

추출방법에 따른 인삼의 Polyacetylene 성분 회수율 비교 연구

박 찬 엘 · †박 창 호
경희대학교 화학공학과, ¹한방시스템공학과
(접수 : 2001. 4. 16., 게재승인 : 2001. 6. 5.)

Studies on the Extraction Efficiency of Polyacetylene from Korean Ginseng

Chan-El Park and Chang-Ho Park^{†1}

Departments of Chemical Engineering and Engineering in Oriental Medicine¹, Kyung Hee University, Yongin-si, Kyunggi-do 449-701, Korea

(Received : 2001. 4. 16., Accepted : 2001. 6. 5.)

The extraction efficiencies of panaxynol and panaxydol were optimal at 80°C with soxhlet method. The extraction efficiencies increased up to 45°C with shaking method. Amounts of panaxynol and panaxydol were determined by gas chromatography. Extracted quantities of panaxynol and panaxydol using the shaking method increased over a period of 14 hours. The efficiencies of panaxynol and panaxydol extraction by soxhlet and shaking methods were higher for smaller particle sizes. Upon water swelling treatment, extraction efficiencies of panaxynol and panaxydol decreased gradually with time for both methods.

Key Words : panaxynol, panaxydol, shaking method, soxhlet, extraction

서 론

인삼을 의약품으로 이용한 것은 약 4000 여년 전부터로 추정된다. 우리나라 인삼은 세계적으로 고려삼이라는 고유 명사를 얻을 정도로 수출에서 큰 몫을 담당하여 왔다. 인삼 이용의 역사가 오래된 것에 비하여 그 효능의 과학적인 규명은 미흡한 형편이기는 하지만 현대 의학이 소개된 현재에도 보약으로서 그 인기가 떨어지지 않고 있는 것은 오랜 임상 역사가 인정하는 약효와 부작용이 적고 안전도가 높은 생약이란 이유일 것이다.

인삼의 효능에 대한 과학적인 연구가 세계 각국에서 활발히 전개되어 의학, 생화학, 약리학 등 많은 분야에서 추진되었으며 간기능 회복(1), 독성물질 해독, 혈당강하작용, 항피로 효과(2), 동맥경화 발생의 예방(3), 노화억제효능, 방사선 장애회복 및 방어효과, 항스트레스 작용, 중추신경계에 대한 자극 및 진정작용, 조혈 및 빈혈 회복효과, 세포성 면역 및 체액성 면역 증강효과 등이 보고되어 왔다.

최근 인삼의 약리작용과 관련된 초기 연구들은 대부분 인삼의 화학성분 중 사포닌 또는 단백성분에 치중되어 왔다.

사포닌 성분과 비사포닌 물질 중에서 여러 종류의 암세포의 증식을 억제하는 성분으로 홍삼의 특유사포닌 성분인 ginsenoside-Rh₂(4)와 비사포닌 물질로서 지용성 분획물(석유 에테르 추출물)중 폴리아세틸렌(polyacetylene) 성분이 보고되었다(5).

폴리아세틸렌(polyacetylene) 성분은 오가과(Araliaceae)와 미나리(Umbelliferae)과 식물 등에 분포되어 있으며 화학적으로 이들 화합물은 3중 결합을 가지고 있는 다가불포화 알콜의 일종이다. 인삼의 폴리아세틸렌계 화합물의 구조적 특성은 hept-1-ene-4,6-diyne-3-ol의 기본 골격을 갖는 C₁₇의 화합물로서 현재까지 백삼 및 홍삼으로부터 20종이 분리 동정되었다. 이들 폴리아세틸렌 성분 중에서 panaxydol, panaxynol, panaxytriol 3 종이 대표적 성분이며 이 중 암세포에 대해 가장 강한 세포독성(cytotoxicity)을 나타내는 성분은 panaxydol로 보고되었다(5).

