

Capillary-GC(FID)에 의한 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 의 정량

노길봉 · 손현주
한국인삼연초연구소
(1989년 9월 8일 접수)

Determination of the Concentration of Panaxynol, Panaxydol and Panaxytriol by Capillary-GC(FID)

Kil Bong Nho and Hyun Joo Sohn
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 302-345, Korea
(Received September 8, 1989)

Abstract □ A gas chromatographic method was developed for determination of the concentration of three major polyacetylene compounds in ginseng roots---panaxynol, panaxydol and panaxytriol. The column and the detector used were an SPB-1 fused silica capillary (0.2mm i.d. × 30m, Supelco) and a flame ionization detector (FID). The column oven temperature was kept at 250 °C isothermally. The retention times of panaxynol, panaxydol and panaxytriol peaks were 4.2, 5.1 and 6.9 min before TMS-derivatization and 4.5, 5.4 and 7.4 min after TMS-derivatization, respectively. The minimum determinable concentrations of panaxynol, panaxydol and panaxytriol before TMS-derivatization were at the 20, 50 and 100 ppm levels, while the concentrations of panaxydol and panaxytriol as well as panaxynol after TMS-derivatization could be lowered to the 5 ppm level. The panaxynol, panaxydol and panaxytriol contents in red ginseng were determined by use of this method after TMS-derivatization; the amounts obtained were 724, 721 and 71 µg/g, respectively.

Keywords □ *Panax ginseng*, polyacetylenes, GC-determination, TMS-derivatization.

서 론

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 polyacetylene 성분은 두 개의 acetylene 기를 가지고 있는 C₁₇의 화합물로서 현재까지 뿌리로부터 9종이 분리, 동정되었는데, 이 중에서 panaxynol (heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3-ol; falcarinol 이라고도 함)과 panaxydol (heptadeca-1-en-4,6-diyn-9,10-epoxy-3-ol)의 함량이 polyacetylene 성분총량의 90% 이상을 차지하며 panaxytriol (heptadeca-1-en-4,6-diyn-3,9,10-triol)은 거의 홍삼에만 미량 존재하는 것으로 보고되어 있다.¹⁾

인삼의 polyacetylene 성분에 관한 연구는 1964

년 일본의 Takahashi 등²⁾이 백삼의 ethanol 추출물로부터 panaxynol 을 최초로 분리, 동정한 이래 주로 새로운 panaxynol 유도체의 구조확인³⁻⁷⁾에 치중되어 왔으나 최근에는 이들 화합물의 세포독성, 암세포 증식억제효과 등과 같은 약리효능연구^{1,8,9)}도 진행되고 있다. 이에 비하여 인삼 polyacetylene 성분의 정량법 연구는 매우 드문 실정으로 김¹⁰⁾이 HPLC 를 이용하여 panaxynol, panaxydol, panaxytriol 및 heptadeca-1,8-dien-4,6-diyn-3,10-diol 의 함량을 분석하였고 Hisashi 등¹⁰⁾이 OV-1701 fused silica capillary column 이 부착된 GC (FID)를 이용하여 panaxytriol 을 정량하였을 뿐이다. 그러나, 김의 HPLC 방법은 시료를 20g 이나

사용하고 복잡한 분획과정을 거쳐야 하므로 시료량이 적거나 다량의 시료를 신속하게 분석하기에는 부적합할 것으로 사료되며, Hisashi 등의 보고에는 인삼 ethyl acetate 추출물의 GC profile과 panaxytriol의 정량 가능 최소농도가 제시되어 있지 않으므로 이 방법을 panaxytriol 이외의 polyacethylene 성분 정량에 적용할 수 있을지는 미지수이다. 한편, Yates 등¹¹⁾은 panaxynol과 동일한 구조의 화합물인 당근의 falcarinol을 3% OV-17 및 3% SE-30 packed column이 부착된 GC(FID)를 이용하여 분석한 결과 이 화합물의 정량 가능 최소량은 10 µg이며 10 µg 미만에서는 정량성을 나타내지 않았다고 보고함으로써 GC에 의한 polyacethylene 성분 정량의 문제점을 제기한 바 있다.

