

## 초임계 암모니아 유체에서의 인삼 사포닌 추출

吳相午<sup>†</sup> · 石耀永

경북대학교 자연과학대학 화학과  
(1989. 3. 21 접수)

## Extraction of Ginseng Saponins in Supercritical Ammonia Fluids

Sang Oh Oh<sup>†</sup>, and Hwee Young Seok

Department of Chemistry, College of Natural Science  
Kyungpook National University, Teagu 702-701, Korea

(Received March 21, 1990)

**요 약.** 임계점 부근 또는 초임계 암모니아 유체를 이용한 인삼 사포닌 추출이 80~160°C의 온도와 339.8~525 mg/cm<sup>3</sup>의 암모니아 밀도에서 수행되었다. 백삼 추출물의 갈색도 측정은 적외선 및 자외선 분광광도계를 이용하였다. 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re, -Rf, -Rg<sub>1</sub> 및 -Rg<sub>2</sub>의 추출율은 HPLC 봉우리 면적으로부터 구하였다. 133°C 및 403±24.605 mg/cm<sup>3</sup>에서 가장 좋은 추출율 7.36%를 얻었다. 추출온도를 높일 경우에 추출의 반복횟수를 줄일 수 있으며 프로토파낙사트리올계의 선택성을 높일 수 있다. 추출물의 갈색도는 온도와 추출율에 영향을 받는다. 추출온도가 증가함에 따라 추출율이 감소되는 감퇴영역은 132°C와 140°C 사이이다.

**ABSTRACT.** The extraction of ginseng saponins with near critical or supercritical ammonia(SCF-NH<sub>3</sub>) was carried out at 80°C-160°C and ammonia densities of 339.8-525 mg/cm<sup>3</sup>. In order to evaluate brownish color of white ginseng extracts, a spectrophotometric method was applied in ultraviolet and visible range. The extractibilities of ginseonoside Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re, -Rf, -Rg<sub>1</sub> and -Rg<sub>2</sub> were determined by high performance liquid chromatography. The best extractability was 7.36% at 133°C and 403±24.605 mg/cm<sup>3</sup>. In the case of the high extraction temperature, it is thought that extraction times can be reduced and the selectivity of protopanaxatriol can be increased. The brownish color of extracts is affected by temperature and extractability. When extraction temperature is between 132°C and 140°C, it is shown that the range is the retrograde region where extractability decrease with increasing temperature.

### 서 론

임계점 이상의 기체를 이용한 용해도 측정 실험은 19세기 후반에 발표<sup>1</sup>되었지만 초임계상태의 유체(SCF)가 추출과 분리용매로서 주목을 받으며 연구된 것은 최근이다. SCF는 액상에 비해 점성도가 작고 열전도율이 높으며 기상에 비해서는 밀도와 용매화능력이 크다. 이러한 비이상적 열역학 물성치는 용질의 추출 선택성을 높이는 한편, 추출 시

간을 단축시켜 준다<sup>2</sup>. SCF 또는 임계상태 부근의 이산화탄소 유체를 이용하여 Francis는 261개의 서로 다른 물질에 대한 용해도를 측정하였고<sup>3</sup>, Tsekhaskaya 등은 온도와 압력을 변화시키며 고체 나프탈렌의 용해도를 측정하였다<sup>4</sup>. 최근 Temelli 등은 orange essential oil로부터 terpen hydrocarbon을 추출하였고, Rizvi 등은 fish oil로부터 EPA(eicosapentaenoic acid)와 DHA(docosahexaenoic acid)와

같은  $\omega$ -3-fatty acid를 추출 분리하였다<sup>2</sup>. SCF가 산업계에서 사용되고 있는 예로서는 coffee나 tea로부터의 decaffeination<sup>5</sup>, vegetable seeds로부터의 oil추출<sup>6</sup>, tobacco의 denicotination<sup>7</sup>, 석유의 deasphalting<sup>8</sup> 등이 있다. 또한, 초임계상태의 암모니아 유체(SCF-NH<sub>3</sub>)를 이용하여 Lentz 등은 caffein의 용해도를 측정하였고<sup>9</sup>, Diepen 등은 에틸렌의 나프탈렌 용해도를 측정하였다<sup>10</sup>. 임계점 부근의 상태 방정식과 그에 따른 열역학적 물성에 관한 이론적 연구가 발표된 바는 있으나, 다성분계의 분자간 상호작용에 관한 이론과 임계영역에 있는 용축 유체의 상태를 이해하는데 한계가 있음으로써 실험적으로 나타난 결과들을 광범위하게 해석하고 모델을 예측할 수 있는 이론적 연구는 거의 없다<sup>11</sup>.

한편, 1957년 Brekhman에 의해 인삼의 유효한 약리작용은 사포닌 성분에 의한 것으로 추정됨<sup>12</sup>에 따라 인삼에 대한 대부분의 화학적, 약리생화학적 연구는 dammarane계 glycoside에 집중되었다<sup>13</sup>.

본 연구는 임계점 부근 유체 또는 SCF-NH<sub>3</sub>를 이용하여 인삼 엑기스를 추출하고, 추출된 이들 엑기스에 함유된 ginsenosideRx( $x=b_1, b_2, c, d, e, f, g_1$  및  $g_2$ ) 함량을 HPLC chromatogram의 봉우리 면적으로부터 구하였다. 추출온도를 달리하면서 변화되는 각 ginsenosideRx의 추출율을 조사하여 protopanaxadiol(PD)계 ginsenosides와 protopanaxatriol(PT)계 ginsenosides의 선택적 추출이 가능한 온도 조건을 설정하여 보았고, 20g의 인삼 분말시료를 6회 반복추출하는 동안 각 추출횟수에 따라 변화되는 ginsenosideRx의 추출율과 PD/PT 비율을 조사하였다. 또한, 인삼 엑기스의 특성 파장인 203, 278, 285 및 440 nm에서의 흡광도를 측정하여 추출온도에 따른 인삼 사포닌 추출량과 갈색도의 변화를 알아 보았으며, 모든 추출물을 상온에서 60일 이상 방치할 때 잔류되는 NH<sub>3</sub>의 물농도를 구하였다. 마지막으로 추출온도와 암모니아 밀도 및 추출율과의 상관성을 조사하여 인삼 엑기스 추출에 대한 retrograde region을 추정하였다.

