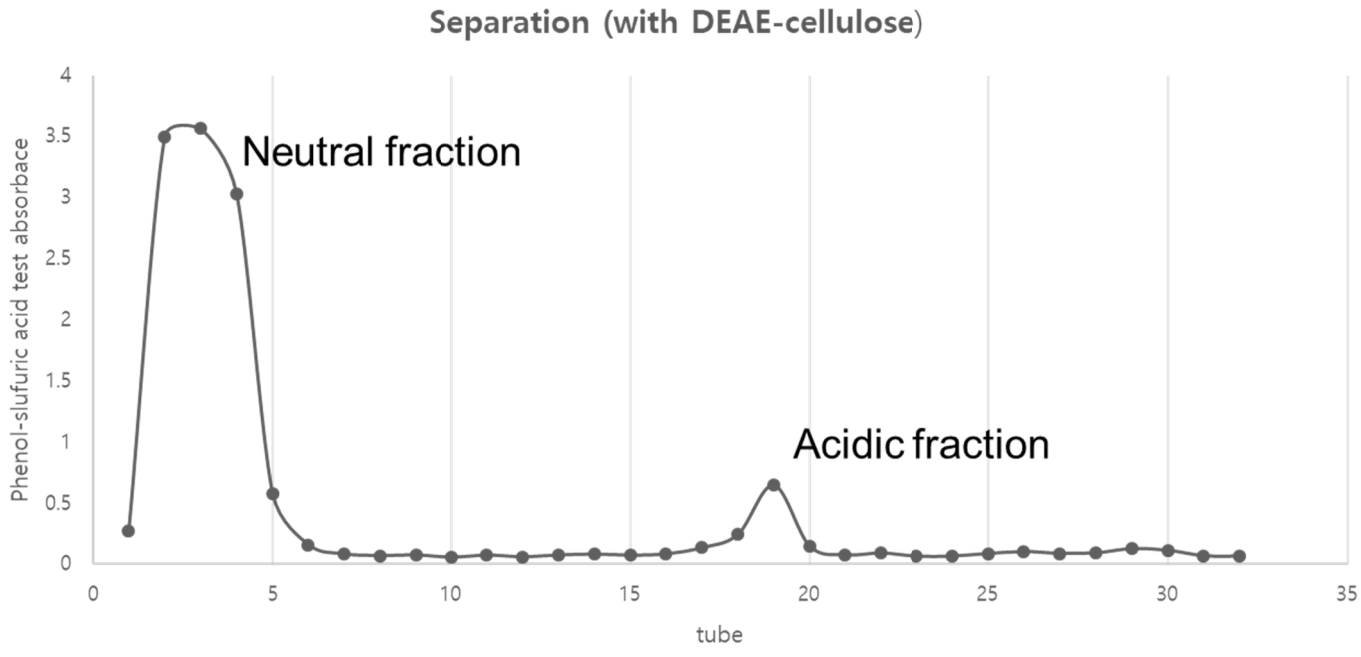
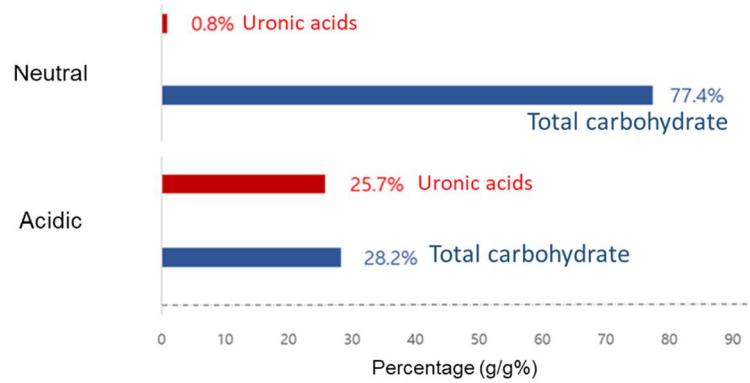


Figure 4. Separation of two polysaccharide fractions on DEAE-cellulose column.

