

人蔘抽出物 含有菓子類의 Total Saponin의 定量

金 熒 洙 · 李 喜 子

延世大學校 食生活科

(1978년 7월 10일 수리)

Determination of Total Saponin in Ginseng Jellies and Candies

Hyong-Soo Kim and Hee-Ja Lee

Dept. of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul

(Received July 8, 1978)

Abstract

To determine the total saponin extracted by Shibata method, of Ginseng jellies and candies, vanillin-H₂SO₄ coloring method, direct drying method and thinchrographic method were compared after samples were treated with methanol to remove sugars. Thinchrographic method was the more reproducible than direct drying method and vanillin-H₂SO₄ coloring method was interfered significantly by sugars.

緒 論

우리나라에서는 人蔘茶가 食品으로 分類되어 있고, 人蔘 jelly, 人蔘 caramel, 人蔘 nectar 등 人蔘抽出物을 含有한 菓子類나 nectar類까지 제조되어 流通되고 있는 실정인데, 이들 食品이 計劃한 바 力點이 人蔘成分의 混合에 있다. 그러나 이들 食品의 品質規制面에서 人蔘成分의 含量을 측정하는 方法은 전혀 개발된 바 없다.

1963년에 Shibata 등^(1,2)은 人蔘根에서 total saponin을 methanol로 抽出精製하여 定量하는 方法을 개발한 바 있으며, Hiai⁽³⁻⁶⁾ 등은 조제한 saponin을 vanillin-H₂SO₄ 法으로 발색하여 분광비색하는 方法을 발표한 바 있다. 또한 金^(7,8) 등은 人蔘抽出物 또는 人蔘茶에서 total saponin을 Shibata法으로 抽出하여 thinchrograph를 利用하여 各 saponin fraction을 分離하여 相對的인 含量 比로 발표한 바 있다.

본 실험에서는 人蔘抽出物 含有菓子類中에서 人蔘 jelly와 人蔘 candy 中の total saponin 定量法에 관하

여 上記方法을 적용하여 실험한 바 그 結果는 다음과 같다.

Vanillin-H₂SO₄法에 의한 定量

1. 人蔘抽出物(Ginseng extract)中 total saponin의 定量

人蔘抽出物의 조제는 人蔘 및 人蔘製品 규제에 관한 법률 시행규칙 제4조 人蔘엑기스의 제조 方法중 제1항 酒精과 물 병용 方法에 따라 조제하였다. 즉 人蔘粉末을 95% ethanol로 3~4時間 抽出한 후 여과하여 이것을 증발농축한 것과 다시 酒精抽出 잔사에 물을 가하고 抽出한 후 여과하여 이것을 농축한 것을 합하여 수분 40%가 되도록 조제한 것이며, 이 때 수율은 55% 였다.

이 人蔘抽出物 0.5 g을 100 ml의 증류수에 녹인 후 25 ml을 취하고 여기에 다시 증류수 25 ml을 가하여 50 ml로 한 후 Shibata⁽¹⁾法에 의하여 total saponin을 抽出하였다. 즉 시료용액 50 ml을 separating funnel에 넣고 ethyl ether 30 ml을 가하여 흔든 후 정지하였다가 ether

可溶物을 제거한다. 이러한 조작을 3회 반복한 다음 물포화 n-butanol 30 ml을 가하고 흔들어서 butanol층을 분리하기를 3회 반복한다. 이렇게 분리한 butanol층에 증류수 20 ml을 가하여 씻어내는 조작을 5회 반복한 후 이 butanol층을 감압증발건고하고 여기에 다시 80% ethanol 120 ml을 가하여 녹이고 60 ml씩 2등분하여 시료 ①과 시료 ②로 하였으며, 시료 ②에는 sucrose를 2% 첨가 용해하였다. 한편 人蔘抽出物 0.5 g을 100 ml로 용해한 것에서 25 ml을 취하고 air dryer로 건조한 것을 80% ethanol 120 ml에 용해하여 시료 ③으로 하였다.

시료 ①, ②, ③에서 각각 0.5 ml을 취하여 vanillin-H₂SO₄法으로 發色하여 분광비색 측정하였다. 즉 시료 용액 0.5 ml에 8% vanillin 용액(800 mg of vanillin/10ml of 99.5% v/v ethanol) 0.5 ml을 가하고 다시 72% H₂SO₄용액(冷 저장) 5ml을 조심스럽게 가하고 얼음물 속에서 잘 혼합한다. 이것을 60°C 항온 water bath에서 10分間 정확히 가온하여 발색시키고 즉시 얼음물 속에서 냉각시킨다. 시료를 제외하고 전과정을 동일하게 처리한 것을 blank로 하여 spectrophotometer(Spectronic 20)를 사용하여 파장 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 여기서 얻어진 O.D.값을 서로 비교한 결과는 表 1과 같다.