### 실험 및 고찰

**기기 및 장치.** 인삼 엑기스 추출장치는 Fig. 1과

같다. 용매 압축은 Cornelius Co.(U.S.A.)의 compressor를 이용하였고, 온도는 저항이 조절된 열선에 H.Y. electric power supply (Han Young Co.)와 G.S 교류 개폐기(Gold Star Co.)를 연결하여 조절하였으며, 압력 계지는 Wika Co.(W.German)제를 사용하였다. pH 조절과 원심분리는 DMS-digital pH/ion meter(D.W model DP-135)와 Fisher model 59를 이용하였다. GinsenosideRx 정량은 Varian model 5000 HPLC와 Varian UV-100 detector 및 Varian 4290 integrate를 이용하였다. 특성 파장에서 흡광도 측정은 Shimadzu model 265 UV-visible spectrophotometer를 이용하였다. 추출된 인삼 엑기스에 잔류하는 NH<sub>3</sub> 정량은 암모늄 이온선택성 전극을 사용한 연속 자동화 장치<sup>14</sup>를 이용하였고, 탈이온화 한 증류수를 얻기 위하여 Millipore계 Milli-Q water system을 사용하였다.

**시약 및 재료.** 인삼 분말시료는 증평산 백삼 6년근(200 mesh)이며, 사포닌 표준품 ginsenosideRb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>, -Rc, -Rd, -Re, -Rf, -Rg<sub>1</sub> 및 ginsenosideRg<sub>2</sub>는 인삼연초연구소에서 제공 받았다. NH<sub>3</sub>와 N<sub>2</sub>는 Union Co.(순도 99.8% 이상) 제품을, 추출용매 diethyl ether, chloroform, butanol은 일급시약(Junsei Co.)을, HPLC 이동상인 methanol, butanol, acetonitrile은 HPLC급 용매(Merck Co.)를, NH<sub>3</sub> 정량시 사용된 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaOH는 특급시약(Merck Co.)을, 그 밖에 사용된 CH<sub>3</sub>COOH, HCl 등은 특급시약을, 실험에 사용된 물은 탈이온화한 증류

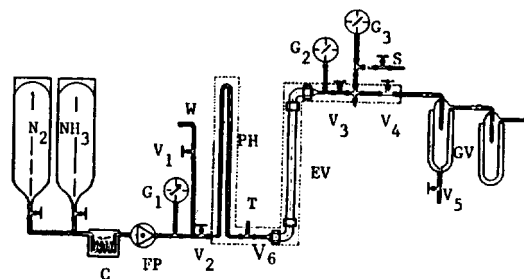


Fig. 1. Schematic diagram of the supercritical ammonia extraction system. C : Cooling System. FP : Feed Pump. G<sub>1,2,3</sub> : Pressure Gauge T : Thermocouple. V<sub>1-6</sub> : Operating valve. pH : Preheating System W : Washing Line. EV : Extraction Vessel. GV : Glass Vessel accepting ginseng extracts. S ; Safety valve.

수를 각각 사용하였다. 용매와 분석된 시료 저장용액의 여과는 0.45 μm nylon 66 membrane filter (φ: 47 mm, 4 mm Altech associates)를, HPLC 분리 column은 Shim-pack NH<sub>3</sub> 5 μ(φ: 4.8 mm × 15 cm, Shimadzu Co.)을 용액제조는 Digital Finn pipette(Finland Co.)을 각각 사용하였다.

실 험

**인삼 엑기스 추출.** Fig. 1의 추출용기(EV; 내경 28 mm, 외경 40 mm, 높이 240 mm)에 porous beads와 glass wool을 덮고 인삼 분말시료 20g(± 0.0001g)을 넣는다. 온도 조절장치(T)를 통하여 추출된 EV의 온도를 313±1 K로 항온시킨다. 항온된 EV의 확산전 내압이 18±2 Kp/cm<sup>2</sup>가 되도록 압축기(FP)를 이용하여 암모니아를 압축시킨 후 밸브(V<sub>6</sub>)를 닫고 실험온도가 되도록 열을 공급하여 암모니아를 확산시킨다. EV의 압축이 평형(±1.0%) 상태로 유지된 후 60분이 경과되면 밸브(V<sub>4</sub>)를 열어 GV에 엑기스를 받는다.

**시료 저장용액 제조.** 1회 추출된 인삼 엑기스를 상온에서 60일 이상 방치한 후 NH<sub>3</sub>를 정량하고 1 M HCl로 pH 5.8~6.2가 되도록 조절한 다음 분석용 저장용액을 제조한 과정은 Fig. 2와 같다.

**표준 검량선 작성.** 순품 사포닌 9 mg을 2 ml MeOH에 녹여 2배씩 3회 희석하여 표준용액을 제조한다. HPLC에 10 μl의 표준용액을 주입한 다음 얻어진 봉우리 면적과 절편과 기울기(상관계수;

0.997~0.999) 및 ginsenosideRx의 검출한계(signal to noise ratio; 10:1)는 Table 1과 같다.