(a)

		Absorbance	Concentration (mg/mL)	Percentage (g/g%)
Neutral	Total carbohydrate	1.35	0.155	77.4
	Uronic acids	0.02	1.56	0.8
Acidic	Total carbohydrate	0.67	0.056	28.2
	Uronic acids	0.16	51.43	25.7



(b)

Protein content (BSA standard)

	Neutral	Acidic
Average.	0.12	0.15
(w/w) %	**1.82**	**5.07**

Figure 5. (a) The content of total carbohydrate and uronic acid in two fractions, (b) The content of protein in two fractions.

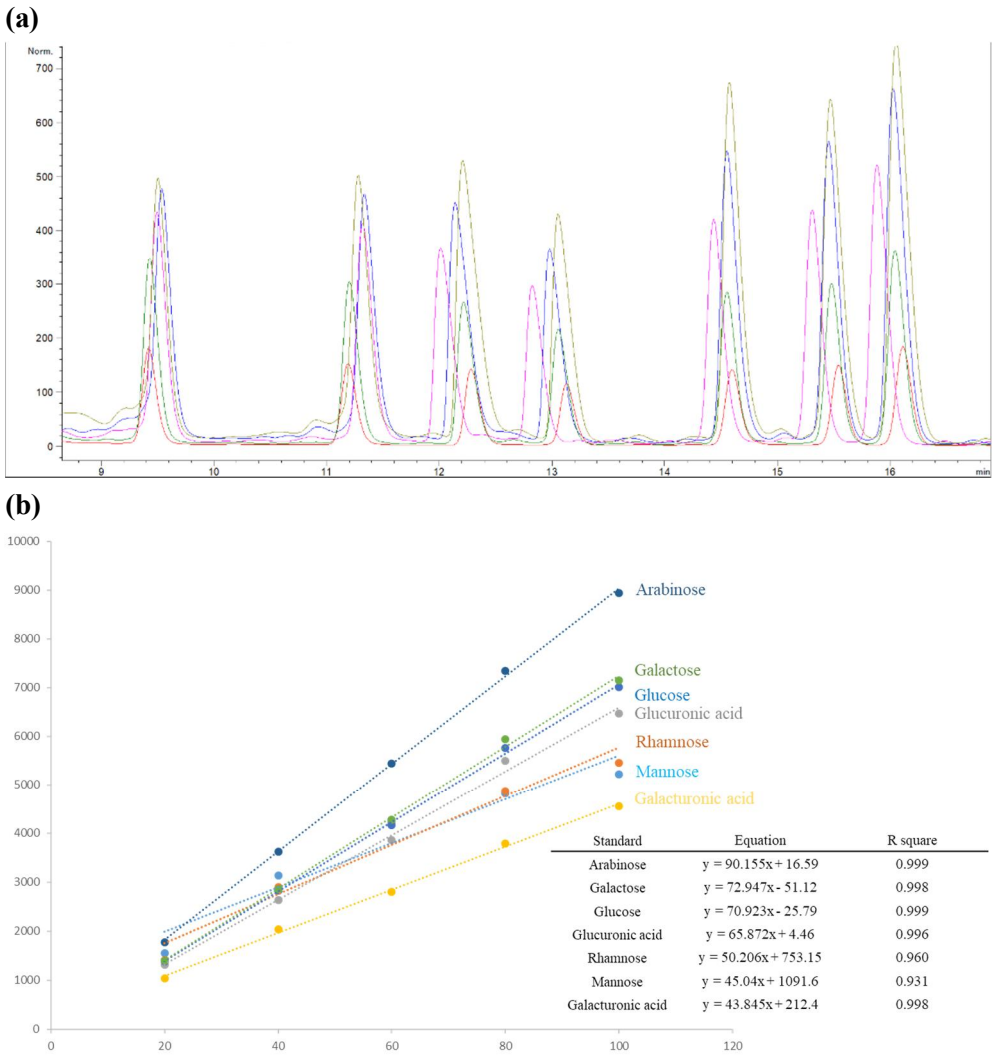


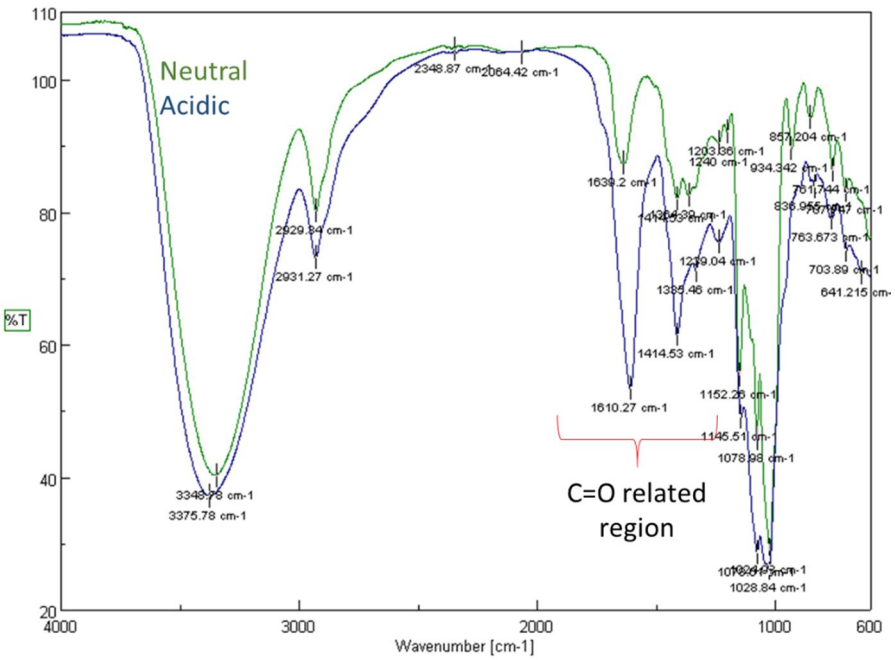
Figure 6. (a) The chromatograms of 7 monosaccharide standards, (b) The calibration curves of 7 monosaccharide standards.

Table 2. Monosaccharide composition of two polysaccharide fractions and pectin standards.

	Monosaccharide composition (%)								
	Mannose	Rhamnose	GluA	GalA	Glucose	Galactose	Arabinose	Unknown1	Unknown 2
Ginseng neutral fraction	0.0	0.0	0.0	0.0	97.9	1.1	1		
Ginseng acidic fraction	0.0	0.0	1.3	32.2	24.0	24.4	18.1		
Pectin from apple	1.2	4.3	0.0	59.0	10.5	12.6	6.7	2.3	3.5
Pectin from citrus	1.9	7.6	0.0	55.3	5.2	23.4	0.0	2.8	3.9

GluA : Glucuronic acid, GalA: Galacturonic acid

(a)



(b)