인삼 내 폴리아세틸렌 성분을 효과적으로 추출하기 위해 연구된 용매로는 보통 alcohol 또는 alcohol과 물의 혼합용매가 사용되고 있으나 ether, ethyl acetate 등도 사용된 바 있으며, 고순도 정제를 위하여 silica gel column chromatography 방법이 사용되어 왔다. 추출방법으로는 실온에서의 용매추출법(6)과 진탕추출법(7), 속실텐(soxhlet)법(8) 등이 널리 통용되고 있으며, CO₂를 이용한 초임계 추출 방법도 연구되었다(9). 또한 panaxydol과 panaxynol의 최대 추출조건을 확립할 목적으로 극성별로 몇 가지 용매를 선정하여 추출용매에 따른 추출율과 다양한 추출방법에 따른 추출율의 상호비교에 대한 연구도 수행되었으며(8), CO₂를 이용한 초임계 추출에서는

†Corresponding Author : Departments of Chemical Engineering and Engineering in Oriental Medicine, Kyung Hee University, Yongin-si, Kyunggi-do 449-701, Korea
Tel : +82-31-201-2531, Fax : +82-31-202-1946
E-mail : chpark@khu.ac.kr

추출시 온도와 압력의 영향에 대해 보고된 바 있다.

본 연구에서는 폴리아세틸렌 추출에 큰 영향을 줄 것으로 예상되는 변수로서 문헌에 보고되어 있지 않은 것으로 보이는 추출온도, 추출시간, 인삼입자의 크기, 물속에서의 팽윤시간이 panaxynol과 panaxydol 추출에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

본 실험에서 사용된 인삼시료는 금산 4년근 백삼을 사용하였고, 폴리아세틸렌 성분의 추출 용매인 ether와 petroleum ether는 Sigma Chemical Co. 제품을 사용하였으며 그 이외의 용매는 Duksan Pharmaceutical Co., Ltd. 제품을 사용하였다. Silica gel chromatography용 재료는 silica gel 60 (Merck, 0.063-0.2 mm)을 사용하였고 thin layer chromatography(TLC)는 silica gel 60F₂₅₄ plate (Merck, Aluminium sheet, 0.2 mm)를 사용하였다.

Polyacetylene 성분의 분리

분쇄한 인삼(900 g)을 메탄올을 용매로 하여 초음파 세척기로 2시간씩 3회 추출한 후 추출물을 여과하고 그 여과액을 감압농축 하였다. 이 농축물을 증류수, n-hexane:ethylacetate(1:1, v/v) 용액과 함께 넣고 분액여두에서 층을 분리하여 n-hexane:ethylacetate 용액 층을 선택한 후 magnesium sulfate anhydrous로 증류수를 제거하였고 이 시료를 감압농축하였다. 여기서 얻은 시료를 silica gel column chromatography를 이용하여 분리하였다(silica gel = 350 mL). 컬럼을 통과하여 나온 용매를 분획채집기에 모으고 각각의 분획을 TLC 상에서 전개하였다. 이때의 전개용매는 n-hexane:ethylacetate(6:1, v/v)로 하였다. 시험관 번호순으로 모은 시료를 감압농축 후 무게를 측정하였고 ¹³C NMR FT-Wide Bore(400MHz) AVANCE로 구조를 확인하여 그 결과 panaxynol과 panaxydol로 동정하였다.

Panaxydol과 panaxynol의 표준용액 제조

폴리아세틸렌계 성분들의 분석은 노(10)의 연구결과에 기초하여 수행하였다. Panaxydol, panaxynol의 농도가 각각 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm이 되게 ether 용액을 첨가하였고 이 용액을 표준용액으로 사용하였다. 농도의 분석은 FID가 장착된 gas chromatography(HP 5890 series II)를 이용하여 분석하였다. 주입부 온도는 200℃, 검출기 온도는 250℃로 하였으며 oven의 온도는 100℃(2 min)에서 시작하여 10℃/min의 속도로 증가시켜 최종온도 200℃에서 8 min 동안 유지시켰다. 분석용 컬럼은 HP-5 (0.2 mm ID×25 m, HP) 컬럼을 사용하였다.