**추출률 계산.** 각 ginsenosideRx의 추출률 계산은 다음식으로 계산하였다.

$$\text{EXTRACTABILITY}(\%) = \frac{PC_t \times (A - I)}{S} \quad (x = a, b, t)$$

여기서 A는 시료용액의 chromatogram 봉우리 면적이며, I와 S는 ginsenosideRx 검량선 작성시 얻어진 Table 1의 절편과 기울기이다. Fig. 2의 시료 제조과정으로부터 유도된 상수 PC<sub>a</sub>, PC<sub>t</sub> 및 RC<sub>b</sub>는

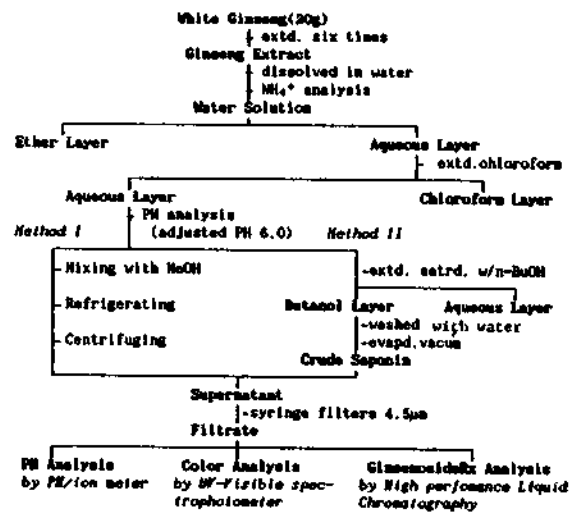


Fig. 2. Extraction of crude ginseng saponins and analysis of ginsenosides.

Table 1. Peak area, retention time and detection limit of each ginsenosideRx

injected weight(μg)	5.63	11.25	22.50	45.00	Slope <sup>a</sup> (S)	Intercept <sup>a</sup> (I)	Retention time (Sec)	Detection limit <sup>b</sup> (ng)
-R <sub>g2</sub>	623940	1220890	2337853	4748189	104584.8	9961.094	216	665.7
-R <sub>g1</sub>	510871	1032279	2075650	4193384	93561.85	20723.21	243	703.1
-R <sub>f</sub>	655476	1272913	2461947	4915057	108062.6	47592.9	266.4	721.2
-R <sub>e</sub>	406422	733855	1521594	3001988	66398.43	14413.5	339	809.4
-R <sub>d</sub>	457031	857542	1605047	3235170	70456.75	50169.89	399	858.8
-R <sub>c</sub>	366078	754586	1463777	2965920	65822.72	13893.18	565.2	986.8
-R <sub>b2</sub>	519307	866708	1738601	3557202	77969.01	40995.08	738	1630.4
-R <sub>b1</sub>	394291	781203	1570135	3125213	69404.95	1245.137	923.4	2122.6

<sup>a</sup>calculated by least square regression. <sup>b</sup>signal to noise ratio 10:1.

Table 2. The absorbance data of ginseng extracts<sup>a</sup> extracted from various temperature

Extd. Temp(°C)	203nm	278nm	285nm	440nm	density (mg/cm <sup>3</sup> )	S.D <sup>b</sup>
80	0.470	0.055	0.045	0.004	524.5	2.846
90	0.893	0.182	0.150	0.009	503.0	5.128
100	1.015	0.217	0.185	0.012	499.6	9.775
125	1.180	0.359	0.301	0.013	435.9	11.993
133	1.567	0.446	0.381	0.017	403.0	24.605
140	1.303	0.471	0.393	0.014	410.4	17.089
150	0.936	0.350	0.294	0.015	366.3	20.750
160	0.793	0.298	0.258	0.014	339.8	9.600

<sup>a</sup> 10 μl ginseng stock solutions diluted in 3 ml MeOH.

<sup>b</sup> standard deviation of variable NH<sub>3</sub> density during six times extraction at constant temperature.

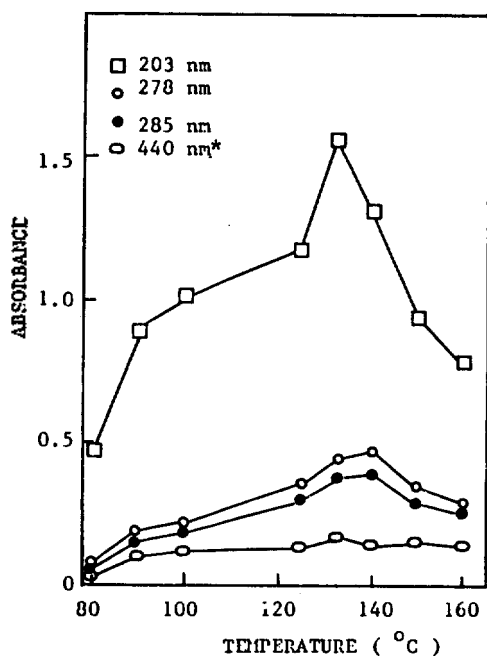


Fig. 3. Total saponins content and brown color intensity of white ginseng extracts at various temperatures. \*Represented absorbance is the ten times of real value.

$8.38 \times 10^{-3}$ ,  $33.52 \times 10^{-3}$ , 0.05로서 Table 3~5의 추출율 계산에 각각 사용되었다.

