

韓國產 植物性食品 中の Saponin 系 成分에 관한 豫備調査(I)

中央大學校 食品加工學科

南宮 錫* · 尹 光 老

=Abstract=

Screening for Saponins of the Vegetable Foods in Korea (I)

Nam Kung, Sok · Yoon, Kwang-Ro

Dept. of Food Technology, Chung-Ang University

Sixteen vegetable food extracts were screened for the presence of saponin with the methods of foaming test, hemolytic test and Liebermann-Burchard reaction.

Six samples were found to contain saponin.

The ethanal extract of six positive samples and its hydrolysates, sapogenin parts and sugar parts were applied *t.l.c* to detect saponin moiety.

I. 緒 論

Saponin은 식물체에 널리 분포되는 배당체의 일종으로 대부분 강한 苦味를 가지고 있으며 수용액 중에서 지속적인 거품을 형성하고 赤血球를 용해시키는 溶血作用¹⁾을 가지는 등의 특성을 가지고 있는 물질로 알려져 있다.

Saponin들은 이와 같은 일반적인 특성 외에도 다양한 生理活性이 알려져 있고 실제적으로 의약품의 원료로 응용되는 것들도 많다.

그러나 식품중에 함유된 saponin들의 일반적인 역할에 대하여는 활발한 연구가 이루어져 있지 않은 실정으로 식품 중의 saponin들을 단순한 溶血毒으로 취급하려는 경향이 있다. 이들이 溶血毒의 가능성은 지니고 있지만 George²⁾ 및 기타 여러 연구자들³⁻⁵⁾의 연구에 의하면 경구투여할 경우 독성은 문제가 되지 않는다고 한다.

한편 어떤 saponin들이 ATPase에 대하여 일종의 억제효과를 가진다는 사실⁶⁾, permeability에 대한 영

향^{7,8)}, 사탕무 중의 saponin이 yeast에 의한 醱酵를 억제한다는 사실⁹⁾ 등의 연구결과가 알려져 있고 소장에서 Ca염을 재흡수하는데 영향을 미칠 수 있다는 연구¹⁰⁾ 그리고 cholesterol과 결합하여 안전한 complex를 형성하므로써 血清 또는 肝中の cholesterol의 양을 저하시킬 수 있다는 실험결과도 알려지고 있다^{11,12)}. 이들 연구결과 외에도 식품가공분야에서 활용될 수 있는 연구들이 있다. 즉 항곰팡이 작용¹³⁾, 표면장력을 저하시키므로써 거품을 안정화시키는 역할¹⁴⁾, 완충제로써의 가능성¹⁵⁾, spray-drying시에 보호교질로 유용하다는 사실¹⁶⁾들이 밝혀져 있다.

이러한 연구결과들은 식품을 통하여 saponin을 장기적으로 섭취하게 될 때 인간의 영양대사에 어떤 형태 단간에 영향을 미칠 것이라는 가능성을 시사하는 것이며 식품가공분야에서의 활용성을 제시하는 것 같다.

본 연구자들은 식품중에 함유된 saponin들의 인체에 대한 일반적이며 공통적인 영향을 밝히고 그 활용성을 모색하기 위한 예비적인 실험으로써 우리나라의 식물성 식품중의 saponin계 물질의 분포상태를 조사하고자 16종의 식품을 임의로 선택하여 본 실험을 진행하였다.

실험부에 기재된 방법에 따라 건조된 재료를 80% methanol^{17,18)}로 추출하고 이에 대하여 saponin의 일

* 서울보건전문학교 영양과

Dept. of Nutrition, Seoul Health Junior College

반적인 검출방법인 泡沫試驗¹⁹⁾, 溶血試驗²⁰⁻²²⁾, Liebermann-Burchard 시험²³⁾을 하여 saponin의 존재 여부를 밝히었다. 3가지 확인방법에 모두 양성을 나타낸 재료의 saponin 부분 및 이의 가수분해물에 대하여 상법에 따라 *t.l.c.*²⁴⁾를 시행하였다.