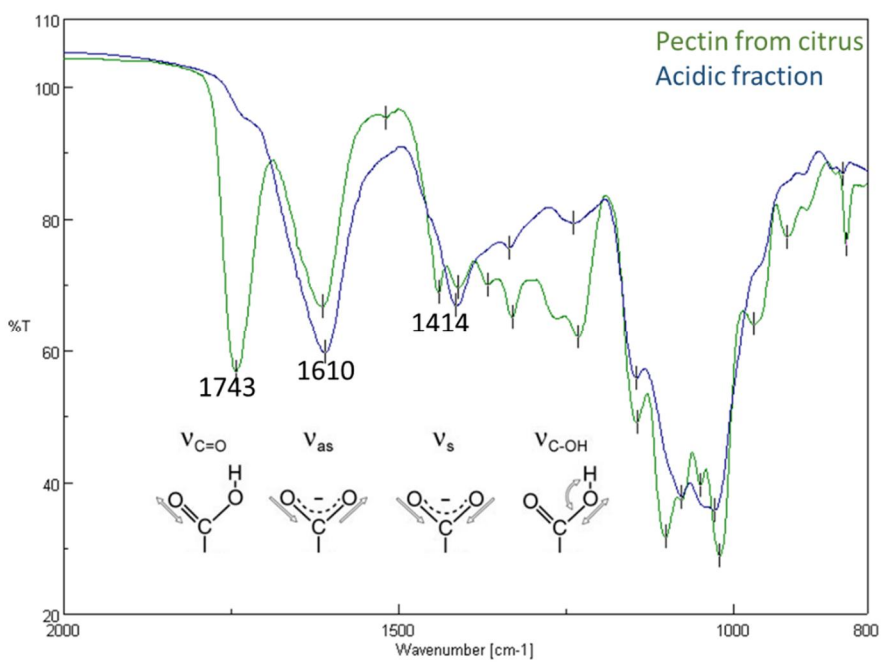


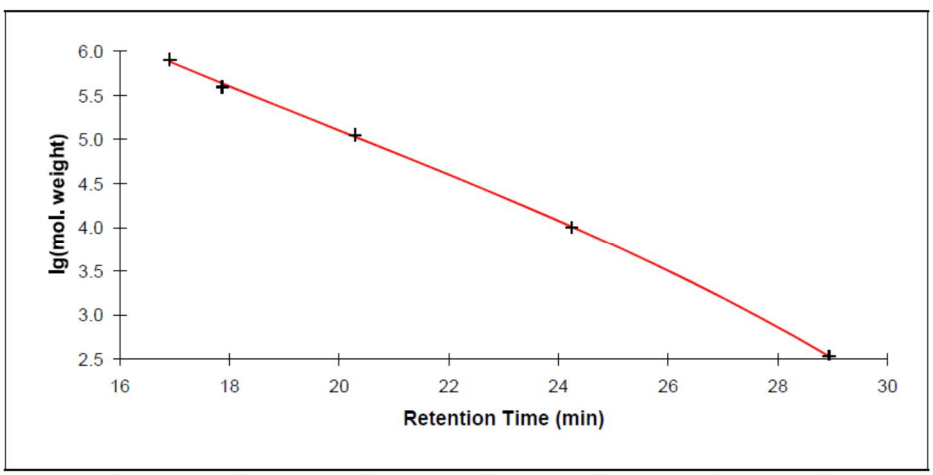
Figure 7. (a) IR spectrum of two ginseng polysaccharide fractions, (b) A comparison of IR spectrum of acidic fraction and pectin from citrus.

Calibration Settings

Number of Calibration Points	5
Calibration Type	Cubic

Calibration Coefficients

C0	C1	C2	C3
13.6549	- 0.7910	0.0274	- 0.0005



Peak Number	Peak Name	Mw [Da]	Log(Mw)	RT (Repl. 1) [min]	RT (Repl. 2) [min]	RT (Repl. 3) [min]	RT (Repl. 4) [min]
1	5	803000	5.905	16.908	n.a.	n.a.	n.a.
2	4	393000	5.594	17.867	n.a.	n.a.	n.a.
3	3	113000	5.053	20.292	n.a.	n.a.	n.a.
4	2	10000	4.000	24.242	n.a.	n.a.	n.a.
5	1	342	2.534	28.933	n.a.	n.a.	n.a.

Figure 8. Calibration curve of molecular weight by 5 pullulan standards

Averages and Polydispersity	
Number Average Mn	4886
Weight Average Mw	117557
Z Average Mz	535023
(Z+1) Average Mz+1	880157
Polydispersity PD	24.06