**HPLC 실험조건.** HPLC 이동상인 acetonitrile : H<sub>2</sub>O : BuOH의 조성비는 72 : 16 : 12로 하고 flow

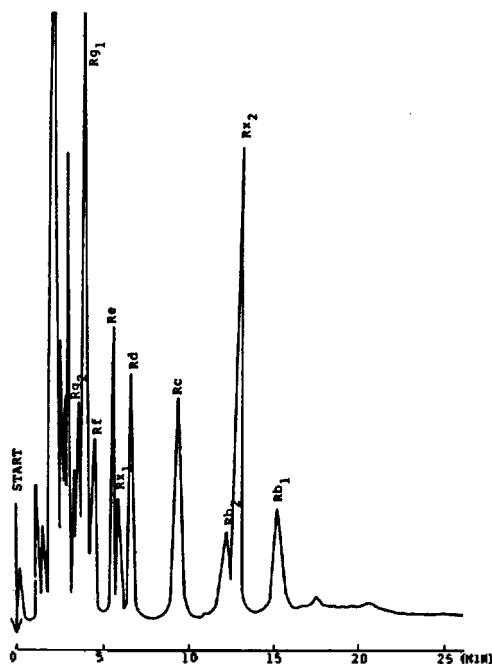


Fig. 4. HPLC chromatogram of the ginsenoside Rg<sub>2</sub>, -Rg<sub>1</sub>, -Rf, -Re, -Rd, -Rc, -Rb<sub>2</sub>, -Rb<sub>1</sub> contained in ginseng extracts.

rate는 1.2 ml/min로 하였다. 시료 주입량은 10 μl, attenuation은 16 mV/full scale, chart speed는 0.5 cm/min, 검출과장은 203 nm로서 실험하였다.

## 고 찰

비효소적 갈색화반응을 분광광도계로서 연구할 때 선택되는 파장은 다양하다<sup>15</sup>. 본 연구에서는 인삼 특유의 향기와 비슷한 pyrazine을 측정할 수 있는 278 nm<sup>16</sup>, 갈색화반응의 전구물질인 공액 불포화 카보닐 화합물을 측정할 수 있는 285 nm<sup>17</sup>, 갈색계의 적외선 흡수과장인 440 nm 그리고 모든 ginsenoside가 갖는 C<sub>24</sub>-C<sub>25</sub> 이중결합에 의한 흡수과장 203 nm<sup>18</sup>를 각각 선택하였다. 추출조건이 각각 다른 시료용액에 특성과장을 선택하여 얻은 흡광도는 Table 2와 같고, 추출온도에 따른 시료의 흡광도 변화는 Fig 3과 같다.

203 nm에서의 흡광도 변화를 보면 140°C에서의 추출물이 125°C에서의 추출물보다 흡광도가 크다. 그러나 Table 4의 HPLC로 분석된 ginsenosideR<sub>Xtotal</sub>

추출율을 보면 125°C에서는 4.88%인데 비하여 140°C에서 4.406%인 것을 알 수 있다. 이처럼 흡광도와 ginsenosideRx<sub>total</sub>의 추출율이 상승되는 것으로부터 140°C에서의 추출물에는 HPLC로 분석된 ginsenosideRx 이외에 다른 ginsenoside가 더 많이 있음을 추정하였다. 또한, 150°C에서의 추출물은 140°C에서의 추출물보다 278, 285 nm에서의 흡광도는 현저히 감소하고 440 nm에서의 흡광도는 증가되었다. 이는 인삼향기 성분과 공액 불포화 카보닐 화합물들이 150°C 이상의 온도에서 추출되면 다소 불안정하게 되어 aminocarbonyl 반응에 의한 갈색화를 촉진하기 때문으로 추정된다<sup>19</sup>. 추출된 인삼 시료용액의 chromatogram은 Fig. 4와 같고 분석된 ginsenosideRx에

대한 각 종의 머무름 시간은 Table 1에 나타내었다.

Fig 4의 chromatogram을 보면 미지의 ginsenosideRx<sub>1</sub>(RT : 357 sec)와 ginsenosideRx<sub>2</sub>(RT : 813 sec)가 분리됨을 알 수 있다. 이들 화합물은 거의 모든 추출물에 존재하고 있으며, 특히 ginsenosideRx<sub>2</sub>의 경우 chromatogram 면적 백분율이 2~9%로써 상당량이 존재하고 있었다.

90°C, 133°C, 150°C에서 6회 반복추출한 각 분획물의 ginsenosideRx 추출률은 Table 3과 같고 추출율 변화를 추출횟수에 따라 도시하면 Fig. 5와 같다.

Fig 5로부터 150°C에서는 첫번째, 133°C에서는 두번째, 90°C에서는 세번째의 추출율이 가장 우수함을

Table 3. Values of extractability and ginsenoside ratio(protopanaxadiol/protopanaxatriol) on extraction time and temperature

Temp.	ginsenosideRx <sup>a</sup> Extd. Times	protopanaxatriol				protopanaxadiol				total	ratio	density (S.D)	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] mole/l
		-Rg <sub>2</sub>	-Rg <sub>1</sub>	-Rf	-Re	-Rd	-Rc	-Rb <sub>2</sub>	-Rb <sub>1</sub>				
90°C	1	0.056	0.167				0.011	0.037	0.042	0.313	0.404	498	0.058
	2	0.035	0.067	0.006	0.104	0.048	0.013	0.093	0.071	0.437	1.061	503.5	0.056
	3	0.127	0.022	0.019	0.096	0.150	0.045	0.020	0.064	0.543	1.057	503.5	0.045
	4	0.105	0.018	0.021	0.064	0.032	0.048	0.001	0.029	0.318	0.529	503	0.034
	5	0.038	0.069	0.048	0.071		0.041	0.055	0.022	0.344	0.522	498	0.044
	6	0.017	0.069		0.064		0.062	0.051	0.014	0.277	0.847	512	0.022
	T <sup>b</sup>	0.378	0.412	0.094	0.399	0.230	0.220	0.257	0.242	2.232	0.740	503	0.259
133°C	1	0.105	0.078	0.012	0.078	0.014	0.026	0.012	0.014	0.339	0.242	417	0.161
	2	0.193	0.125	0.025	0.194	0.121	0.157		0.015	0.830	0.546	431	0.019
	3	0.173	0.098		0.233	0.101	0.131	0.082	0.002	0.820	0.627	429	0.008
	4	0.129	0.076	0.033	0.227	0.011		0.072	0.007	0.555	0.194	425	0.014
	5	0.117	0.090	0.006	0.237	0.021		0.052	0.003	0.526	0.169	425	0.008
	6	0.168	0.040		0.179	0.066		0.049	0.002	0.504	0.302	450	0.007
	T <sup>b</sup>	0.885	0.507	0.076	1.148	0.334	0.314	0.267	0.043	3.574	0.366	429.5	0.217
150°C	1	0.141	0.159		0.822		0.166		0.009	1.297	0.156	327	0.032
	2	0.121			0.490	0.295		0.074	0.056	1.036	0.696	360	0.003
	3	0.122	0.209		0.563		0.243		0.020	1.157	0.294	376	0.002
	4	0.145	0.083	0.027	0.048		0.025	0.102	0.026	0.456	0.505	374.5	0.007
	5	0.020	0.072	0.011	0.045	0.119	0.022	0.015	0.011	0.315	1.128	384	0.012
	6		0.017							0.017	0	376	0.008
	T <sup>b</sup>	0.549	0.540	0.038	1.968	0.414	0.456	0.191	0.122	4.278	0.382	366.3	0.064