본 실험에서 計劃한바 시료 ①, ②, ③중의 total saponin의 含量은 同一濃度로 조정하였으며, 시료가 人蔘根의 ethanol 抽出物이기 때문에 비교적 순수하게 分離된 것으로 보여진다. 시료 ②는 시료①에 2%의 sucrose를 첨가 용해한 것이며, 이 시도는 saponin에 대한 Vanillin-H₂SO₄ 發色法에 있어서 그 發色이 Saponin에 대하여 선택적으로 이루어지는가를 보기 위한 실험구이다. 시료 ③은 人蔘根의 ethanol 抽出物을 그대로 회색하여 發色試料로 하였기 때문에 saponin 이외의 糖이나 기타 ether 可溶物이 混雜되어 있는 상태이다.

試料 ①, ②, ③에 대해서 그 O.D.값을 비교한 바 1차와 2차에 있어서 소소한 오차가 있었으나 대체적인 경

Table 1. Optical density of total saponin prepared with Ginseng extract

	1st	2nd
Sample ①	0.75	0.71
Sample ②	0.94	0.96
Sample ③	0.85	0.82

Sample ①; Ginseng ex. 0.5 g을 Shibata法으로 추출.
Sample ②; Sample ①에 2% sucrose 첨가
Sample ③; Ginseng ex, 0.5 g을 추출하지 않고 그대로 건조함.

향을 읽을 수 있으며, 시료①의 O.D. 0.75에 비하여 sucrose가 2% 녹아 있는 시료 ②는 0.94로 높아졌으며 人蔘抽出物을 그대로 發色시킨 시료③은 0.85로 중간값을 보이고 있다. 이와같은 결과로 미루어 볼 때 saponin에 대한 vanillin-H₂SO₄法은 선택적인 發色이 아니며, 糖類가 混入되어 있을 때는 定量的 意味가 없다는 것을 말할 수 있다.

2. 人蔘 jelly中 total saponin의 定量

常法에 따라 조제한 人蔘 jelly 3種(무첨가, 人蔘 ex. 0.5% 첨가, 1.0% 첨가등) 각각 5 g에 80% methanol 30 ml을 넣고 역류냉각기를 부착한 후 가열하여 Ginseng saponin을 抽出한다. 5회 반복추출하여 합한 후 이것을 증발농축하고 다시 증류수 50 ml에 녹인 후 Shibata法에 의하여 전항에서와 같이 total saponin을 추출한다. 이것을 감압증발건고 하여 80% ethanol 25 ml에 녹이고 그 중에서 0.5 ml을 취하여 vanillin-H₂SO₄法에 의하여 발색하여 전항에서와 같이 분광비색하였으며, 그 O.D. 값을 서로 비교한 결과는 다음 3항의 人蔘 candy의 경우와 합하여 表 2에 표시하였다.

3. 人蔘 candy中 total saponin의 定量

常法에 따라 조제한 3種의 人蔘 candy(무첨가, 人蔘 엑기스 0.7% 첨가구, 1.4%첨가구등)를 분쇄하여 각각 5 g씩 취한 후 80% methanol 30 ml을 가하고 역류냉각기를 부착하여 water bath 위에서 가열하여 Ginseng saponin을 抽出한다. 5회 반복 추출하여 합한 후 이것을 증발농축하고, 다시 증류수 50 ml(人蔘엑기스 0.7% 첨가구), 100 ml(인삼엑기스 1.4% 첨가구)로 녹였다. 이것을 Shibata法에 따라 total saponin을 抽出 분리하였으며, 이 butanol 층을 감압증발건고한 후 80% ethanol 25 ml에 녹였다. 그 중에서 0.5 ml을 취하여 Vanillin-H₂SO₄法으로 발색하여 전항에서와 같이 540 nm에서 분광비색하여 그 O.D.값으로 비교한 結果는 表 2와 같다.