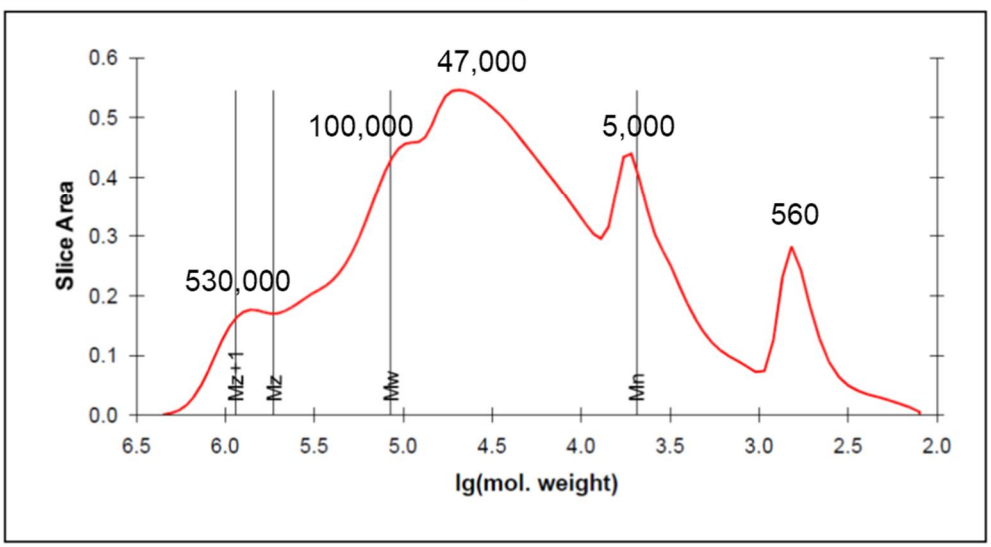


Figure 9. Gel permeation chromatogram of ginseng polysaccharide acidic fraction.

2. 쌀 품종간 다당체의 정량적 비교 분석

2.1. 품종간 쌀 다당체의 비색 정량

중국, 한국, 태국, 베트남의 4개국에서 수집된 2개 품종의 쌀에 대해 총 탄수화물 함량과 유론산 함량을 분석하고 통계적으로 비교하였다. 총 탄수화물 함량과 유론산 함량은 분석된 쌀 품종의 1g당 mg 함량으로 환산되었다. 중국과 한국에서 수집된 japonica 품종에서 총 탄수화물의 함량은 6 – 30 mg/g으로 다양하였으며, 평균값은 15.0 mg/g이었다. japonica 품종에서 유론산 함량은 3 – 13 mg의 범위였으며 그 평균값은 7.1 mg/g 이었다. indica 품종에서, 총 탄수화물과 유론산 함량의 평균값은 각각 10.2 mg 과 5.3 mg 이었다. 두 그룹 모두에서 총탄수화물 함량 대비 유론산 함량은 약 50 %로 계산되었으며, 이는 쌀 endosperm의 세포벽 펙틴에서 유론산의 함량이 55.1 %라는 기존의 보고와 부합한다[18]. 한국에서 수집된 샘플들간의 표준 오차는 0.6으로서 중국, 태국, 베트남 샘플들이 각각 2.9, 1.4, 3.1의 표준 오차를 갖는 것에 비해 매우 낮은 수치이다. 이는 다양한 영향에 의해 고려될 수 있지만, 그 중 한 요인으로서 한국의 쌀 재배 범위가 타 국가에 비해 좁기 때문에 재배 기후와 토양의 다양성에 의한 함량 오차가 보다 작은 것으로 추정된다[23].

두 품종 그룹의 총 탄수화물 함량과 유론산 함량에 대해 Unpaired t-tests로 품종 간 차이의 통계적 유의성을 분석하였다. 총 탄수화물 함량의 경우, p-value는 0.07으로 95 % 유의성으로 설정된 기준에 따르면 두 그룹 간 통계적 차이가 있다고 보기 힘들다고 판단되었다. 유론산 함량의 경우, p-value는 0.04로서 두 그룹 간 유의한 차이가 있다고 판단되었다. 결과적으로, 이는 japonica 품종이 indica 품종에 비해 더 높은 유론산 함량을 갖는다는 사실을 의미하며, 약리학적으로 유의한 산성 다당체의 비율이 japonica 품종의 쌀에서 더 높을 수 있음을 내포한다.