<sup>a</sup> prepared by method I, <sup>b</sup> sum of six times, S.D Standard deviation.

알 수 있다. 이처럼 추출횟수에 따라 추출율이 변화되는 것은 추출횟수가 반복될수록 시료속에 한

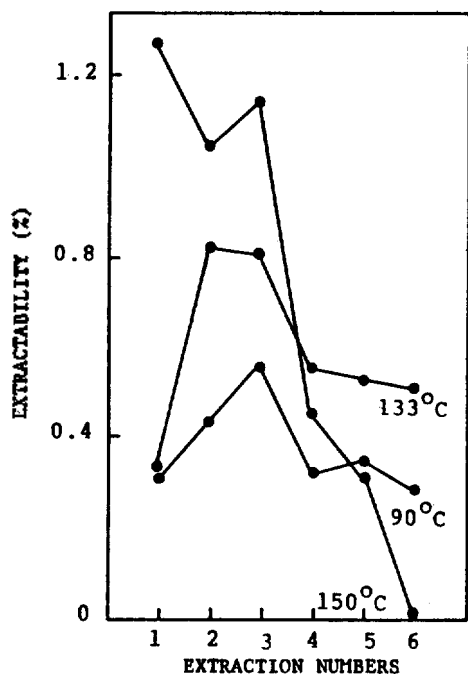


Fig. 5. Ginsenosides content of white ginseng extracts on extraction numbers.

정되어 있는 사포닌 함량의 감소에 따른 요인과 한번 이상 추출과정을 가진 인삼 분말시료의 cell wall 상태가 사포닌 성분의 용매화를 더욱 쉽게 이루도록 변화되는 요인으로 나누어 생각할 수 있다. 이러한 관점에서 Fig. 5의 경향을 보면 추출온도가 비교적 높은 상태에서 추출을 거듭하면 사포닌 함량 감소 요인이 지배적으로 작용하여 추출율이 점차 감소되는 경향을 나타내고, 추출온도가 낮은 상태에서 추출을 거듭하면 시료의 cell wall이 벗겨져 사포닌 성분 용매화가 더욱 용이하게끔 상태가 변화되는 요인이 지배적으로 작용하여 추출율이 점차 증가되는 경향을 나타낸다. 그러나 시료의 상태변화가 없게 되면 점차 추출율이 감소되는 경향을 다시 나타내게 됨을 알 수 있다.

6회 반복추출한 추출물을 method I(Fig. 2)에 의해 각각 저장용액을 만들고, 이들 용액에서 1 ml씩 취하여 혼합한 시료용액으로부터 8종류의 ginsenosideRx 추출율을 얻은 결과는 Table 4와 같다. Choi<sup>21</sup> 등에 의하면 pH 4.2~4.6인 100°C 산성 수용액에서 엑기스를 숙성시키면 열과 산에 의하여 모든 ginsenoside는 불안정해진다. 특히, triol계 사포닌이 diol계 사포닌보다 더 불안정하며 triol계 사포닌의 ginsenosideRg<sub>1</sub>과 -Re가 감소되고 ginsenosideRg<sub>2</sub>와

Table 4. Values of extractability and ginsenoside ratio(protopanaxadiol/protopanaxatriol) on the various NH<sub>3</sub> density and temperature

ginsenosideRx* Extd.	protopanaxatriol				protopanaxadiol				total	ratio	density (mg/cm <sup>3</sup> )	S.D	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] mole/l
	Temp.	-Rg <sub>2</sub>	-Rg <sub>1</sub>	-Rf	-Re	-Rd	-Rc	-Rb <sub>2</sub>					
80°C	0.089	0.209	0.014	0.235	0.073	0.117	0.018	0.161	0.916	0.675	524.5	2.846	0.286
90°C	0.198	0.577	0.154	0.318	0.267	0.323	0.078	0.362	2.277	0.826	503.0	5.128	0.280
100°C	0.188	0.999	0.268	0.360	0.373	0.272	0.137	0.684	3.281	0.808	499.6	9.775	0.207
125°C	0.437	0.965	0.266	1.911	0.567	0.369	0.096	0.277	4.888	0.366	435.9	11.993	0.074
133°C	0.709	1.623	0.028	2.833	1.115	0.496	0.332	0.227	7.363	0.418	403.0	24.605	0.122
133°C	0.854	0.535	0.024	1.153	0.492	0.297	0.198	0.043	3.596	0.401	429.5	11.131	0.217
140°C	0.104	0.354		2.701	0.486	0.313	0.038	0.410	4.406	0.395	410.4	17.089	0.244
150°C	0.409	0.876	0.042	2.192	0.480	0.480	0.058	0.048	4.594	0.305	366.3	20.750	0.080
160°C	0.486	1.358	0.313	1.681		0.042		0.052	3.932	0.024	339.8	9.600	0.086
ref I	0.379	0.153	0.092	0.023	0.342	0.190	0.131	0.038	1.348	1.033			
ref II	0.07	0.59	0.04	0.52	0.21	0.61	0.30	0.75	3.090	1.533			

ref I. F. Soldati(J Medical plant Research : Vol.38, p.353(1980). ref II. S.K. Hong(Studies of panax ginseng : Korea Ginseng and Tobacco Research institute(1989). \*prepared by method I.