추출온도를 변화시킨 실험에서의 추출 및 정량

추출온도에 따른 추출량을 알아보기 위해 분말 형태의 시료 10 g에 메탄올 100 mL를 가하였다. 진탕추출에서는 25, 35, 45℃로 6시간까지 추출한 상등액을 제거한 후 새 용매 100 mL를 가하여 6시간을 추가로 120 rpm으로 추출하였고, soxhlet 추출에서는 65, 80, 95℃로 12시간 동안 추출하였다. 진탕추출은 장치의 제한 때문에 45℃보다 높은 온도에서의

실험이 수행되지 못했다. 각 방법에서 얻어진 추출액을 여과하고 여액을 감압농축한 후 증류수 25 mL에 녹이고 petroleum ether-ether(4:1, v/v) 혼합용매 50 mL로 2회 추출하였다. 추출액의 감압농축물을 ether 10 mL로 정용하여 GC로 분석하였다(10).

추출시간에 따른 추출 및 정량

추출시간에 따른 폴리아세틸렌 성분의 추출량 비교 실험에서는 분말 형태의 시료 5 g에 메탄올 100 mL를 가하여 진탕추출에서 35℃, 120 rpm으로 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24시간 동안 추출하였다. 각 추출액을 감압농축 한 후 증류수 25 mL에 녹이고 petroleum ether-ether(4 : 1, v/v) 혼합용매 50 mL로 2회 추출하였다. 추출액의 감압농축물을 ether 10 mL로 정용하고 GC로 분석하였다.

인삼입자크기를 변화시킨 실험에서의 추출 및 정량

입자 크기에 따른 추출량 비교 실험에서는 먼저 인삼을 20, 40, 60 mesh 크기로 분쇄하였다. 각각의 크기별로 시료 10 g에 메탄올 100 mL를 가하여 진탕추출에서는 35℃, 120 rpm으로 6시간씩 2회 추출하였고, soxhlet 추출에서는 80℃에서 12시간 동안 추출하였다. 각 추출액을 감압농축 한 후 증류수 25 mL에 녹이고 petroleum ether-ether(4:1, v/v) 혼합용매 50 mL로 2회 추출하였다. 추출액의 감압농축물을 ether 10 mL로 정용하고 GC로 분석하였다.

수증 팽윤실험에서의 추출 및 정량

분말 형태의 시료 10 g을 1, 6, 12시간 동안 물 속에서 팽윤시킨 후 메탄올 100 mL를 가하고 진탕추출에서는 35℃, 120 rpm으로 6시간까지 추출한 상등액을 제거한 후 새 용매 100 mL를 가하여 6시간을 추가로 120 rpm으로 추출하였고, soxhlet 추출에서는 80℃에서 12시간 동안 추출하였다. 각 추출액을 감압농축 한 후 증류수 25 mL에 녹이고 petroleum ether-ether(4:1, v/v) 혼합용매 50 mL로 2회 추출하였다. 추출액의 감압농축물을 ether 10 mL로 정용하고 GC로 분석하였다.

결과 및 고찰

추출온도가 polyacetylene 성분의 추출에 미치는 영향

추출온도에 따른 panaxynol과 panaxydol의 추출량을 Figure 1에 나타내었다. 진탕추출에서 추출온도를 25℃에서 45℃로 증가함에 따라 추출량은 panaxynol이 30%, panaxydol이 45% 증가하였으며 panaxydol이 더 급격한 추출량의 증가를 나타내었다. 이것은 polyacetylene 성분의 추출은 추출온도와 밀접한 관계가 있다는 기존의 실험과 유사한 결과를 보여주고 있다(5). Soxhlet 추출에서는 진탕추출과는 달리 panaxynol과 panaxydol 성분 모두 온도가 65℃에서 80℃까지 증가함에 따라 추출량도 증가(panaxynol:41%, panaxydol:14%)하였지만 그 이상의 온도에서는 오히려 감소하였다. 이러한 결과는 panaxydol의 epoxy ring 구조의 높은 화학반응성 때문이라는 문헌보고(11)와 유사한 결과를 보였다. 즉 높은 온도 조건(수증기와 같은 열처리)에서는 panaxydol의 epoxy ring 구조가 시료 중에 포함되어 있는 saponin이나 당류 등과 같은 친핵체의 공