본 연구에서는 SPB-1 fused silica capillary column이 부착된 GC(FID)를 이용하여 인삼의 주요 polyacethylene 성분인 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol의 정량성을 검토하였는데 그 결과 100 ppm 미만의 낮은 농도수준에서도 양호한 정량성을 나타내는 분석조건을 확립하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

인삼시료는 세미로 제조된 홍삼을 사용하였고 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 표준품은 김¹²⁾의 방법에 준하여 홍삼으로부터 순수분리한 것을 사용하였다. Polyacethylene 성분의 추출 및 분리용 시약은 특급 또는 HPLC용을 사용하였으며, TMS 유도체 조제용 시약은 BSA(N,O-Bis-trimethylsilylacetamide, Pierce Co.)를 사용하였다.

2. 실험방법

홍삼 ether 추출물의 GC pattern 조사: 냉동건조한 홍삼 시료분말 5g을 김¹²⁾의 방법에 준하여 ether 추출물을 조제하여 Table 1의 GC 조건으로 분석하고, 이 때 얻어지는 chromatogram(Fig.1-c 참조)상의 panaxynol 및 panaxydol peak를 Table 2의 GC/MS 조건으로 분석하였다. 한편, 위에서 조제한 ether 추출물을 BSA로 silylation

Table 1. GC conditions for the analysis of panaxynol, panaxydol and panaxytriol

| | Description |
|-------------|--|
| Column | SPB-1 fused silica capillary, 0.25 mm × 30 m |
| Temperature | 250°C, isothermal |
| Carrier gas | N ₂ 1.0 ml/min (Split ratio = 25:1) |
| Detector | FID |
| Inj. volume | 5.0 µl |
| GC model | Hewlett-Packard 5890A |

Table 2. GC/MS conditions for the identification of panaxynol and panaxydol

| | Description |
|--------------------|--|
| GC column | SPB-1 fused silica capillary, 0.25 mm × 30 m |
| Temperature | 250°C, isothermal |
| Carrier gas | He 1.0 ml/min |
| Ion pressure | 1.8 × 10 ⁻⁵ torr |
| Ionization voltage | 70 eV, EI |
| GC/MS model | Finigan MAT 212 |

시켜 TMS 유도체를 조제하여 GC로 분석하고 TMS 유도체화 전, 후의 GC profile을 비교하였다. 이 때 TMS 유도체는 질소기류하에서 농축건조한 ether 추출물에 BSA 100 µl을 가하고 70°C에서 15분간 반응시켜 조제하였다.

Panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol의 정량성 조사: Panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 표준품을 혼합하여 각각의 농도가 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 또는 1000 ppm이 되게 ether 용액을 조제하고 Table 1의 GC 조건으로 분석한 후, 각 화합물의 농도와 FID response와의 관계를 log-log scale로 plotting하여 직선관계가 유지되는 농도범위를 조사하고 정량가능 최소농도를 구하였다. 또, 위에서 조제한 2-1000 ppm 농도수준의 polyacethylene 화합물을 BSA로 TMS 유도체화한 후 GC로 분석하여 유도체화 전, 후의 정량성을 비교하였다.

홍삼 중의 panaxynol, panaxydol 및 panaxy-

triol의 함량분석: 냉동건조한 홍삼 시료분말 5g을 김¹⁾의 방법에 준하여 ether 추출하고 추출액의 전량을 10ml로 정용한 후 이 액 1.0ml를 질소기류하에서 농축건고하고 BSA를 가하여 TMS 유도체를 조제하였다. TMS 유도체 용액에 ether를 가하여 전량이 1.0ml가 되게 정용하고 이 액 5.0 μ l를 GC로 분석하였다. 이 때, panaxynol과 panaxydol의 검량선은 100-500 ppm의 농도범위로 작성하였고, panaxytriol의 검량선은 10-50 ppm의 농도범위로 작성하였다.