-R<sub>h</sub>가 증가됨이 밝혀져 있다.

암모니아 유체를 이용한 ginsenosideRx의 온도에 따른 추출율을 도시한 Fig. 6을 보면 133°C에서의 추출물 경우 ginsenosideR<sub>b1</sub>, -R<sub>f</sub>를 제외한 대부분의 ginsenosideRx가 양호하게 추출되었음을 알 수 있다. 그러나 추출온도가 133°C보다 낮을 수록 ginsenosideRx의 추출율이 작아지는 경향을 볼 수 있는데, 이는 추출온도가 낮을수록 용매가 인삼 분말시료의 cell walls을 encapsulate하기 어렵게 되고, 암모니아 유체의 밀도가 높아짐으로써 인삼 사포닌의 vapor pressure가 상대적으로 낮게 되기 때문이다. 한편 추출온도가 140°C 이상 되면 대부분의 ginsenosideRx의 추출율이 다시 감소되는 retrograde region은 임계온도(132.4°C)와 140°C 사이에 존재함을 알 수 있다. 이는 초임계이산화탄소 유체를 이용하여 anthracene의 용해도를 측정한 연구들<sup>22</sup> 볼 때 313 K, 91 bar에서의 용해도가  $2.08 \times 10^{-4}$  mole/l이고 323 K, 89 bar에서의 용해도가  $1.78 \times 10^{-5}$  mole/l로써 10배 이상 용해도가 감소되는 결과와 유사한 경향

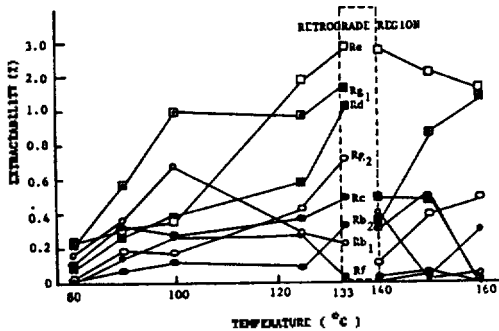


Fig. 6. Extractability of ginsenosideRx at various extraction temperatures.

임을 알 수 있다. 또한, Fig. 6을 보면 SCF-NH<sub>3</sub>로 사포닌 성분을 추출할 경우 triol계 사포닌이 diol계 사포닌보다 더 선택적으로 추출되고 triol계 사포닌의 열적 불안정 요인이 감소됨을 알 수 있다. 이러한 실험결과로부터 Table 4에서 비교된 기존의 용매 추출법에 의한 인삼속의 triol계 사포닌 함량은 SCF-NH<sub>3</sub>로 추출할 경우 다소 개선될 수 있을 것이다. 이는 용삼을 100°C에서 8시간씩 6회 반복 추출할 경우 추출횟수가 반복됨에 따라 triol계 ginsenoside의 양이 다소 증가되는 경향에서도 추정될 수 있다<sup>20</sup>.

추출온도를 125°C와 133°C로 하여 추출한 엑기스를 method II(Fig. 2)에 의해 시료저장용액을 제조한 다음 ginsenosides의 추출율을 구한 Table 5를 보면, diol계 ginsenosides의 추출율이 Table 4의 결과에 비해 나쁘다. 본 연구에서는 이를 확인하지는 않았지만 엑기스를 산 처리한 후 s-BuOH로 사포닌 성분을 추출할 때 diol계 ginsenosides의 BuOH층 분포가 낮아져 분포비 ( $D = \frac{[\text{protopanaxadiols}]_{s-\text{BuOH}}}{[\text{propanaxatriols}]_{\text{H}_2\text{O}}}$ )를 작게 한 때문으로 추측하였다. 만일 이러한 까닭으로 Table 5의 결과를 얻게 되었다면 diol계 사포닌은 triol계 사포닌보다 산성 조건에서 비교적 더 안정하고 메탄올이나 물과 같은 용매에서는 선택적으로 더욱 잘 추출됨을 추측할 수 있다.

Fig. 7은 PD/PT 추출비율(ER)을 온도와 추출횟수의 변화에 따라 얻은 결과를 도시한 것이다. 90°C와 133°C에서의 추출횟수에 따른 ER값을 보면 1, 4 및 5회째의 값이 2, 3 및 6회째의 값보다 작다. 이러한 현상은 SCF-CO<sub>2</sub>를 이용하여 triolein과 tristearin을 추출할 때, 추출횟수에 따른 ER값의 변화와

Table 5. Values of extractability and ginsenoside ratio(protopanaxadiol/protopanaxatriol) on NH<sub>3</sub> density and temperature

ginsenosideRx*	protopanaxatriol								protopanaxadiol		total	ratio	density (mg/cm <sup>3</sup> )	S.D	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] mole/l
	-R <sub>g2</sub>	-R <sub>g1</sub>	-R <sub>f</sub>	-R <sub>e</sub>	-R <sub>d</sub>	-R <sub>c</sub>	-R <sub>b2</sub>	-R <sub>b1</sub>							
Extd. temp.															
125°C	0.270	0.792	0.003	1.434	0.023	0.093	0.086	2.701	0.081	449.6	3.286	0.059			
133°C	0.512	0.433	0.039	2.372	0.083	0.014	0.047	3.500	0.043	433.7	1.857	0.073			

\* prepared by method II.