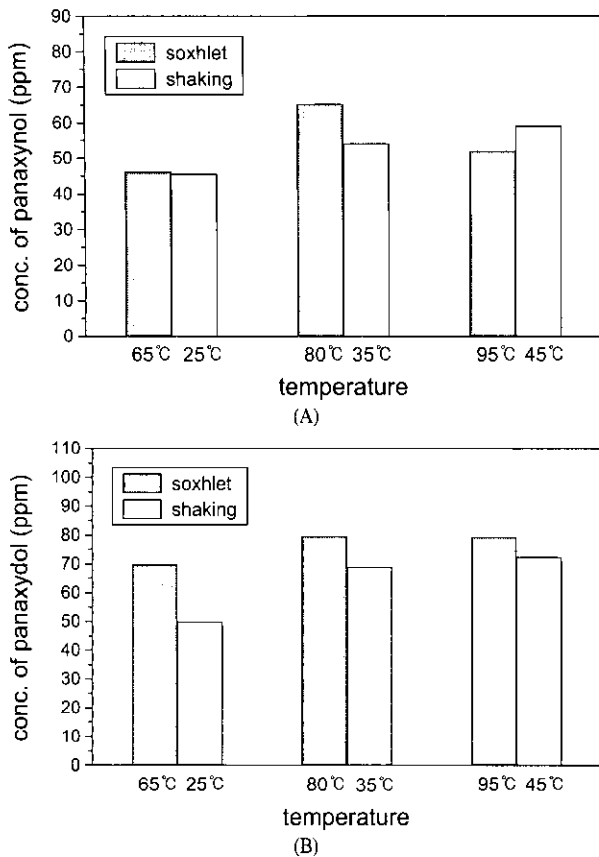


Figure 1. Effect of temperature on the extraction efficiencies of panaxynol (A) and panaxydol (B) using soxhlet and shaking methods.

격을 받아 heptadeca-1,8-trans-diene-4,6-diyne-3,10-diol, panaxytriol 이나 다른 분해산물이 생성되었을 가능성이 있고, 이 때문에 시료중에 포함된 상대적인 panaxydol의 함량이 감소된다는 것이다. 또한 panaxynol의 추출량도 온도가 증가함에 따라 증가하지만 어느 온도이상에서는 온도의 영향으로 친핵체의 영향으로 분해산물이 생겨 도리어 추출량을 감소시키는 것으로 사료된다. 진탕추출실험과 soxhlet 실험을 종합하여 보면 실온에서부터 80°C까지는 추출온도를 상승시키면 panaxynol과 panaxydol의 추출량이 증가하지만 그 이상의 온도에서는 오히려 감소하여 80°C가 최적 추출온도인 것으로 판단되며 이러한 결과는 기존의 홍삼 사포닌 성분의 용출율이 가장 높으면서도 그 조성이 안정한 온도인 80°C와 유사한 결과를 나타내었다(12).

추출시간이 polyacetylene 성분의 추출에 미치는 영향

추출시간이 홍삼 사포닌 조성에 미치는 영향에 대한 기존의 실험(12)은 물과 에탄올을 용매로 하여 80°C에서 8시간을 1회로 하여 5회 추출한 결과 3~4회 추출하는 것이 적합하다는 결과를 나타내었다. 인삼건조분말로부터 panaxynol과 panaxydol의 추출시간에 따른 최적의 추출시간을 찾기 위해 16시간까지는 2시간마다 추출하여 감압농축 하였고 그 이후로부터 24시간까지는 4시간마다 추출하였다. 추출시간에 따른 panaxynol과 panaxydol의 추출량은 Figure 2에 나타내었다. 먼저 추출시간에 따른 panaxynol의 추출량을 살펴보면 14시간까지는 추출시간이 증가함에 따라 panaxynol의 추출량도 증가하는 것을 나타내었으나 14시간 이상 추출시에는 도리어