II. 實驗方法

材 料

본 실험에 사용된 재료는 1976년 8월에서 9월 초순까지 경기도 광주부근에서 직접 채취하고 시기적으로 곤란할 것은 시중에서 구입한 후 정확히 선별 풍진하고 분말로 하여 시료로 이용하였다. 재료종류는 Table 1. 과 같다.

抽 出

시료 약 100 gm을 600 ml의 skellysolve B로 2회 가온추출하여 지용성 물질을 제거한 후 다시 600 ml의 80% methanol로 3회 반복추출하고 이 추출액들을 합한 후 감압농축하였다. 이 methanol 액기스를 ether로 2회 추출하여 ether 가용부를 제거하고 남은 잔사를 무수 ethanol로 처리한후 무수 ethanol 가용부만을 분리하였다. 이 무수 ethanol 용액의 전량을 100 ml로 조정후 검정시험에 이용하였다.

泡沫試驗¹⁹⁾

위의 추출조각에서 얻은 무수 ethanol 용액 1 ml를 증류수 10 ml에 넣은 후 수욕상에서 가온하고 잘 흔들어 준 후 30분 이상 지속되는 거품의 형성여부를 관찰하였다.

Liebermann-Burchard 反應²³⁾

소량의 ethanol 액기스를 시계접시에 취하고 약 1 ml의 acetic anhydride에 녹인 다음 c-H₂SO₄ 1~2 방울을 떨어뜨리고 접제면에 적자색 또는 오록색이 나타나는지 여부를 관찰하였다.

溶血試驗²⁰⁻²²⁾

i) 표준혈구현탁액의 제조

牛血 10 ml를 0.85% NaCl 용액 100 ml와 섞은 다음 혈액의 응고가 일어나지 않도록 조용히 흔들어 준 후 원심분리하여 혈구만을 모았다. 같은 조각을 2회 반복한 후 얻어진 혈구에 다시 0.85% NaCl 약 40 ml를 가하여 잘 섞어준 후 이 혈구현탁액 10 ml에 digitonin

용액(10 mg/100 ml 85% ethanol) 1 ml을 가하여 잘 섞고 실온에서 5분간 방치하였을 때 완전한 용혈이 일어나도록 혈구현탁액을 희석하였다. 전체 혈구현탁액도 같은 비율로 희석하여 준 후 실험시까지 냉장고에 보존하였다.

ii) 검 출

추출조각에서 얻은 무수 ethanol 용액 1 ml에 혈구현탁액 10 ml를 가한 후 조용히 혼합하고 실온에서 5분간 방치한 후에 용혈여부를 관찰하였다.

Saponin 분획의 가수분해

추출조각에서 얻은 무수 ethanol 용액을 농축한 액기스에 N·H₂SO₄를 과량을 가하여 잘 섞어 준 후 6시간동안 가열판 위에서 가열하여 가수분해 시켰다. 가열이 끝난 후 실온까지 냉각하고 암모니아로 내용액을 중화하였다. 이 중화된 가수분해액을 CHCl₃으로 진탕추출하여 유기용매층으로 이행되는 非糖體와 수층으로 이행되는 糖體를 분리하였다.

Thin layer Chromatography²⁴⁾

Silica gel G (E. Merck 0.02~0.5mm) plate (250 μ)를 상법에 따라 제작하고 추출조각에서 얻은 무수 ethanol 액기스와 가수분해산물인 非糖體와 糖體에 대하여 Table 2.와 같은 전개용매 및 발색제를 사용하여 *t.l.c*를 하고 spot를 검출하였다.

III. 結果 및 考察

무수 ethanol 액기스에 대한 saponin 검출반응중 泡沫試驗에서는 머위, 우영의 뿌리를 제외하고 모두 양성을 나타내었다. Liebermann-Burchard 反應에 대하여는 머위, 마늘, 파, 가지, 생강을 제외한 모든 재료가 양성이었으며 溶血試驗에서는 머위는 완전한 음성을 띄었고 마늘, 파, 가지는 5분 이내에 용혈이 되었으나 침전물이 생성되었고 고구마와 고구마순은 5분이 내에 완전한 용혈반응을 나타내었다. 감자, 팔, 깻잎, 우영, 생강, 호박은 5분이 지나고 나서 용혈이 일어났고 검은등부, 흰등부, 완두콩, 강낭콩은 1시간 이상 경과한 후에 서서히 용혈이 되었다. 이를 실험결과는 Table 1과 같다.