결과 및 고찰

1. 홍삼 ether 추출물의 GC pattern

Fig.1은 TMS 유도체화전, 후의 polyacetylene 표준 혼합용액과 홍삼 ether 추출물의 GC profile을 나타낸 것이다. SPB-1 fused silica capillary column 상에서 각 polyacetylene 화합물은 panaxynol, panaxydol, panaxytriol의 순으로 매우 양호하게 분리되었다. 이 때, panaxynol, panaxydol, panaxytriol의 retention time은 각각 4.2, 5.1, 6.9분이었으며, TMS 유도체 조제 후에는 새 화합물 모두 retention time이 1.07배 가량 증가하였다. 홍삼 ether 추출물의 GC profile은 비교적 단순한 pattern을 보여주었는데, TMS 유도체화 전의 시료에서는 panaxytriol의 peak가 확인되지 않았으나 유도체화 후에는 미량 검출되었다.

한편 Fig.1-c의 panaxynol과 panaxydol의 peak를 GC/MS로 분석한 결과 Fig.2와 같은 mass spectrum을 얻었다. 이 결과는 김¹⁾이 보고한 panaxynol 및 panaxydol의 mass spectrum과 잘 일치하였는데, mass fragment pattern 상에서 panaxynol peak는 159($M^+ + C_6H_{13}$)의 m/e를 나타내고 있으며 panaxydol peak는 175($M^+ + C_6H_{13}$)의 m/e를 나타내고 있는 점으로 미루어 보아 이들 polyacetylene 화합물은 250°C의 column oven 온도에서 분해되지 않고 그대로 분리되었음을 알 수 있었다.

2. Panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol의 정량성

2-1000 ppm 농도수준의 panaxynol, panaxydol

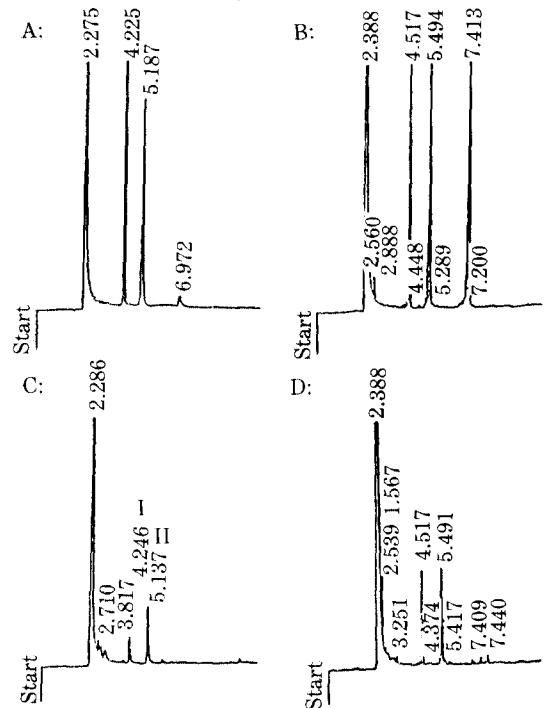


Fig. 1. GC profiles of polyacetylene standard mixture and ether extract of red ginseng sample
 A: Standard mixture before TMS-derivatization, B: Standard mixture after TMS-derivatization, C: Sample before TMS-derivatization, D: Sample after TMS-derivatization

및 panaxytriol 표준 혼합용액과 이들 화합물의 TMS 유도체 표준 혼합용액을 GC로 분석한 후 각 화합물의 농도와 FID response와의 관계를 log-log scale로 나타내면 Fig.3 및 4와 같다. TMS 유도체화 전의 경우 panaxynol은 20-1000 ppm, panaxydol은 50-1000 ppm, panaxytriol은 100-1000 ppm의 농도범위에서만 농도와 FID response 간에 직선관계를 유지하였고 그 미만의 농도 범위에서는 직선성을 나타내지 않은 반면에 이들 화합물의 TMS 유도체는 모두 5-1000 ppm의 농도범위에서 직선관계를 유지하였다.