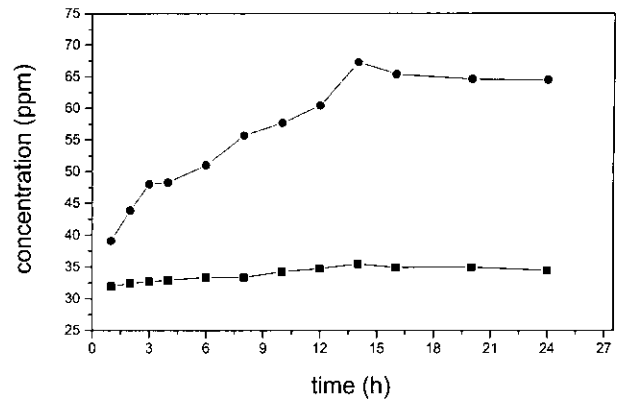


Figure 2. Time dependence of extracted amount of panaxynol (—●—) and panaxydol (—■—) using shaking method.

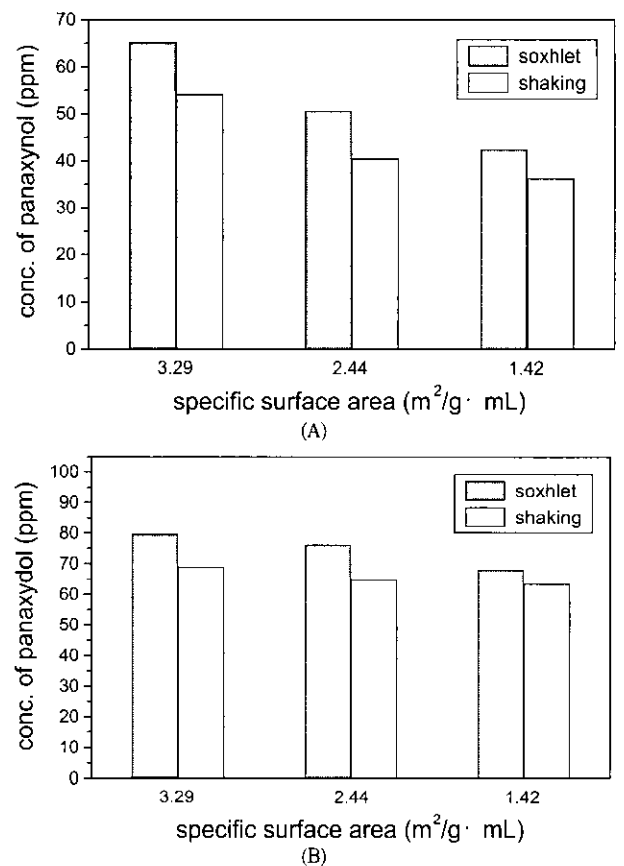


Figure 3. Effect of particle size on the extraction efficiencies of panaxynol (A) and panaxydol (B) using soxhlet and shaking methods.

추출량이 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 panaxydol도 마찬가지로써 14시간 동안은 추출시간이 증가할수록 추출량도 증가하였지만 그 이상의 시간에서는 추출량이 감소하였다. 14시간 동안 추출 시 추출량을 살펴보면 panaxynol은 11%, panaxydol은 72%의 증가를 나타내었다. 따라서 인삼(백삼) 폴리아세틸렌 성분의 추출에 미치는 최적 추출시간은 추출시간이 14시간일 때라고 할 수 있다.

인삼입자크기가 polyacetylene 성분의 추출에 미치는 영향
입자크기에 따른 panaxynol과 panaxydol의 추출량을 Figure 3

