

인삼사포닌 화합물의 신속한 추출

곽이성 · 김미주 · 김은희 · 김영애
한국인삼연초연구원

An Rapid Extraction of Ginseng Saponin Compounds

Yi-Seong Kwak, Mi-Ju Kim, Eun-Hee Kim and Yeoung-Ae Kim
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

Abstract

A new rapid saponin extraction method was developed with using of organic solvent and waring blender. There was a good correlation between previous distillation method and this method in 6 major ginsenosides (Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁) contents. When the ratio of methanol and chloroform was 7:3, this method showed similar saponin contents (total major ginsenosides contents) comparing with distillation method. Contents of total major ginsenosides were 2.41% in this method and 2.54% in distillation method. However, crude saponin content of this method was higher than that of distillation method.

Key words: Ginseng saponin compounds, rapid extraction method

서 론

인삼의 사포닌 화합물은 1960년대 후반부터 Shibata group 및 Tanaka group에 의해서 그 화학적 연구가 시작되어 1980년대 초까지 거의 대부분의 구조가 밝혀지게 되었다⁽¹⁾. 인삼의 성분중에서 사포닌은 약리 효능을 중심으로 가장 많은 연구결과가 보고된 성분으로 Shibata 등⁽²⁾에 의해 steroid 골격을 갖는 triterpenoid의 배당체 임이 규명된 이후 Tanaka⁽³⁾는 TLC로 ginsenoside 성분들을 분리하였고, 백삼에만 존재하는 malonyl-ginsenoside를 비롯하여 미량의 ginsenoside 성분인 -Rh₃와 -Rf₄ 등 33종의 사포닌이 분리되어 구조가 밝혀졌다⁽⁴⁾. 또한 인삼제품에서는 인삼의 유효성분으로서 반드시 검출되지 않으면 안되는 지표 성분으로 알려져 있다^(5,6). 따라서 인삼의 약리 효능을 위한 사포닌화합물의 분리 연구 측면에서 뿐만 아니라 인삼제품이 생산된 후 인삼제품의 GMP 품질관리적인 측면에서도 사포닌 화합물의 신속한 분리 및 검출 방법의 개발은 필요한 실정이다. 한편 식품을 구성하고 있는 성분은 다양하고 복잡하여 분석방법에 따라 전처리 과정이 각각 다를뿐만 아니라 그 과정이 복잡

하고 많은 시간이 요구되기도 한다. 현재 인삼에 함유된 사포닌 화합물의 분리방법은 증류법^(2,3)이 사용되고 있으나 시간이 오래 걸린다는 단점이 있었다. 여기에 반해 용매추출법은 모든 형태의 시료에 적용 가능하며 증류법에 비해서 단시간에 추출할 수 있다는 장점이 있다.

저자 등은 인삼으로 부터 사포닌의 신속한 추출방법을 모색하기 위하여 Waring blender를 이용한 용매추출법을 개발하여, 본 방법으로 추출된 사포닌과 기존의 증류법으로 추출된 사포닌의 함량 및 패턴을 비교하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

인삼은 백삼(5년근, 금산삼)을 대전시내 한약방에서 구입하여 사용하였다. Saponin 정성 및 정량에 사용된 시약류로서 TLC plate는 precoated silica gel 60F 254 plate (Merck Co., Art 5554 aluminum sheet, layer thickness 0.25 mm)를 사용하였고 발색시약인 sulfuric acid는 특급시약을, 전개용매류는 일급시약을 사용하였으며, HPLC 분석에 사용한 acetonitrile, methanol, chloroform, n-butanol, 증류수는 Merck 회사의 HPLC용 용매류를 사용하였다. 인삼사포닌 ginsenoside 표준

Corresponding author: Yi-Seong Kwak, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, 302 Sinsung-dong, Yusung-gu, Taejeon 302-345, Korea

성분은 한국인삼연초연구원에서 분리한 표준품을 TLC 확인 및 HPLC 정량용 표준품으로 사용하였다.

증류법에 의한 사포닌의 추출

인삼분말 3 g에 70% MeOH을 50 mL 가하고 80°C에서 2시간씩 3회 추출하고 원심분리(8,000 rpm, 30 min)하여 그 상등액을 70°C 이하에서 감압농축하였다. 여기에 60 mL의 증류수를 가하여 진탕한 후 동량의 diethyl ether로 3회 추출분획하여 ether 층으로 이행되는 지용성 물질을 제거하고 물층에 동량의 수포화 n-butanol을 가하였다. 이 조작을 2회 반복하고 50 mL의 증류수로 2회 세척한 후 70°C에서 감압농축하여 105°C에서 2시간 건조하여 조사포닌으로 하였다. 조사포닌을 5% MeOH 용액(v/w)이 되도록 메탄올에 용해시켜 검액으로 하였다²⁾.

