

ARTICLE

박층크로마토그래피(Thin Layer Chromatography)를 이용한 Saw Palmetto 열매 추출물의 Triglyceride 및 Ethyl Ester 정성분석

이영상¹ · 유두나² · 이정은³ · 한가희⁴ · 국무창^{4*}

¹관세청 중앙관세분석소, ²경희대학교 생명공학원, ³배화여자대학교 산학협력단, ⁴배화여자대학교 식품영양학과

Qualitative Analysis of Triglyceride and Ethyl Ester in Saw Palmetto Extract Using Thin Layer Chromatography

Young-Sang Lee¹, Du-Na Yu², Jeong-Eun Lee³, Ga-Hee Han⁴,
Moochang Kook^{4*}

¹Head of Team, Central Customs Laboratory & Scientific Service, Korea Customs Service, Jinju 52851, Korea

²Department of Medical Biotechnology, Kyunghee University, Gyeonggi 17104, Korea

³Industry Academic Cooperation Foundation, Baewha Women's University, Seoul 03039, Korea

⁴Department of Food & Nutrition, Baewha Women's University, Seoul 03039, Korea

Received: November 02 2023
Revised: December 08, 2023
Accepted: December 12, 2023

*Corresponding author :
Moochang Kook
Department of Food & Nutrition,
Baewha Women's University,
Seoul 03039, Korea
Tel : +82-2-399-0765
E-mail : bmse153@gmail.com

Copyright © 2023 Resources Science Research Institute, Kongju National University. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Young-Sang Lee
<https://orcid.org/0009-0000-9831-286X>
Du-Na Yu
<https://orcid.org/0000-0001-9107-9137>
Jeong-Eun Lee
<https://orcid.org/0000-0002-7442-7045>
Ga-Hee Han
<https://orcid.org/0009-0002-3464-4499>
Moochang Kook
<https://orcid.org/0000-0003-4098-8298>

Abstract

Qualitative analysis was conducted using thin layer chromatography (TLC) to determine the presence of other oils containing triglyceride structures that were mixed in four imported saw palmetto extracts. Two different eluting solvents were used to distinguish between ethyl ester and triglyceride components and to identify triglyceride spots. Solvent A was made by mixing [hexane: ethyl ether: acetic acid = 90: 10: 1] and [hexane: ethyl ether: methanol: acetic acid = 85: 15: 3: 2] in a ratio of 1:1. Solvent B was made with toluene: ethyl ether: acetic acid = 70: 30: 1. In solvent A, both triglyceride and ethyl ester were detected in the standard saw palmetto extract, but weak spots were detected. In contrast, strong triglyceride spots were observed in the four imported extracts. In solvent B, similarly to solvent A, weak spots were confirmed in the standard saw palmetto extract and strong triglyceride spots were confirmed in four imported extracts. These results suggest the possibility of these four imported extracts being mixed with other oils and fats containing triglyceride structures. This data is valuable for verifying the accuracy of import declarations involving saw palmetto extract and assessing the potential adulteration with other oils and fats. It serves as a foundational dataset for further analysis.

Keywords

Saw palmetto extract, Thin layer chromatography, Triglyceride, Ethyl ester

1. 서론

Saw palmetto(*Serenoa repens*)는 북아메리카가 원산지인 야자나무의 일종으로 Saw palmetto 열매 추출물은 생약제제로서 다양한 fatty acid와 phytosterol을 함유하고 있으며(Schantz *et al.*, 2008; Gerber and Fitzpatrick, 2004), caprylic acid, capric acid, lauric acid, myristic acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid를 포함한 유리 지방산이 약 70-95% 함유되어 있다(Booker *et al.*, 2014; Penugonda and Lindshield, 2013).