Table 3은 직선성이 유지되는 농도범위 내에서의 각 polyacetylene 화합물의 농도와 FID response와의 상관관계수(r) 및 정량가능 최소농도를 나타낸 것이다. 각 polyacetylene 화합물의 상관관계수는 TMS 유도체화 전, 후 모두 1% 수준에서 고도의 유의성을 나타내었으나, 정량가능 최소농도는

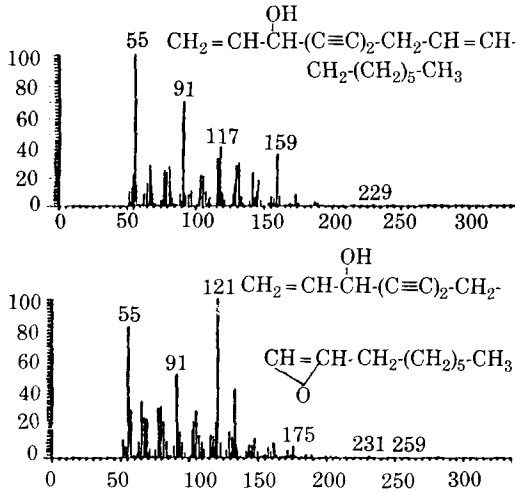


Fig. 2. Mass spectra of peak I and peak II on the GC chromatogram in Fig. 1-C
Up: Peak I, Down: Peak II

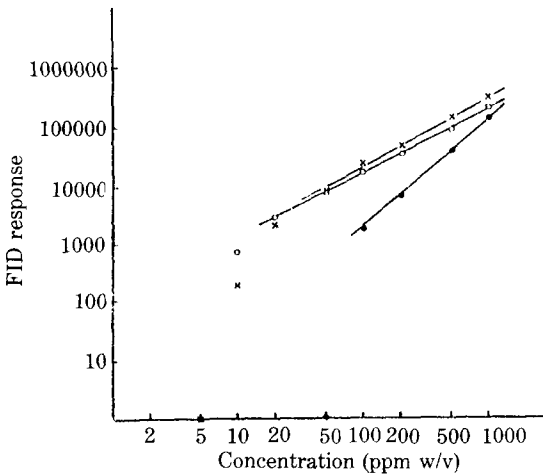


Fig. 3. Relationships between concentration and FID response of panaxynol, panaxydol and panaxytriol before TMS-derivatization
○ - ○ Panaxynol, x - x Panaxydol ● - ● Panaxytriol

TMS 유도체화 후가 유도체화 전에 비하여 panaxynol은 4배, panaxydol은 10배, panaxytriol은 20배 낮은 수준이었다. 따라서 인삼시료 중 미량의 polyacetylene 화합물을 정량하고자 하는 경우에는 TMS 유도체화가 바람직하며, 특히 panaxytriol의 정량에는 TMS 유도체화가 필수적이라고 사료되었다.

TMS 유도체화 전의 panaxynol의 정량가능 최

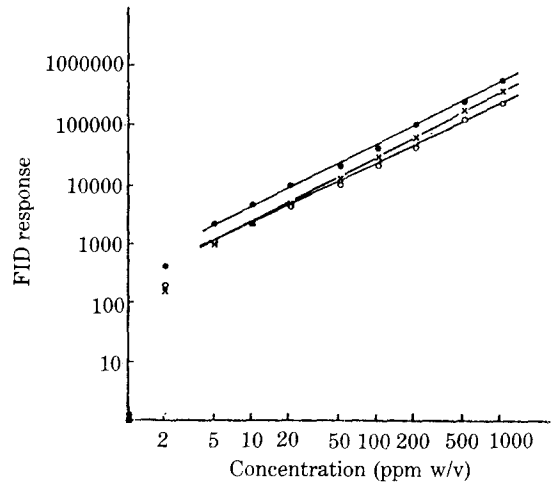


Fig. 4. Relationships between concentration and FID response of panaxynol, panaxydol and panaxytriol after TMS-derivatization
○ - ○ Panaxynol x - x Panaxydol ● - ● Panaxytriol