이상 3가지 일반적인 saponin 검출반응을 통하여 볼 때 감자, 고구마, 고구마순, 팔, 깻잎, 호박의 경우는 泡沫試驗, 溶血試驗, Liebermann-Burchard 반응에 모두 양성이므로 saponin의 함유가 확실하다고 본다. 머

Table 1. Saponin Tests of Various Vegetable Foods

Sample (Scientific Name)	Foaming test	Liebermann-Burchard test	Hemolytic test
팥 (<i>Phaseolus angularis</i>)	+	+	+
검은동부 (<i>Phaseolus angularis</i>)	+	+	±*
흰동부 (<i>Phaseolus angularis</i>)	+	+	±
완두콩 (<i>Pisum sativum</i>)	+	+	±
강낭콩 (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	+	+	±
감자 (<i>Solanum tuberosum</i>)	+	+	+
고구마 (<i>Ipomoea batatas</i>)	+	+	++**
고구마순 (<i>Ipomoea batatas</i>)	+	+	++
머위 (<i>Petasites japonicus</i>)	-	-	-
갯잎 (<i>Perille frutescens</i>)	+	+	+
우엉 (<i>Arctium lappa</i>)	-	+	+
마늘 (<i>Allium sativum</i>)	+	-	++(ppt)
파 (<i>Allium fistulosum</i>)	+	-	++(ppt)
가지 (<i>Solanum melongena</i>)	+	-	++(ppt)
생강 (<i>Zingiber officinale</i>)	+	-	+
호박 (<i>Cucurbita maxima</i>)	+	+	+

*± : hemolyzed after 60 min.
 **++ : hemolyzed within 5min.

Table 2. Thin Layer Chromatography for the Saponin-positive Samples

Solvent	Ethanol extract**		Hydrolysates				
			Sapogenin part***				Sugar part****
	n-BuOH: HOAc:H ₂ O (4:1:5)	CHCl ₃ : MeOH:H ₂ O (65:35:10)	n-BuOH: HOAc:H ₂ O (4:1:5)	CHCl ₃ : MeOH (94:6)	Benzene: Acetone (80:20)	n-BuOH: HOAc:H ₂ O (4:1:5)	
팥 (<i>Phaseolus angularis</i>)	0.21* 0.88	0.27	0.83	0.83	0.55 0.83	0.87	
감자 (<i>Solanum tuberosum</i>)	0.21 0.35 0.78 0.88	0.27 0.45	0.70 0.83	0.63 0.83	0.83	0.87	
고구마 (<i>Ipomoea batatas</i>)	0.21 0.35 0.48 0.78 0.88	0.27 0.45 0.63	0.70 0.83	0.63 0.83 0.90	0.55 0.83 0.90	0.22 0.87	
고구마순 (<i>Ipomoea batatas</i>)	0.21 0.35 0.48 0.88	0.27 0.45 0.63	0.70 0.83	0.83 0.90	0.83 0.90	0.22 0.87	
갯잎 (<i>Perille frutescens</i>)	0.35 0.88	0.45	0.83	0.83	0.73	0.22 0.72 0.87	
호박 (<i>Cucurbita maxima</i>)	0.21 0.35 0.63 0.78 0.88	0.27 0.45	0.70 0.83	0.83	0.55 0.83	0.87	

Absorbent: Silicagel G (E. Merck)

*: R_f values

** : 10%-H₂SO₄ (110°C, 10min) detection

*** : 10%-H₂SO₄ (110°C, 10min) detection

**** : Ammonia-AgNO₃ (105°C, 5min) detection

위의 경우는 반대로 모든 반응에 음성이므로 saponin 계 성분물 가지지 않은 것으로 판단되며 기타 다른 재료들은 가능성은 가질 수 있으나 검출반응의 결과가

saponin 함유를 단언할 정도는 못된다고 사료된다.