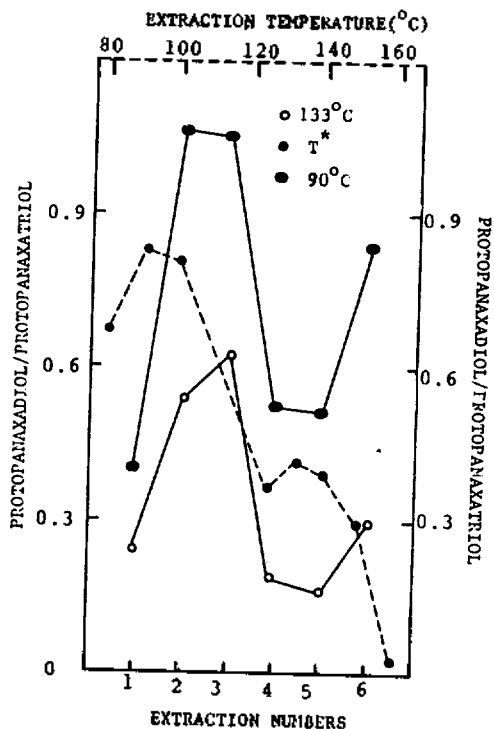


Fig. 7. Ginsenoside ratio(protopanaxadiol/protopanatriol) of white ginseng extracts on extraction number or extraction temperature. \*Represented ratio is sum of six times extracts.

비슷한 경향이다<sup>23</sup>. ER값이 1보다 크면 diol계 ginsenosides의 추출이 triol계 ginsenosides 추출보다 더 선택적으로 추출됨을 의미한다. SCF-NH<sub>3</sub>를 추출용액으로 사용하였을 때 대부분의 ER값이 1보다 작은 것은 triol계 ginsenosides가 diol계 ginsenosides보다 더욱 선택적으로 추출됨을 알 수 있다. 또한, Fig. 7에는 추출온도를 달리 할 때 변화되는 ER값을 도시하였다. 추출온도가 높아질 수록 ER값이 1보다 작아지는 경향으로부터 ginsenosideRx의 성분변화가 일어나지 않는 범위에서 추출온도를 높이면 triol계 ginsenosides의 추출 선택성을 높일 수 있음을 알 수 있다.

Fig. 8은 추출온도와 암모니아 유체의 밀도 변화<sup>24</sup>에 따라 추출율이 변화됨을 나타낸 것이다. 온도만을 고려할 경우 임계온도(132.4°C)에 가까운 133°C에서 추출할 때 가장 우수한 추출율을 얻는다. 그러나 Table 4를 보면 추출온도 133°C에서 암모니아 밀도가

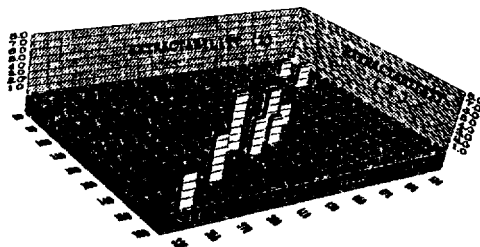


Fig. 8. Comparison of extractability of total ginsenosideRx on various NH<sub>3</sub> density and temperature(°C).

403 mg/cm<sup>3</sup>(SD ; 24.605)일 때 추출율이 7.363%인데 비하여 암모니아 밀도가 429.5 mg/cm<sup>3</sup>(SD ; 11.131)일 때는 3.596%로써 추출율이 2배 이상 현저하게 차이가 있음을 알 수 있다. 이처럼 일정온도에서 암모니아 밀도를 증가시키면 증기압을 감소시켜 낮은 추출율을 얻게 되는 반면 암모니아 밀도를 감소시키면 용질의 증기압을 증가시켜 암모니아 밀도 감소로 인한 추출율 감소를 극복하고 보다 높은 추출율을 얻게 한다. 이는 암모니아 유체를 이용한 anthracene용해도 측정실험<sup>22</sup>에서 420 K, 110 bar일 때  $9.09 \times 10^{-4}$  mole/l의 용해도를 얻은 반면 암모니아 밀도가 감소되는 440 K, 110.5 bar에서의 용해도가  $1.50 \times 10^{-3}$  mole/l로 오히려 증가되는 경향으로부터 추정되었다. 이러한 실험적 결과로부터 가장 우수한 추출율을 얻기 위하여 추출온도와 암모니아 유체밀도를 임계온도와 임계밀도(235 mg/cm<sup>3</sup>)에 근접시켜야 한다는 것을 추정하였다. 그러나 본 연구 실험과정상의 제한적 요인과 임계점 부근에서는 미소의 온도와 압력이 변화되어도 밀도의 변화가 매우 크게 되는 요인 등에 의해 임계온도와 임계밀도에서의 추출율은 얻지 못하였다. 그러나 온도의 영향을 배제하고 임계밀도에 가장 근접시킨 밀도 327~376 mg/cm<sup>3</sup>(Table 3)에서의 추출율이 매우 우수함과 SCF-NH<sub>3</sub>를 이용한 anthracene 용해도 측정실험에서 알 수 있는 결과 즉, 온도를 420 K로 고정하고 압력을 76.5 bar로부터 100, 120 bar로 변화시키면서 암모니아 유체밀도가 점차 증가하여 임계밀도에 근접하는데 이 때의 용해도를 보면  $2.23 \times 10^{-4}$  mole/l C,  $5.70 \times 10^{-4}$  mole/l 및  $2.13 \times 10^{-3}$  mole/l로 점차 증가하는 것으로부터 앞서 추정된 사실은 뒷받침된다. 임계점 부근 또는 SCF-NH<sub>3</sub>로써 인삼 엑기스



를 추출할 경우 133°C에서 6회씩 반복추출하여 얻어진 추출엑기스를 60일 방치하여 얻은 중량을 보면 6.37(223.8 Kp/cm<sup>2</sup>±23.351), 4.48(175 Kp/cm<sup>2</sup>±37.9) 및 5.91g(227.4 Kp/cm<sup>2</sup>±5.314)으로써 평균 5.58 g(SD : ±0.805)을 얻었다. 추출된 인삼 엑기스(0.8 ±0.3g/1회 추출물)는 glycoside류의 solubilizing activity에 의해 물에 불용성인 성분들이 함께 추출되고, 추출된 엑기스를 상온에서 60여일 이상 방치하여도 암모니아가 존재한다는 것(Table 4, 5)을 알 수 있었다. 또한, 추출온도가 높을수록 추출물의 점성도가 낮아지고 암갈색으로 변화되는 것도 관찰되었다.