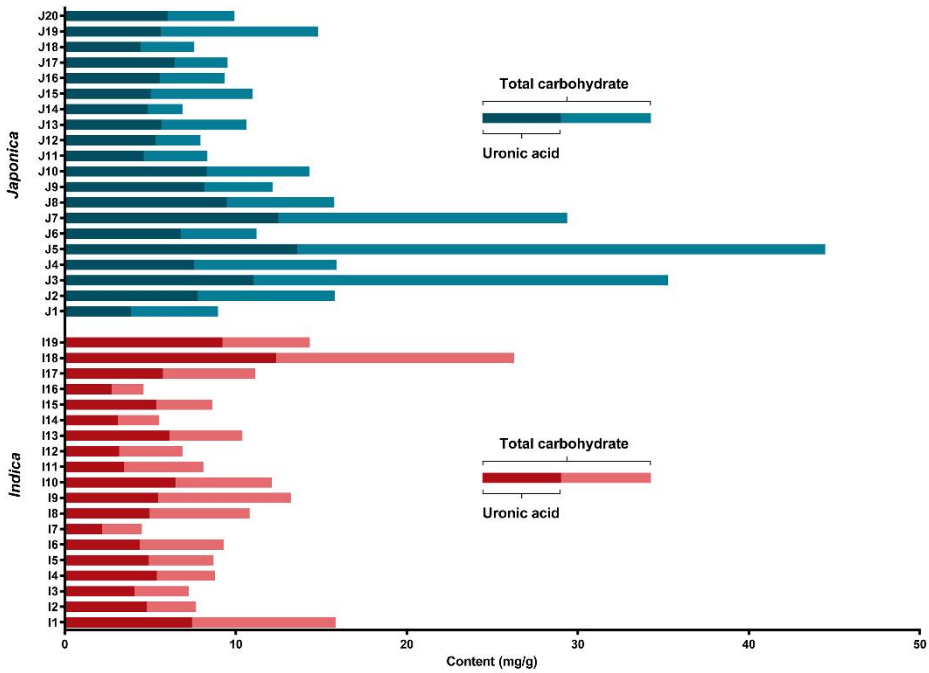


Figure 10. The amount of uronic acid and total carbohydrate in each sample.

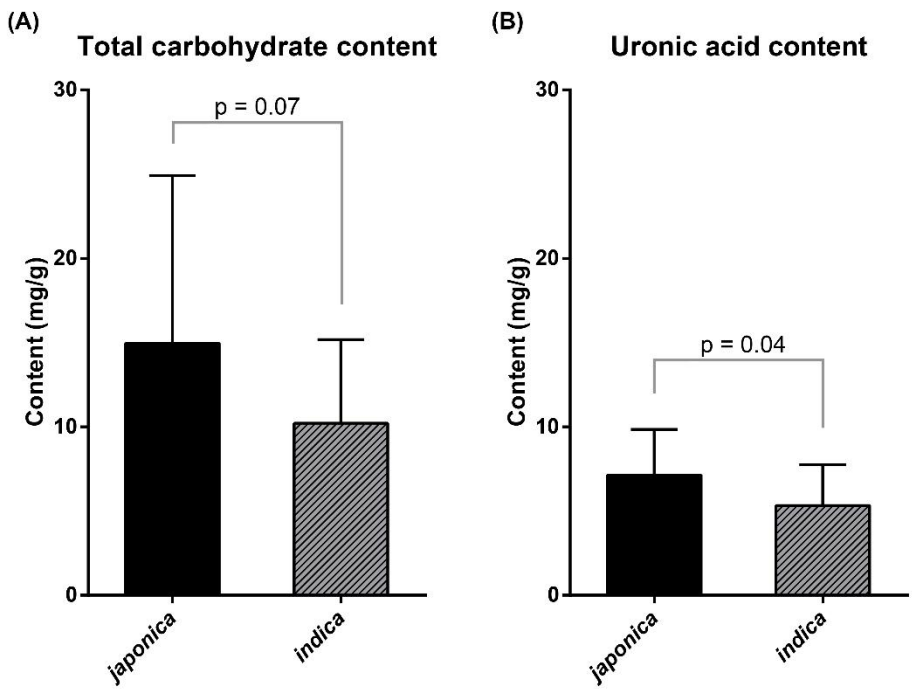


Figure 11. Comparison of polysaccharide content between two varieties.