Waring blender를 이용한 용매추출

인삼분말 10 g에 D.W. 20 mL를 가해 20분 정치시켰었다. 이후 인삼분말에 MeOH:CHCl₃ 혼합용매를 10:0, 7:3, 6:4, 4:6, 3:7, 2:8, 0:10으로 비율을 다르게 하여 각각 200 mL씩 가하였다. 이것을 Waring blender (Eberbach Corporation, Ann Arbor, Michigan, U.S.A.)에 가하고 2 분 30초씩 두번(total 5 min) 분쇄한 후 여과지(Whatman filter paper No. 40)로 여과하였다. 동여과액을 수포화 n-BuOH으로 다시 추출분획한 후 농축하였다. 얻어진 조사포닌을 5% MeOH 용액(v/w)이 되도록 메탄올에 용해시켜 검액으로 하였다. Saponin 분석은 TLC 및 HPLC를 이용하여 실시하였다. TLC는 silica gel TLC 판에 5 µL씩 점적하여 chloroform/methanol/water (65:35:10, low phase)로 전개한 후 30% 황산시액을 분무하여 110°C에서 5분간 발색시켜 사포닌을 확인하였다. HPLC 분석은 Lichrosorb-NH₂ column (Merck, 10 µm, ID 0.46 cm × 25 cm)에

acetonitrile/water/n-butanol (80:20:10)을 이동상으로 하여 differential refractometer (RI 401) 검출기로 검출, 정량하였다.

결과 및 고찰

Waring blender를 이용한 용매추출

인삼분말에 MeOH:CHCl₃ 혼합용매의 비율을 10:0, 7:3, 6:4, 4:6, 3:7, 2:8, 0:10으로 다르게 하여 첨가한 후 waring blender로 직접 추출분획하였다. 이 추출액을

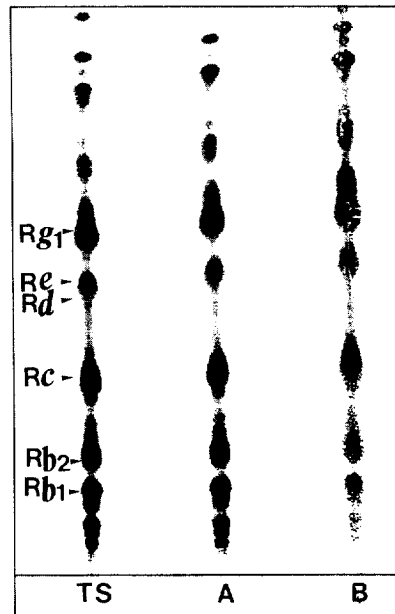


Fig. 1. TLC ginsenoside patterns of ginseng powders. TS: total saponin, A: crude saponin isolated with distillation method, B: crude saponin isolated with organic solvent and waring blender.

Table 1. Contents of crude saponin and major ginsenosides in ginseng powders extracted with n-butanol after methanol and chloroform extraction in using waring blender (% , Dry basis)

MeOH:CHCl ₃ Ratio	Crude saponin	Rg ₁	Re	Rd	Rc	Rb ₂	Rb ₁	Total
Control ¹⁾	4.35	0.33	0.43	0.35	0.38	0.26	0.79	2.54
10:0	15.36	0.13	0.27	0.14	0.40	0.53	0.57	2.04
8:2	14.96	0.21	0.34	0.12	0.33	0.45	0.49	1.94
7:3	9.85	0.14	0.33	0.17	0.46	0.64	0.67	2.41
6:4	9.02	0.09	0.20	0.10	0.30	0.36	0.40	1.45
4:6	6.77	0.13	0.29	0.14	0.37	0.50	0.54	1.97
3:7	3.99	0.11	0.21	0.11	0.22	0.31	0.26	1.22
0:10	1.29	0.04	0.13	0.08	0.17	0.15	0.13	0.70

¹⁾Control: ginseng powder was extracted with distillation method. Values were means of three experiments.

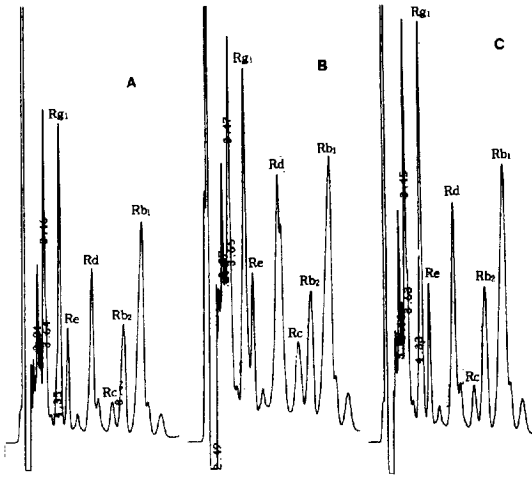


Fig. 2. HPLC ginsenoside patterns of ginseng powders.
 A: standard, B: crude saponin isolated with distillation method, C: crude saponin isolated with organic solvent and waring blender.