## 결 론

임계점 또는 SCF-NH<sub>3</sub>를 사용하여 인삼 엑기스를 추출한 결과 다음 사항을 확인할 수 있었다.

첫째, 인삼 분말시료 20g을 6회 반복추출한 추출물을 60여일 이상 방치하여 24±9%의 인삼 엑기스를 얻을 수 있었다.

둘째, 모든 추출물은 미지의 ginsenosideRx<sub>1</sub>과 ginsenosideRx<sub>2</sub>를 포함하고 있었다.

셋째, 추출온도 증가에 따라 추출율이 감소되는 retrograde region은 132.4°C와 140°C 사이에 존재함이 추정되었다.

넷째, 추출온도가 150°C 이상 되면 amino carbonyl 반응에 의하여 갈색화가 촉진된다.

다섯째, 추출온도 133°C(NH<sub>3</sub> density 403±24.605 mg/cm<sup>3</sup>)에서의 ginsenosideRx의 추출율은 7.36%로서 가장 우수하였지만 암모니아 밀도를 임계밀도(235 mg/cm<sup>3</sup>)에 근접시키면 더 좋은 추출율을 얻을 수 있음을 추정하였다.

본 연구를 위하여 사포닌 표준품 ginsenosideRg<sub>1</sub>, -Rg<sub>2</sub>, -Rf, -Re, -Rd, -Rc, -Rb<sub>1</sub>, -Rb<sub>2</sub>을 제공하여 주신 인삼연초연구소와 연구비 일부를 지원하여 주신 삼종산업에 깊은 감사를 드립니다.

## 인 용 문 헌

1. J. B. Hannay and J. Hogarth, *J. Proc. R. Soc. London*, **29**, 324 (1879).
2. R. T. Marentis, "Supercritical Fluid Extraction and Chromatography", 1st, 128, B. A. Charpentier, and M. R. Sevenants, A.C.S., U.S.A. (1988).
3. A. W. Francis, *J. Phys. Chem.*, **58**, 1099 (1954).
4. Y. V. Tsekhanskaya, M. B. Iomtev, and E. V. Muskina, *Russ. J. Phys. Chem. (Engl. Transl)*, **38**, 1173 (1964).
5. (a) O. Vitzthum and P. Hubert, German Patent, **2**, 357 (1975); (b) M. E. Paulaties, V. J. Krunkonis, P. T. Kurnik, and R. C. Reid, *Rev. Chem. Eng.*, **1**, 179 (1983).
6. (a) G. R. List and J. P. Friedrich, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **62**, 82 (1985); (b) E. Stahl, E. Schutz, and H. K. Mangold, *J. Agric. Food. Chem.*, **28**, 1153 (1980).
7. P. Hubert and O. G. Vizthum, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **17**, 710 (1978).
8. T. P. Zhuze, *Petroleum (London)*, **23**, 298 (1960).
9. U. Liedtke and H. Lentz, *Phys. Chem.*, **88**, 921 (1984).
10. G. A. M. Diepen and F. E. C. Scheffer, *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 4085 (1948).
11. M. Mchugh and M. E. Paulaties, *J. Chem. Eng. Data*, **25**, 326 (1980).
12. I. I. Brekhman and I. V. Dardymov, *Ann. Rev. Pharm.*, **9**, 419 (1969).
13. B. H. Han, Y. N. Han, and L. K. Woo, *J. Kor. Pharm. Soc.*, **16**, 140 (1972).
14. H. L. Lee and M. E. Meyergoff, *Analyst*, **110**, 371 (1985).
15. J. H. Do et al, *J. Kor. Agric. Chem. Soc.*, **25**, 161 (1982).
16. T. Shibamoto and R. A. Berzhard, *J. Agric. Food. Chem.*, **24**, 847 (1978).
17. H. S. Burton, *J. Food Sci.*, **28**, 631 (1963).
18. (a) H. R. Schulten and F. Soldati, *J. Chrom.*, **212**, 41 (1981); (b) O. Sticher and F. Soldati, *Planta medica*, **38**, 348 (1980).
19. J. H. Choi, W. J. Kim, K. D. Park, and H. S. Sung, *J. Kor. Ginseng Sci.*, **4**, 314 (1980).
20. K. J. Choi, M. W. Kim, H. S. Sung, and S. K. Hong, *J. Kor. Ginseng Sci.*, **4**, 298 (1980).
21. (a) J. H. Choi, D. H. Kim, H. S. Sung, W. J. Kim, and S. K. Oh, *J. Kor. Food Sci. Tech.*, **14**, 197 (1982); (b) J. H. Choi, W. J. Kim, J. W. Yang, H. S. Sung, and S. K. Hong, *J. Kor. Agric. Chem. Soc.*, **24**, 50

- (1981).
22. G. L. Rôβling and E. U. Franck, *Ber. Bunsenges. Ptes. Chem.*, **87**, 882 (1983).
23. Y. Irvshima, N. Saito, K. Hatakeda, S. Ito, T. Asano, and T. Goto, *Chem. Letters*, 1789 (1985).
24. N. B. Vargaftik, "Tables on the Thermophysical Properties of Liquid and Gases", 2nd, 464, J. Wiley, and Sons, New York, 1975.