Tabl 2. Optical density of total saponin in Ginseng jelly and Ginseng candy

		1st	2nd
Ginseng Jelly	① Normal jelly	0.09	0.18
	② 0.5% G.E. added	0.16	0.27
	③ 1.0% G.E. added	0.27	0.22
Ginseng Candy	① Normal candy	0.08	0.26
	② 0.7% G.E. added	0.28	0.31
	③ 1.4% G.E. added	0.38	0.36

G.E.: ginseng extract

人蔘 jelly와 人蔘 candy와 같은 시료들은 糖含量이 높으며, 人蔘抽出物을 含有한 菓子類로서 人蔘 jelly는 79.7%, 人蔘 candy는 92.8%의 糖을 含有하고 있다. 이들 人蔘製品에서 含有 saponin을 分離하는 일은 대단히 어려운 문제이며, 精製한 바와 같이 Shibata法으로 分離한 saponin에 대해서 vanillin-H₂SO₄法으로 發色하여 그 O.D.값을 비교한 결과는 위의 表 2에서와 같이 定量的인 意味를 찾아볼 수 없다. 즉 人蔘抽出物 無添加區에 있어서 그 O.D.값이 일정치 못하며, 添加區에 있어서도 添加量에 비례해서 O.D.값이 증가하지 않았으며, 이러한 結果를 表 1의 실험결과로 미루어 생각할 때 시료에서 糖類의 分離가 정확하게 이루어지지 못하여 saponin과 混在하는 상태로 보여진다. 따라서 높은 糖類를 含有하고 있는 人蔘製品의 total saponin의 含量定량에 있어서 Shibata法으로 精製한 結果를 vanillin-H₂SO₄ 法으로 發色하여 分光比색하는 方法은 부적당한 것으로 생각된다.

Thinchromograph를 利用한 total saponin의 定量

1. 人蔘抽出物中 total saponin의 定量方法

人蔘抽出物 0.25g(시료 ①), 0.50g(시료 ②)을 증류수 50 ml, 100 ml에 각각 용해하여 분액여두에 넣고 Shibata法에 의하여 전항에서와 같이 total saponin을 抽出하였다. 이리하여 얻어진 butanol抽出液을 평량병에 조금씩 부어가면서 dryer로 건조한 후 다시 80°C로 조절된 dry oven에서 3時間 건조한 후 건조중량을 구하였다.

한편 조제된 total saponin을 saponin量으로 10~20 μg/μl 범위가 되도록 시료 ①, ②에 methanol 각각 2 ml, 4 ml로 용해한 후 1 μl를 microcyringe로 취하여 SiO₂-glass rod에 점적한 후 40°C 전후의 열풍으로 건조한다. 미리 준비하여 둔 전개조(전개용매 : CHCl₃:CH₂OH:H₂O=65:35:10, lower phase)에 넣어 약 10 cm 전개한 다음 40°C 열풍으로 용매를 제거하고 水素炎이온화검출장치(H₂-FID)가 부착된 thinchromograph(IATRON, type TFG-10)에 넣어 각 saponin peak와 적분곡선을 얻었다(conditions; Detector: H₂-FID; flow rate: H₂, 165 ml/min, air, 2,500 ml/min)

이렇게 하여 얻어진 graph에서 金동⁽⁷⁾이 實施한 方法에 따라 각 saponin의 peak로 認知되는 것의 적분곡선의 높이의 合計로서 total saponin의 含量指數로 삼고, 이 指數로서 total saponin의 含量을 비교하였다.

2. 人蔘 jelly中の total saponin 定量方法

人蔘抽出物을 0.5%, 1.0%를 각각 添加하여 제조한

jelly(시료 ③, ④)를 25 g씩 각각 정평하여 80% methanol 150 ml을 가하고 역류냉각기를 붙인 후 water bath. 상에서 3時間 抽出한다. 이때 약간의 한천이 용해되지 않은 채로 바닥에 남게 되며, 용해된 액은 그대로 증발접시에 옮겨 증발농축시켰다. 증발농축된 것을 冷 methanol 80 ml에 녹여 당과 한천을 침전시킨다. 이때 끈적끈적한 덩어리의 형태로 당과 한천의 혼합물이 석출된다. 이것을 그대로 냉각하여 여과하였다. 이 여액을 농축하여 시료 ③은 증류수 50ml에 녹였고, 시료 ④는 증류수 100 ml에 녹여 이것을 다시 전항(Ⅱ, 1항)에서와 같이 Shibata法으로 saponin을 抽出, 乾燥하여 그 무게를 측정하였다. 또한 이 건조된 시료 ③, ④에서 抽出한 saponin을 methanol 각각 1 ml, 2 ml에 용해한 다음 이것으로 전항의 人蔘抽出物에서와 같이 thinchromograph로 分析하여 각 saponin의 peak를 얻었으며, 각 saponin의 peak로 認知되는 것의 적분곡선 높이의 合計로서 total saponin의 含量指數로 삼고, 이것으로 total saponin의 含量을 비교하였다.