한편 대부분의 재료가 溶血反應에 양성으로 나타나는 것은 식물계 내지는 식물성 식품 중에 용혈성분이

광범위하게 분포되어 있다는 점을 암시하는 것으로 흥미를 불러 일으키는 사실로 보인다.

Saponin 함유가 명확하다고 판단되는 팔, 감자, 고구마, 고구마순, 껌잎, 호박의 무수 ethanol 엑기스에 대한 t.l.c.에서 saponin 검출에 흔히 이용되는 전개용매, CHCl_3 -Methanal- H_2O (65 : 35 : 10) 및 n-BuOH-HOAc- H_2O (4 : 1 : 5)로 각각 전개하고 saponin계 물질의 발색제인 10% $\text{H}_2\text{SO}_4^{24)}$ 로 110°C에서 발색시켰을 때 Table 2와 같은 Rf치를 가지는 여러 개의 반점을 확인하였다.

한편 무수 ethanol 엑기스를 $\text{N-H}_2\text{SO}_4$ 로 가수분해시키고 CHCl_3 으로 진탕하여 분리한 sapogenin part와 sugar part에 대하여 각각 sapogenin 검출 및 糖 검출에 응용되는 전개제와 발색제를 이용하여 t.l.c를 하였던 바 sapogenin체 및 糖體라고 추측되는 spot를 얻었다(Table II).

IV. 結 論

공시재료 16종 중 팔, 감자, 호박, 고구마순, 고구마, 껌잎 중에 saponin이 존재함을 泡沬試驗, 溶血試驗, Liebermann-Burchard 반응을 통하여 확인하였다. 이들 결과를 thin layer chromatography를 통하여 재확인하였고 이들 saponin 양성인 재료 중에는 적어도 1종 이상 3내지 5종의 saponin계 물질이 분포되어 있는 것으로 추정되었다.

參 考 文 獻

- 1) Wall, M.E., et al.: *Anal. Chem.* 24, 1337, 1952.
- 2) George, A.J.: *Food Cosmet. Toxicol.* 3, 85, 1965.
- 3) Bory, G.: *Arch. Inst. Razi.* 11, 53, 1959.
- 4) Hubik, J.: *Cesk. Farm.* 12, 316, 1963.
- 5) Oser, B.L.: *Food Cosmet. Toxicol.* 4, 57, 1966.
- 6) Mircevova, L., Simonova, A.: *Collection Czech.*

- Chem. Commun.* 31, 4145, 1966.
- 7) Dourmashkin, R.R., et al.: *Nature* 194, 1116, 1962.
- 8) Bangham, A.D., Horne, R.W.: *Nature* 196, 952, 1962.
- 9) Macher, L.: In "Die Hefen" (Reiff, F., et al., Eds.) Band II 1960, p. 399, Verlag Hans Karl, Nürnberg.
- 10) Eichler, O., et al.: *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 126, 393, 1960.
- 11) Newman, H.A.I., et al.: *Poultry Sci.* 37, 42, 1958.
- 12) Griminger, P., Fisher, H.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 99, 424, 1968.
- 13) Tschesche, R., Walff, G.: *Z. Naturforsch* 20b, 543, 1965.
- 14) Tusek, I.: *Kem. Ind. (Zagreb)* 13, 617, 1964.
- 15) Arshad, M., et al.: *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* 8, 99, 1965.
- 16) Ban, T.: *Kogyo Kagaku Zasshi* 64, 1995, 1961.
- 17) Wall, M.E.: *Research Triangle Institute, Durham, N.C., Personal Communication.*
- 18) Wall, M.E. et al.: *Anal. Chem.* 24, 1337, 1952.
- 19) Farnsworth, N.R.: *J. Pharm. Sci.* 55-3, 258, 1966.
- 20) Estores-Anzaldo, F., et al.: *Phillippine J. Sci.* 85, 305, 1954.
- 21) *ibid* 86, 233, 1957.
- 22) *ibid* 87, 191, 1958.
- 23) Simes, J.J.H., et al.: *Australia Commonwealth Sci. Ind. Res. Organ., Bull.* 281, Melbourne 1959.
- 24) Stahl, E., Jork, H.: In "Thin-Layer Chromatography" (Stahl, E., Eds), 1974, Springer-Verlag, Berlin.