Table 3. Relationships between concentration and FID response

| | log Y = a log X + b | r | MDCL |
|--------|-----------------------------|----------|--------|
| PN | log Y = 1.085 log X + 2.025 | 0.9992** | 20 ppm |
| PD | log Y = 1.087 log X + 2.130 | 0.9997** | 50 |
| PT | log Y = 1.828 log X - 0.364 | 0.9992** | 100 |
| PN-TMS | log Y = 1.001 log X + 2.325 | 0.9998** | 5 |
| PD-TMS | log Y = 1.076 log X + 2.272 | 0.9998** | 5 |
| PT-TMS | log Y = 1.012 log X + 2.617 | 0.9999** | 5 |

MDCL: Minimum determinable concentration level

** : p < 0.01

소농도를 GC에 주입된 양으로 환산하면 100 ng인데, 이 값은 Yates 등¹¹⁾이 보고한 falcariol의 정량가능 최소량인 10 μg보다 100배나 낮은 수준이다. 이러한 결과는 본 연구에서는 packed column 대신에 capillary column을 사용함으로써 solid support에 의한 흡착가능성을 배제하였기 때문으로 사료된다. 그러나, 20 ppm 미만의 농도수준에서는 panaxynol이 정량성을 나타내지 않으며 5 ppm의 농도수준에서는 거의 검출조차 되지 않는 점으로 미루어 볼 때, capillary column 내에서도 이 화합물의 흡착이 일어나며 이는 panaxynol의 분자 내에 존재하는 hydroxyl기가 capillary column 내의

Table 4. Relationships between concentration and response factor

| | $\log Y = a \log X + b$ | r |
|--------|---------------------------------|----------|
| PN | $\log Y = 0.084 \log X + 2.027$ | 0.8858* |
| PD | $\log Y = 0.088 \log X + 2.129$ | 0.9554* |
| PT | $\log Y = 0.832 \log X - 0.377$ | 0.9959** |
| PN-TMS | $\log Y = 0.001 \log X + 2.325$ | 0.0686 |
| PD-TMS | $\log Y = 0.076 \log X + 2.272$ | 0.9729** |
| PT-TMS | $\log Y = 0.012 \log X + 2.617$ | 0.6520 |

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Response factor = (FID response)/(Concentration, ppm)

Table 5. Coefficient of variance (CV) of response factors of panaxynol and panaxytriol in 5-1000 ppm concentration levels after TMS-derivatization

| | \bar{X} | $S_{\bar{X}}$ | CV (%)* |
|-------------|-----------|---------------|---------|
| Panaxynol | 212.8 | 7.55 | 3.55 |
| Panaxytriol | 435.9 | 14.71 | 3.37 |

* $CV(\%) = \frac{S_{\bar{X}}}{\bar{X}} \times 100 (\%)$

liquid phase 와 반응하는데에 기인하는 것으로 추측되었다. 따라서, panaxynol 의 hydroxyl 기를 불활성화하면 liquid phase 에 의한 흡착이 감소되리라 기대되었는데, 이 화합물은 BSA 로 TMS 유도체화한 결과 정량가능 최소농도를 5 ppm 의 농도수준으로 낮출 수 있었다.