3. 人蔘 candy中 total saponin의 定量方法

人蔘抽出物을 0.7%, 1.4%를 각각 添加하여 제조한 candy(시료 ⑤, ⑥)를 25 g씩 각각 정평하여 80% methanol 100 ml를 加하여 water bath 상에서 역류냉각기를 붙이고 30分間 가열하여 완전히 용해시킨다. 이 용액을 증발접시에 옮겨서 증발농축한 후 冷 methanol 80 ml에 녹여 당을 석출시킨다. 이때 석출되는 당의 量이 많으며, 이것을 3時間 냉각한 후 여과하고 다시 증발농축하여 冷 methanol 50 ml로 2차 당을 침전시킨다. 이때 입자상태의 糖이 많이 침전되었다. 다시 3時間 냉각한 후 여과하고 증발농축하여 0.7% 人蔘抽出物 添加 candy는 증류수 50 ml에 녹이고, 1.4% 人蔘抽出物 添加 candy는 증류수 100 ml에 녹여 전항에서와 같이 Shibata 法으로 saponin을 추출 건조하여 그 무게를 측정하였다. 또한 이 건조된 시료 ⑤, ⑥에서 抽出한 saponin에 methanol 2 ml, 4 ml를 각각 넣어 용해시킨 후 이것으로 精製한 바 thinchromograph에 의해서 saponin peak를 얻었고, 각 saponin peak로 認知되는 것의 적분곡선 높이의 合計로서 total saponin의 含量指數로 삼고, 이것으로 total saponin의 含量을 비교하였다.

4. 結果 및 考察

人蔘抽出物, 人蔘 jelly, 人蔘 candy를 試料로 하여 精製한 바와 같이 前處理한 후에 Shibata 法으로 total saponin을 分離, 건조하여 그 무게를 측정한 결과는 다음 表 3과 같다.

表 3에서 시료 ③, ④, ⑤, ⑥中에 含有된 人蔘抽出物의 含量은 各各 ③; 0.125 g, ④; 0.25 g ⑤; 0.175 g.

Table 3. Content of total saponin by weighing method

	Weight of total saponin(mg)		Weight of total saponin corresponding to 125mg of G.E. (mg)	
	1st	2nd	1st	2nd
1) G.E. 0.25g	42	46	21	23
2) G.E. 0.50g	86	86	21.5	21.5
3) G. jelly 25g (0.5% G.E. added)	24	25	24	25
4) G. jelly 25g (1.0% G.E. added)	43	32	21.5	16
5) G. candy 25g (0.7% G.E. added)	47	30	33.6	21.4
6) G. candy 25g (1.4% G.E. added)	75	55	26.7	19.6

G.E.: Ginseng extract

⑥; 0.35 g이며, 人蔘抽出物中の total saponin을 Shibata 法으로 分離, 건조하여 무게를 측정할 바 人蔘抽出物 125 mg에 대하여 total saponin이 21~23 mg이며, 平均値 22 mg에 대한 오차의 범위가 5% 미만으로 再現性이 우수하게 나타났다. 즉 人蔘抽出物中の 糖類는 ether 脫脂과 n-butanol 抽出로서 비교적 精度높게 total saponin이 分離된다고 생각된다.

金⁽⁷⁾ 등은 이와 같은 방법으로 人蔘茶에서 total saponin을 定量한 바 있으며, 趙⁽⁸⁾ 등도 같은 方法으로 人蔘中の total saponin의 含量을 측정할 바 있다. 그러나 人蔘 jelly(③, ④)의 경우는 表 3에서 보는 바와 같이 人蔘抽出物 125 mg에 상당하는 total saponin의 값이 16~25 mg으로 시료 ①, ②에서 얻은 平均値 22 mg에 대한 오차의 범위가 53%나 되어 再現性이 많이 떨어지는 편이다.

한편 分離, 건조한 total saponin을 다시 一定量의 methanol에 용해하여 전술한 바와 같은 조건으로 Thin-chrograph에 의해서 total saponin의 量을 적분곡선의 높이로 표시한 숫자를 비교하면 다음 表 4와 같다. 이 表는 비교 검토를 위해서 人蔘抽出物 125 mg으로 조제한 시료에 상당하는 적분곡선의 높이로 환산 표시한 값이다.