Saw palmetto 열매 추출물은 유럽과 미국 등의 국가에서 수십 년의 역사를 지닌 약초 치료제로 사용되어 왔으며(Wilt *et al.*, 2022), 5- α -reductase를 억제하여 androgen 활성을 감소시키는 작용(Boudon *et al.*, 1995)으로 인해 정상적인 전립선 기능을 유지하고, 중장년층 남성의 양성 전립선 비대증과 이와 관련된 일부 하부 요로 문제를 완화하는 데 사용되어 왔다(Ooi and Pak, 2017; Gerber, 2000). 현재 Saw palmetto 열매 추출물은 건강기능식품 공전에 전립선 건강에 도움을 주는 기능성 원료(고시형)로 등재되어 있어 그 수요가 증가되고 있다. 그러나, 재배지역이 제한되어 있어 가격이 비싸기 때문에, 저렴한 팜유, 코코넛 오일 등 다른 유지류를 첨가 및 판매하는 문제가 야기되고 있다(Perini *et al.*, 2018).

이처럼 Saw palmetto 열매 추출물에 저렴한 다른 유지를 혼합하는 것을 방지하고, 이를 확인하기 위해 미국 약전(United States Pharmacopeia)에서는 지방산 프로필과 장쇄 알코올 및 phytosterol의 함량을 기반으로 한 확인시험 및 제한사항을 제시하고 있다(Costello *et al.*, 2009). 또한 Gafner(2019)는 Saw palmetto 열매 추출물의 불순물을 검출하기 위해 발표된 34가지의 분석 방법의 유용성을 평가하고, 기존의 알려진 불순물의 화학적 조성이 설명되어 있는 실험실 지침 문서를 출판한 바 있으나, 국내에서는 Saw palmetto 열매 추출물의 불순물 첨가 여부에 관한 연구가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 Saw palmetto 열매 추출물 표준품과 Saw palmetto 열매 추출물 수입품 4종을 대상으로 박층크로마토그래피(Thin layer chromatography, TLC)를 이용한 triglyceride 및 ethyl ester의 정성 분석을 통해, 추출물 내 다른 유지의 혼합 등과 같은 불순물 첨가 여부를 확인하기 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

실험 재료

연구에 사용된 Saw palmetto 열매 추출물 표준품은 Sigma Aldrich(Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였으며, Saw palmetto 열매 추출물 100%로 수입 신고된 서로 다른 4종(A, B, C, D)을 분석 시료로 사용하였다.

박층크로마토그래피(Thin layer chromatography)를 이용한 정성 분석

Saw palmetto 열매 추출물 표준품과 수입품 4종이 triglyceride(TG) 구조 형태를 포함하는지를 확인하기 위해 전개용매의 극성에 따른 용해도의 차이를 이용한 박층크로마토그래피를 통해 확인하였다(Cho *et al.*, 2012). 시료를 각각 hexane에 10배 희석하여 silica gel TLC plate(Silicagel 60F 254, Merck, Darmstadt, Germany)에 1 μ L씩 점적한 후, 전개용매 A [hexane: ethyl ether: acetic acid = 90: 10: 1 과 hexane: ethyl ether: methanol: acetic acid = 85: 15: 3: 2를 1:1로 혼합]와 전개용매 B(toluene: ethyl ether: acetic acid = 70: 30: 1)에서 약 7cm 전개하였다(Table 1). 이후 10% 황산을 분무하여 105 $^{\circ}$ C로 가열하였다. 가열 후 나타난 갈색 또는 흑색의 spot으로 Saw palmetto 열매 추출물 표준품과 수입품 시료 4종의 지방성 물질의 구조 유형을 정성 분석하였다.