IV. 결론

인삼(*Panax* ginseng) 다당체의 산성 분획은 음이온 교환 크로마토그래피상에서 인삼 조다당체를 분리하여 얻어졌다. 비색법과 적외선 분광법, 겔 투과 크로마토그래피 분석, 단당 조성 분석을 통하여 약리학적인 효능이 보고된 산성 다당체는 인삼 다당체의 산성 분획에 대부분 포함되어 있으며, 갈락투론산(32.2%)을 단위체로 하는 갈락투로난 구조이며 글루코스(24.0 %), 갈락토스(24.4 %), 아라비노스(18.1 %)로 구성된 펙틴류의 일종임을 확인하였다. 인삼의 산성 다당체는 다수가 이온화된 형태로 존재하며, 사과 또는 감귤류에서 유래한 펙틴과 차이를 나타내었다.

쌀(*Oryza sativa*)의 japonica 품종과 indica 품종에서 다당체를 추출하여 총 탄수화물과 유론산의 함량을 정량적으로 분석한 결과 japonica 품종에서 유론산 함량의 평균값은 7.1 mg/g 이었다. indica 품종에서 5.3 mg 이었으며, p-value는 0.04로서 두 그룹 간 유의한 차이가 있다고 판단되었다.

이 연구를 통하여, 식물 유래 산성 다당체의 분석 기법을 확립하였다. 인삼의 경우 그 이화학적 특성을 규명하였으며 본 연구에서 확립된 분석법을 기반으로 추가적인 연구를 통해 산성 다당체의 약리학적 효과에 대한 작용 메커니즘을 규명할 수 있을 것이다. 다당체에 관한 연구가 부족한 쌀의 다당체 또한 효과적으로 정량할 수 있음을 확인하였다. 이를 토대로 다양한 식물 유래 다당체를 정성 · 정량하는 방법이 확립되면 천연물 또는 식품 · 건강기능식품의 선진적인 품질관리에 이용될 수 있을 것이다.

V. 참고 문헌

1. Ochoa-Villarreal, M., et al., *Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives.* 2012.

2. Wang, K., et al., *Acidic Polysaccharide from Angelica sinensis Reverses Anemia of Chronic Disease Involving the Suppression of Inflammatory Hepcidin and NF-κB Activation.* Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017. **2017**: p. 13.

3. Tomoda, M., et al., *An Acidic Polysaccharide with Immunological Activities from the Root of Paeonia lactiflora.* Biological and Pharmaceutical Bulletin, 1994. **17**(9): p. 1161-1164.

4. Ohtani, K., et al., *Characterization of an acidic polysaccharide isolated from the leaves of Corchorus olitorius (Moroheiya).* Biosci Biotechnol Biochem, 1995. **59**(3): p. 378-81.

5. Shin, J.-Y., et al., *IMMUNOSTIMULATING EFFECTS OF ACIDIC POLYSACCHARIDES EXTRACT OF PANAX GINSENG ON MACROPHAGE FUNCTION.* Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2002. **24**(3): p. 469-482.

6. Kim, K.-H., et al., *Acidic Polysaccharide from Panax ginseng, Ginsan, Induces Th1 Cell and Macrophage Cytokines and Generates LAK Cells in Synergy with rIL-2.* Planta Med, 1998. **64**(02): p. 110-115.

7. Kim, Y.S., K.S. Kang, and S.I. Kim, *Study on antitumor and immunomodulating activities of polysaccharide fractions fromPanax ginseng: Comparison of effects of neutral and acidic polysaccharide fraction.* Archives of Pharmacal Research, 1990. **13**(4): p. 330-337.

8. Du, X.F., et al., *Synergistic immunostimulating activity of pidotimod and red ginseng acidic polysaccharide against cyclophosphamide-induced immunosuppression.* Archives of Pharmacal Research, 2008. **31**(9): p. 1153-1159.

9. Lee, J.-H., et al., *Pectin-like acidic polysaccharide from Panax ginseng with selective antiadhesive activity against pathogenic bacteria.* Carbohydrate Research, 2006. **341**(9): p. 1154-1163.

10. Wang, J., et al., *Anti-fatigue activity of the water-soluble polysaccharides isolated from Panax ginseng C. A. Meyer.* Journal of Ethnopharmacology, 2010. **130**(2): p. 421-423.