表 4에서 보는 바와 같이 人蔘抽出物의 경우(시료 ①, ②)는 그 수치가 20~24로 평균 22가 되며 오차의 범위가 9%로 대체로 전술한 表 3에서 얻은 결과와 비슷하다. 人蔘 jelly(시료 ③, ④)에서는 이 값이 19~22로서 22를 기준으로 삼았을 때 그 오차는 14%로 시료 ①, ②의 경우보다 넓어지고, 人蔘 candy(시료 ⑤, ⑥)

Table 4. Content of total saponin by thinchromographic method

	Height of integral curve of total saponin corresponding to 125 mg of G.E.	
	1st	2nd
1) G.E. 0.25g	23	24
2) G.E. 0.50g	20	21
3) G. jelly (0.5% G.E. added)	22	20
4) G. jelly (1.0% G.E. added)	20	19
5) G. candy (0.7% G.E. added)	24	28
6) G. candy (1.4% G.E. added)	20	23

G.E.: Ginseng extract

에서는 이 값이 20~28로서 22를 기준으로 하면 오차는 27%로 더욱 넓어진다. 그러나 이러한 오차의 범위는 表 3에서의 重量法보다는 양호한 편이며, 그 再現性이 개선되었다고 생각된다.

요 약

人蔘抽出物을 함유한 菓子類의 品質管理를 위한 total saponin의 定量法을 검토하기 위하여 이들 시료에 적당한 전처리를 실시한 후 Shibata 法으로 total saponin을 分離한 시료에 vanillin-H₂SO₄ 法으로 발색하여 total saponin의 含量을 추정하는 方法과, 분리된 total saponin의 n-butanol 용액을 증발건조하여 그 무게를 측정하는 方法과 또한 分離, 건조된 시료를 thinchromograph에 걸어 total saponin을 정량하는 方法들을 검토한 바 다음과 같은 結果를 얻었다. 단 이 試驗에서 시료인 菓子類製品에 첨가한 人蔘抽出物을 대조구로 하여 定量하였다.

① 본 試驗에서 시료로 사용한 菓子類인 人蔘 jelly와 人蔘 candy는 成分上으로 보아 糖含量이 많은 食品이며, total saponin 定量을 위한 前處理 과정에서 대부분의 糖을 제거해야 하는 어려움이 있다. 시료를 methanol로 抽出한 다음 methanol을 증발시키고 다시 이것을 冷 methanol에 용해시키는 方法은 糖제거에 효과적이었다.

② 시료를 分離하여 80% ethanol에 녹인 용액을 vanillin-H₂SO₄ 法으로 發色할 때 糖이 混在한 상태에서는 糖도 vanillin-H₂SO₄에 의해서 같이 發色되므로 定量的인 意味가 없다.

③ 前處理한 試料에 대해서 Shibata 法으로 saponin

을 分離하여 증발건조한 후 그 무게를 달아 定量하는 방법은 오차의 범위가 50%로 그 再現性이 떨어지는 편이나 대체적인 경향을 알 수 있다.

④ ③項의 건조된 粗 total saponin을 다시 一定量의 methanol에 용해시켜 thinchrograph를 利用하여 分析한 후 그 적분곡선의 높이를 비교한 바 대조구에 대한 오차의 범위가 27%로서 그 再現性이 ③項의 重量法보다는 다소 改善되는 경향이다.

謝 辭

이 研究는 專賣廳 專賣技術研究所의 研究費에 의해서 이루어졌으며, thinchrograph의 使用과 分析方法에 관하여 도와주신 株式會社 一和의 金海中部長과 南成熙課長에게 깊은 謝意를 表하는 바이다.

參 考 文 獻

1. Shibata, S., Tanaka, O., Sado, M. and Tsushima,

S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 12, 795 (1963).

2. 坂本征則, 森本一義, 田中治: *藥學雜誌(日本)*, 95 (12), 1456 (1975).
3. Hiai, S., Oura, H., Kitai, A. and Kanai, K.: *Planta Medica*, 29, 247 (1976).
4. Hiai, S., Oura, H., Hamanaka, H. and Odaka, Y.: *Planta Medica*, 28, 131 (1975).
5. Hiai, S., Oura, H., Odaka, Y. and Nakajima, T.: *Planta Medica*, 28, 363 (1975).
6. Hiai, S., Oura, H. and Nakajima, T.: *Planta Medica* 29, 116 (1976).
7. 金海中, 南成熙, 福良義昭, 李錫健: 한국식품과학회지, 9(1), 24 (1977).
8. Kim, H.J., Nam, S.H. and Yosiaki, F.: *Korean J. Ginseng Sci.*, 1(1), 79 (1976).
9. 趙成桓: 한국농화학회지, 20(2), 188 (1977).