Table 1. Detective conditions of thin layer chromatography

Solvents	Mobile phase	Detection
A	Hexane : ethyl ether : acetic acid (90 : 10 : 1): Hexane : ethyl ether : methanol : acetic acid (85 : 15 : 3 : 2) (1:1)	Triglyceride, ethyl ester
B	Toluene : ethyl ether : acetic acid (70 : 30 : 1)	Triglyceride

III. 결과 및 고찰

Saw palmetto 열매 추출물의 triglyceride 및 ethyl ester의 정성 분석결과

수입품 시료 4종의 지방성 물질의 구조 유형을 확인하기 위하여 TLC를 이용하여 정성 분석을 실시하였다. Ethyl ester와 triglyceride 부분의 구분과 triglyceride의 spot을 확인하기 위해 두 가지 전개 용매를 사용하였다. 전개용매 A에서 Saw palmetto 열매 추출물 표준품은 triglyceride와 ethyl ester를 나타내는 약한 spot이 확인되었으며, 이러한 결과는 Saw palmetto 열매 추출물에 glyceride와 ester류가 소량 함유되어 있다고 보고된 결과와 유사하였다(Gafner, 2019). 반면, 수입품 4종은 본 연구자가 선행연구한 결과(Cho *et al.*, 2012)를 바탕으로 확인하였을 때 전개용매 A에서 강한 triglyceride의 spot을 보이는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

전개용매 B에서 또한 전개용매 A와 유사하게 Saw palmetto 열매 추출물 표준품은 약한 triglyceride의 spot이 확인되었으며, 수입품 4종은 강한 triglyceride의 spot이 확인되었다(Fig. 2). 이러한 결과는 Saw palmetto 열매 추출물이 대부분 유리 지방산의 형태이며, 적은 양의 glyceride 결합을 가진 구조가 존재하므로 triglyceride 결합의 spot이 약하게 나타난 것으로 판단된다.

IV. 요약

본 연구는 100% Saw palmetto 열매 추출물로 신고된 수입품 4종을 Saw palmetto 열매 추출물 표준품과 비교하여, 다른 유지류의 혼합 여부를 확인하고자 하였다. TLC를 이용한 정성분석 결과, Saw palmetto 추출물 표준품은 triglyceride와 ethyl ester의 약한 spot이 확인된 반면, 수입품 4종은 모두 강한 triglyceride의 spot이 확인되었다. 이러한 결과는 수입품 4종에 triglyceride 구조를 포함하는 다른 유지가 혼합되어 있을 가능성을 의미하며, Saw palmetto 열매 추출물 100%로 수입 신고하는

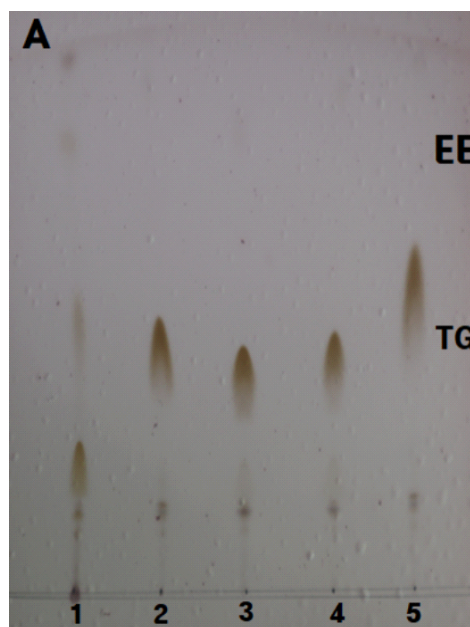


Fig. 1. Thin layer chromatography of saw palmetto extract standard and imported samples A, B, C, and D in solvent A. 1; saw palmetto extract standard, 2; imported sample-A, 3; imported sample-B, 4; imported sample-C, 5; imported sample-D.

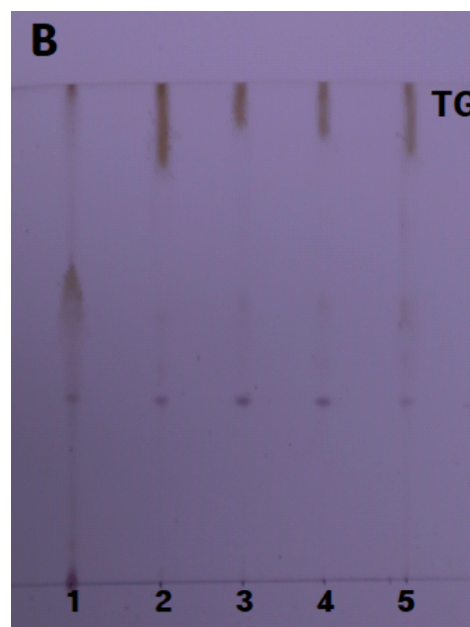


Fig. 2. Thin layer chromatography of saw palmetto extract standard and imported samples A, B, C, and D in solvent B. 1; saw palmetto extract standard, 2; imported sample-A, 3; imported sample-B, 4; imported sample-C, 5; imported sample-D.