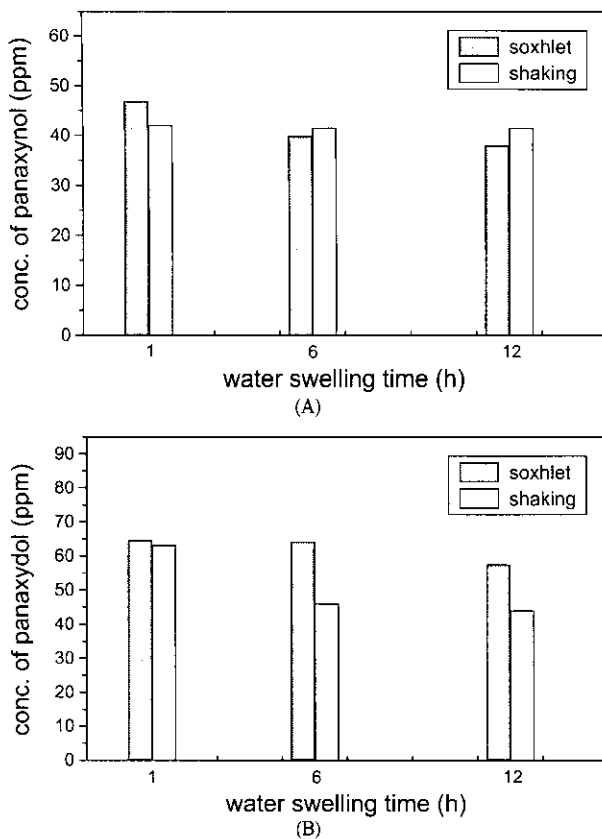


Figure 4. Effect of water swelling on the extraction efficiencies of panaxynol (A) and panaxydol (B) using soxhlet and shaking methods.

에 나타내었다. 분쇄된 작은 입자는 비표면적의 증가로 유효한 성분의 추출과 반응능력, 물리적 특성 등이 상승한다. Soxhlet 추출과 진탕추출에서 panaxynol 성분은 입자의 크기가 감소할수록 추출량이 약 50% 증가함을 나타내었다. 그리고 panaxynol 성분의 추출량은 soxhlet 추출이 진탕추출에 비하여 큰 값을 나타내었다. Panaxydol 성분에 있어서도 마찬가지로 soxhlet 추출과 진탕추출 모두 입자의 크기가 감소할수록 추출농도가 각각 17%, 8% 증가하는 것을 나타내었으며 soxhlet 추출이 진탕추출보다 더 큰 추출량을 나타내었다. 입자크기에 따른 각 성분의 추출량 결과는 한약재에 있어서도 입자의 크기가 수율을 더욱 높일 수 있는 조건이 될 수 있음을 보여주었다.

수중팽윤이 polyacetylene 성분의 추출에 미치는 영향

수중팽윤에 따른 panaxynol과 panaxydol의 추출량을 Figure 4에 나타내었다. 시료 10 g의 부피는 17 mL이었고 증류수와 혼합하여 총 부피를 50 mL로 하여 1 h, 6 h, 12 h 동안 팽윤시켰다. Panaxynol과 panaxydol 성분 모두 팽윤 시간이 경과할수록 soxhlet 추출과 진탕추출에서 추출량이 감소하였다. Panaxynol은 진탕추출에서 3%, soxhlet 추출에서 19% 감소하는데 그쳤으나 panaxydol은 진탕추출에서 30%, soxhlet 추출에서 11% 감소하였다. 이러한 결과로 비극성 물질인 폴리아세틸렌 성분 중 panaxydol의 epoxy ring은 물, 사포닌, 당류 등과 같은 친핵체의 공격을 받아 많은 반응 생성물이 생기는 것을(11) 확인할 수 있었다. 높은 온도 조건에서는 panaxydol

의 epoxy ring 구조가 시료 중에 포함되어 있는 saponin이나 당류 등과 같은 친핵체의 공격을 받아 다른 화합물로 전환되었을 가능성이 있고, 이 때문에 시료 중에 포함된 상대적인 panaxydol의 함량이 감소된다는 것이다.