11. Kwak, Y.-S., et al., *Anti-hyperlipidemic Effects of Red Ginseng Acidic Polysaccharide from Korean Red Ginseng.* Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2010. **33**(3): p. 468-472.

12. Mohnen, D., *Pectin structure and biosynthesis*. Vol. 11. 2008. 266-77.

13. Ridley, B.L., M.A. O'Neill, and D. Mohnen, *Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling.* Phytochemistry, 2001. **57**(6): p. 929-967.

14. Caffall, K.H. and D. Mohnen, *The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides.* Carbohydrate Research, 2009. **344**(14): p. 1879-1900.

15. *대한민국약전 제 11개정.*. 식품의약품안전처.

16. Zhang, X., et al., *Total fractionation and characterization of the water-soluble polysaccharides isolated from Panax ginseng C. A. Meyer.* Carbohydrate Polymers, 2009. **77**(3): p. 544-552.

17. Masuko, T., et al., *Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format.* Analytical Biochemistry, 2005. **339**(1): p. 69-72.

18. Shibuya, N. and T. Iwasaki, *Polysaccharides and Glycoproteins in the Rice Endosperm Cell Wall.* Agricultural and Biological Chemistry, 2014. **42**(12): p. 2259-2266.

19. Taylor, K.A.C.C., *A colorimetric method for the quantitation of galacturonic acid.* Applied Biochemistry and Biotechnology, 1993. **43**(1): p. 51-54.

20. Baek, S.H., et al., *Pectic polysaccharides from Panax ginseng as the antirotavirus principals in ginseng.* Biomacromolecules, 2010. **11**(8): p. 2044-52.

21. Gao, Q.-P., et al., *Characterisation of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of Panax ginseng C.A. Meyer.* Carbohydrate Research, 1988. **181**(Supplement C): p. 175-187.

22. Zheng, Y., et al., *Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution.* RSC Adv., 2016. **6**(4): p. 2724-2730.

23. Muthayya, S., et al., *An overview of global rice production, supply, trade, and consumption.* Ann N Y Acad Sci, 2014. **1324**: p. 7-14.

Abstract

Acidic polysaccharide can be extracted from cell walls of leaves, seeds, and fruits of plants. Including immune-stimulating activity, anti-fatigue activity, and anti-hyperlipidemic activity, pharmacological effects of the acidic polysaccharide have been studied independently in many different plants. We analyzed physicochemical properties of ginseng acidic polysaccharide, which is representative of natural acidic polysaccharide. Additionally, rice polysaccharides were extracted from two major varieties of rice and compared among cultivars.

Properties of ginseng polysaccharide were characterized from five analytical perspectives, including ion chromatographic fractionation, colorimetric quantification, monosaccharide composition analysis, Fourier-transform infrared spectroscopy, and molecular mass distribution analysis by gel permeation chromatography. Ginseng polysaccharide was separated into two groups, neutral and acidic fraction, which are composed of galacturonic acid, and glucose, galactose and arabinose as major monosaccharide constituents. It is analogous to pectin-like polymer represented by archetypal homogalacturonan structure. Based on FT-IR spectrum, carboxyl groups of the ginseng polysaccharide were identified, which showed a large absorber band at about 1200 - 1800 wavenumbers. Analysis of molecular weight distribution revealed that acidic fraction contains polysaccharide molecules of different sizes, one of which can be pharmacologically active.

Two major varieties of rice, *japonica* and *indica* rice samples were collected from 39 different regions in Korea, China, Thailand and Vietnam. The total amount of carbohydrate and uronic acid in rice polysaccharide were measured by colorimetric methods. The total polysaccharide content differences in the acidic polysaccharide fraction were not statistically significant as p-value of 0.07, but the uronic acid content showed significant differences between the two groups as the p-value of 0.04.

In this study, we constructed methods to characterize and quantify polysaccharides derived from plants. Based on the analytical methods developed in this study, additional studies will establish methods to qualify and quantify the overall polysaccharide of plants.

We hope our research will help in the field of product quality assessment.

Keywords: Polysaccharide, Ginseng, Rice, Composition analysis

Student ID: 2016-21842