물품에 대한 진위 여부 구별과 다른 유지류의 혼합 여부에 대한 분석에 유용한 기초자료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

V. 참고문헌

1. Booker A, Suter A, Krnjic A, Strassel B, Zloh M, Said M, Heinrich M. 2014. A phytochemical comparison of saw palmetto products using gas chromatography and H nuclear magnetic resonance spectroscopy metabolomic profiling. *J Pharm Pharmacol* 66:811-822.
2. Boudon C, Lobaccaro JM, Lumbroso S, Lechevallier E, Mottet N, Gibelin B, Sultan C. 1995. 5 Alpha-reductase activity in cultured epithelial and stromal cells from normal and hyperplastic human prostates--effect of finasteride (Proscar), a 5 alpha-reductase inhibitor. *Cell Mol Biol* 41:1007-15.
3. Cho EA, Cha YH, Lee YS. 2012. A study of salmon oil type analysis by FT-IR and carbon isotopes ratio. *Korean J Food Nutr* 25:968-973.
4. Costello RB, Leser M, Coates PM. 2009. Dietary supplements: current knowledge and future frontiers. In: Bales CW, Ritchie CS, editors. *Handbook of clinical nutrition and aging*. Totowa, NJ: Humana Press: 553-633.
5. Gerber GS. 2000. Saw palmetto for the treatment of men with lower urinary tract symptoms. *J Urol* 163:1408-1412.
6. Gerber GS, Fitzpatrick JM. 2004. The role of a lipido-sterolic extract of *Serenoa repens* in the management of lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia. *BJU Int* 94:338-344.
7. Gafner S. Saw palmetto extract laboratory guidance document. Austin, TX: ABC-AHP-NCNPR Botanical Adulterants Prevention Program. 2019.
8. Ooi SL, Pak SC. 2017. *Serenoa repens* for lower urinary tract symptoms/ benign prostatic hyperplasia: current evidence and its clinical implications in naturopathic medicine. *J Altern Complement Med* 23:599-606.
9. Penugonda K, Lindshield BL. 2013. Fatty acid and phytosterol content of commercial saw palmetto supplements. *Nutrients* 5:3617-3633.
10. Perini M, Paolini M, Camin F, Appendino G, Vitulo F, De Combarieu E, Sardone N, Marco Martinelli E, Pace R. 2018. Combined use of isotopic fingerprint and metabolomics analysis for the authentication of saw palmetto (*Serenoa repens*) extracts. *Fitoterapia* 127:15-9.
11. Schantz MM, Bedner M, Long SE, Molloy JL, Murphy KE, Porter BJ, Putzbach K, Rimmer CA, Sander LC, Sharpless KE, Thomas JB, Wise SA, Wood LJ, Yen JH, Yarita T, NguyenPho A, Sorenson WR, Betz JM. 2008. Development of saw palmetto (*Serenoa repens*) fruit and extract standard reference materials. *Anal Bioanal Chem* 392:427-438.
12. Wilt T, Ishani A, Mac Donald R. 2022. *Serenoa repens* for benign prostatic hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev* (3): Cd001423.
13. Ministry of Food and Drug Safety. Food Code. Guide to Saw Palmetto Fruit Extract. Available from: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FF?searchNm=%EC%A0%84%EB%A6%BD%EC%84%A0&itemCode=FF0A044002003A100>. Accessed at July 24. 2023.