요 약

백삼의 주요 폴리아세틸렌 성분인 panaxynol과 panaxydol의 추출방법에 대한 추출량을 비교하고 폴리아세틸렌 성분 추출에 미치는 온도 및 입자크기의 영향, 추출시간에 따른 추출량 비교, 수중팽윤을 통한 폴리아세틸렌 성분의 정량에 대한 연구를 수행하여 그 결과를 확인하였다. 추출온도에 따른 진탕추출에서의 추출량은 panaxynol, panaxydol 모두 25℃에서 45℃로 온도가 증가함에 따라 추출량 또한 증가(panaxynol:30%, panaxydol:45%)하는 것을 나타내었다. 그러나 soxhlet 추출에서는 진탕추출과는 달리 panaxynol과 panaxydol 성분 모두 65℃에서 80℃까지는 온도가 증가함에 따라 추출량도 증가(panaxynol:41%, panaxydol:14%)하였지만 그 이상의 온도(95℃)에서는 감소하는 결과를 나타내어 80℃가 최적 추출온도인 것으로 판단된다. 추출시간에 따른 추출량(진탕추출)은 두 성분 모두 14시간까지는 추출시간이 증가할수록 추출량도 증가하는 것을 나타내었다(panaxynol:11%, panaxydol:72%). 입자크기에 따른 panaxynol과 panaxydol의 추출량은 입자의 크기가 감소할수록 soxhlet 추출에서 panaxynol은 54%, panaxydol은 17% 추출량이 증가하였으며 진탕추출에서는 panaxynol은 50%, panaxydol은 8% 증가하였다. 수중팽윤에 따른 추출량은 soxhlet 추출에서는 panaxynol과 panaxydol이 각각 19%, 11%의 감소폭을 나타내었고 진탕추출에서는 panaxynol은 3%, panaxydol은 30% 정도 감소하는 것을 나타내었다. 이는 비극성 물질인 폴리아세틸렌 성분 중 panaxydol의 epoxy ring은 물, 사포닌, 당류 등과 같은 친핵체의 공격을 받아 많은 반응 생성물이 생기는 것을 확인할 수 있었다.

감 사

본 연구는 (주)싸이클로젠의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Hahn, D. R. (1978), Pharmacological of the Ginsenosides Rb1, Rg1 and Re, *Proceedings of the 1st International Symposium on Ginseng*, 135.
- Takagi, K. (1974), Pharmacological studies on ginseng, *Proceedings of the 1st International Symposium on Ginseng*, 119.
- Yamamoto, M., Y. Hayashi, and A. Kumagai (1980), Lipid metabolism and several saponin principles, *Proceedings of the 3rd International Symposium on Ginseng*, 115.
- Odashima, S., Y. Nakayabu, N. Honjo, and S. Arichi (1979), Induction of phenotypic reverse transformation by ginsenosides in cultured Morris hepatimacells, *Europ J.*

- Cancer*, **15**, 885-892.
5. Matsunaga, H., M. Katano, H. Yamamoto, H. Fujito, M. Mori, and T. Takata (1990), Cytotoxic activity of polyacetylene compounds in *Panax ginseng* C.A. Meyer, *Chem. Pharm. Bull.*, **38(12)**, 3480-3482.
 6. Takahashi, M., K. Isoi, Y. Kimura, and M. Yoshikura (1964), Studies on the Components of *Panax Ginseng* C. A. Meyer, *J. Pharm. Soc. Japan*, **84(8)**, 752-756.
 7. Fujimoto, Y. and M. Satoh (1987), *Phytochem*, **26**, 2850.
 8. Nho, K. B. and H. J. Sohn (1989), Comparative Studies on Methods of Extracting Polyacetylene Compounds from White Ginseng, *Korean J. Ginseng Sci.*, **13(2)**, 183-188.
 9. Yoo, B. S., H. J. Lee, S. R. Ko, D. C. Yang, and S. Y. Byun (2000), Studies on the Extraction of Polyacetylene from Korean Ginseng Using Supercritical Carbon Dioxide, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15(1)**, 80-83
 10. Nho, K. B. and H. J. Sohn (1989), Determination of the concentration of panaxynol, panaxydol and panaxytriol by Capillary-GC(FID), *Korean J. Ginseng Sci.*, **13(2)**, 198-201.
 11. Kim, S. I. (1988), Studies on the Cytotoxic Components of the Korean Ginseng Roots, Ph. D. Dissertation, Dept. of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon, 8-18.
 12. Sung, H. S., C. B. Yang, and W. J. Kim (1985), Effect of Extraction Temperature and Time on Saponin Composition of Red Ginseng Extract, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **17(4)**, 241-246.