다시 *n*-butanol로 추출분획하여 HPLC로 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다.

Table 1에 나타낸 바와 같이 methanol과 chloroform의 용매추출비율을 7:3으로 하여 추출하였을 때 주종 사포닌인 Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁의 총사포닌 함량이 2.41% (대진물중)로 기존 방법의 2.54% (대진물중)과 가장 유사한 결과를 나타내었다. 사포닌 성분을 살펴보면 용매추출비 7:3으로 추출하였을 때 사포닌 Rb₂ 함량이 0.64%로 기존의 증류법의 0.26% 보다 더 많은 양이 추출되었다. 반면에 사포닌 Rg₁ 함량은 0.14%로 기존 방법으로 추출된 함량 0.33% 보다 적은 것으로 나타났다. 또한 Fig. 1 및 Fig. 2에서 보는 바와 같이 methanol과 chloroform의 용매비율을 7:3으로 하였을 경우 saponin의 TLC 및 HPLC pattern이 기존의 방법과 유사한 경향을 보여주었다.

그러나 Table 1에 나타낸 바와 같이 crude saponin 함량은 9.85%로 나타나서 기존의 방법으로 추출한 함량 4.35%보다 높게 나타났다. 이것은 용매를 이용한 직접추출시 saponin 화합물 이외에도 지용성 물질등 유기용매에 녹는 물질들이 함께 추출되어 그러한 것으로 생각된다.

현재 사용되고 있는 사포닌 분석법은 추출단계가 복잡하여 분석시간이 48시간/1시료 으로 길고 추출과

정 중 개인마다의 오차가 발생할 가능성을 안고있다. 이러한 문제를 개선하기 위하여 waring blender를 이용하여 사포닌 화합물을 추출한 결과 본 방법은 신속하게 5분만에 saponin 화합물을 추출할 수 있었다. 또한 사포닌의 분석시간도 9시간/1시료 로 짧았고 추출의 재현성도 우수한 것으로 생각된다. 그러나 saponin 이외의 목적하지 않은 물질도 함께 추출되므로 정량적으로 saponin을 분석 정량하려고 할 때에는 추후 saponin 이외의 물질의 제거방법을 강구하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

인삼으로부터 사포닌 화합물의 신속한 추출방법을 모색하기 위하여 waring blender 와 유기용매를 이용한 새로운 추출방법을 개발하였다. 본 방법은 기존의 인삼 증류추출방법과 비교해볼 때 6개의 주종 사포닌 (ginsenoside-Rb₂, ginsenoside-Rb₁, ginsenoside-Rc, ginsenoside-Rd, ginsenoside-Re, ginsenoside-Rg₁) 함량이 유사하여 유의성이 있는 것으로 생각된다. 유기용매는 메탄올과 클로로포름을 7:3의 비율로 사용하였을 때 사포닌 화합물이 잘 추출되었다. 6개의 주종사포닌을 합한 전체 사포닌 함량은 본 방법에서는 2.41% 이었고 기존의 방법에서는 2.54%이었다. 그러나 조사포닌의 함량은 본 방법이 기존의 방법보다 높은 것으로 나타났다.

문 헌

1. 박종대 : 고려인삼의 화학성분에 관한 고찰, 고려인삼학회지, **20**(4), 389 (1997)
2. Shibata, S., Ando, T. and Tanaka, O.: Chemical studies on oriental plant drugs and prosapogenin of the ginseng saponin. *Chem. Pharm. Bull.* **14**(10), 115-116 (1966)
3. Shibata, S., Ando, T., Tanaka, O., Meguro, Y., Soma, K. and Ida, Y.: Saponins and sapogenins of *Panax ginseng* C.A. Meyer and some *Panax* sp. *J. Yakugaku.*, **85**(8), 753-755 (1965)
4. Tanaka, H.: 代謝, 10. 臨時增刊號, 和漢藥, 東京, p.548 (1973)
5. 한국식품공업협회 : 식품공전, 서울, p.308 (1990)
6. 한국담배인삼공사 : 홍삼 및 홍삼제품 품질교범, 대전, p.19 (1990)

(1997년 8월 29일 접수)