Table 4 는 TMS 유도체화 전, 후의 각 polyacetylene 화합물의 농도와 response factor 와의 상관계수를 나타낸 것이다. TMS 유도체화 전의 경우 panaxynol 과 panaxydol 의 상관계수는 5% 수준에서 유의성을 나타내었으며 panaxytriol 은 1% 수준에서 고도의 유의성을 나타내었다. 이는 이들 화합물을 정량하고자 할 때에는 가급적 좁은 농도범위에서 검량선을 작성하는 것이 바람직하다고 사료된다. 한편, TMS 유도체화 후의 경우에는 panaxydol 만이 1% 수준에서 고도의 유의성을 나타내었을 뿐 panaxynol 과 panaxytriol 의 상관계수는 유의성을 나타내지 않았고 Table 5 에서 보는 바와 같이 5-1000 ppm 농도범위에서 response factor 의 변이율(CV)도 5% 미만의 낮은 수준이었

Table 6. Panaxynol, panaxydol and panaxytriol contents in red ginseng

| | (unit: $\mu\text{g/g}$) | | |
|----------------|--------------------------|-------------|-------------|
| | Panaxynol | Panaxydol | Panaxytriol |
| Contents (n=3) | 724 ± 14 | 721 ± 8 | 71 ± 3 |

으므로, TMS 유도체화는 panaxynol 과 panaxytriol 의 함량 차이가 큰 여러 종류의 인삼시료를 분석하고자 하는 경우에 특히 필요하다고 사료된다.

3. 홍삼 중 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 의 함량

홍삼의 ether 추출물을 TMS 유도체화한 후 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 의 함량을 GC 로 분석한 결과는 Table 6 과 같다. 홍삼 중의 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 함량 분석값은 각각 724, 721 및 $71 \mu\text{g/g}$ 이었는데, 이 값은 김¹⁾의 보고와는 다소 차이가 있었다.

요 약

인삼의 주요 polyacetylene 화합물인 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 의 정량을 위한 GC 분석조건을 확립하였다. 이 때, GC column 과 검출기는 SPB-1 fused silica capillary (0.25 mm i. d. \times 30 m, Supelco)와 불꽃이온화검출기(FID)를 사용하였으며 column oven 의 온도는 250°C 등온이었다. Panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol peaks 의 retention time 은 TMS 유도체화 전의 경우에는 각각 4.2, 5.1 및 6.9 분이었으며 TMS 유도체화 후에는 각각 4.5, 5.4 및 7.4 분이었다. TMS 유도체화 전의 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 의 정량가능 최소농도는 각각 20, 50 및 100 ppm 이었던 데에 비하여, TMS 유도체화 후에는 세 화합물의 정량가능 최소농도가 모두 5 ppm 의 낮은 수준을 나타내었다. 한편, 홍삼 중의 panaxynol, panaxydol 및 panaxytriol 함량 분석값은 각각 724, 721 과 $71 \mu\text{g/g}$ 이었다.

인용문헌

1. 김신일 : 충남대학교 박사학위논문(1988).

2. Takahashi, M. and Ishikura, M.: *Yakugaku Zasshi*, **84**, 757 (1964).
3. Poplawski, J., Wrobel, J.T. and Glinka, T.: *Phytochem.* **19**, 1539 (1980).
4. Dabrowski, Z., Wrobel, J.T. and Wojtasiewicz, K.: *Ibid.*, **19**, 2464 (1980).
5. Shim, S.C., Chang, C.W., Hur, C.W. and Kim, C.K.: *Ibid.*, **26**, 2849 (1987).
6. Shim, S.C. and Chang, S.K.: *Proceedings of the International Symposium on Ginseng Research*, R.O.C., 170 (1987).
7. Ahn, B.Z. and Kim, S.I.: *Arch. Pharm.*, **321**, 61 (1988).
8. 김영숙 : 중앙대학교 박사학위논문 (1989).
9. 박진규 : 충남대학교 박사학위논문 (1989).
10. Hisashi, M., Mitsuo, K., Hiroshi, Y., Masato, M. and Katsumi, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **37**(5), 1279 (1989).
11. Yates, S.G. and England, R.E.: *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 317 (1982).