

分液 및 Extrelut[®] Column에 依한 人蔘 Saponin抽出方法의 比較研究

— Saponin 回收率에 대하여 —

金宗圭, 李容旭, 孫炫洲,* 李光承*

서울大學校 保健大學院, 韓國人蔘煙草研究所*

A Study on Comparison of Extraction Methods of Ginseng Saponin by Phase Separation and by Extrelut[®] Column

— For Recovery Rates of Saponin —

Jong Gyu Kim, Yong Wook Lee, Hyun Joo Sohn*, and Kwang Seung Lee*

School of Public Health, Seoul National University
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute*

ABSTRACT

Extraction method of ginseng saponin by Extrelut[®] column was studied as compared with that by phase separation. The results obtained were as follows:

1. Extraction time consumed by Extrelut[®] column was 2 ~ 3 hours and much shorter as compared with that by phase separation.
2. Recovery rates of ginsenoside by Extrelut[®] column method were 97.8 ~ 106.1% and much higher as compared with those by phase separation method.

I. 緒 論

人蔘 및 人蔘製品의 Saponin抽出方法은 現在 分液에 依한 溶媒抽出法^{1~8)}이 널리 使用되고 있는데, 이 方法은 分液時間이 오래 걸리므로 製品検查나 品質管理等과 같이 迅速하게 多量의 試料를 處理하기에는 適合하지 않다. 1980年 Soldati 等⁹⁾은 Kiesel gel을 充填劑로 하는 Extrelut[®] column (Darmstadt, Merck Co. Art 11737)을 使用하여 人蔘 및

人蔘醫藥品으로부터 saponin을 抽出한 結果, 100%에 가까운 saponin回收率을 나타내었고, 糖 等의 不純物 除去効果도 거둘 수 있었으며, 1日에 1人當 約 30點의 試料를 處理할 수 있어서 品質管理實驗 等에 適合하다고 報告하였다.

本研究에서는 이러한 Soldati 等의 報告를 토대로 人蔘 및 人蔘製品의 粗 saponin 分析 및 ginsenoside 分析에의 適用可能性을 檢討하기 위하여, Extrelut[®] column에 依한 抽出法 및 分液에 依한 抽出法을 併用하여 洪¹¹⁾等의 方

法에 따라 調製한 總 saponin의 重量回收率 및 各 ginsenoside 回收率을 比較하였다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

洪¹¹⁾等의 方法에 따라 調製한 總 saponin 을 本 研究의 材料로 하였다. 各 試藥은 GR 級 以上을 使用하였으며, Extrelut[®] column 은 Darmstadt Merck Co. Art 11737 을 使用하였다.

2. 方法

1) Extrelut[®] column에 依한 saponin 抽出時間 調査

總 saponin 一定量을 蒸溜水 10ml에 녹여 column에 넣고 15分間 靜置한 後 水飽和butanol 80ml를 通過시켜 40分마다 saponin 抽出液를 分取하였다. 各 抽出液를 減壓濃縮하여 乾固物을 秤量하고 methanol 4.0ml에 녹여 Table 1과 같은 條件⁸⁾으로 高速液體クロマト그래피(HPLC) 하여 各 分割別 ginsenoside pattern을 調査하였다.

2) Saponin 抽出方法間 總 saponin의 回收率 比較

① 總 saponin 使用量 別 ginsenoside pattern : 總 saponin 50, 100, 150, 200 또는 250mg 을 methanol 4.0ml에 녹여 Table 1과 같이 HPLC로 分析하여 各 ginsenoside의 peak 높이(A mm)를 구하였다.

② Extrelut[®] column에 依한 抽出法 : 總

saponin 50, 100, 150, 200 또는 250mg 을 蒸溜水 10ml에 녹여 column에 넣고 15分間 靜置한 後 水飽和butanol 80ml를 通過시켜 2時間 抽出하고 抽出液를 減壓濃縮하여 乾固物을 秤量하고, methanol 4.0ml에 녹여 Table 1과 같이 HPLC로 分析하고 總 saponin 使用量別 各 ginsenoside의 peak 높이(Bmm)를 구하였다.

③ 分液에 의한 抽出法¹⁰⁾: 總 saponin 50, 100, 150, 200 또는 250mg 을 蒸溜水 60ml에 녹이고 ether 60ml로 抽出한 後 下層을 水飽和butanol로 60ml 씩 3回 抽出하여 上層을 合하고 蒸溜水 50ml로 洗滌하였다. 上層을 減壓濃縮하여 乾固物을 秤量하고 methanol 4.0ml에 녹여 Table 1과 같이 HPLC로 分析하고 ginsenoside의 peak 높이(C mm)를 구하였다.

總 saponin 使用量 別 重量回收率 및 ginsenoside 回收率은 다음과 같이 算出하였다.

重量回收率(%)

$$= \frac{\text{乾固物(mg)}}{\text{總 saponin 使用量(mg)}} \times 100$$

ginsenoside 回收率(%)

$$= \frac{B \text{ 또는 } C}{A} \times 100$$

III. 結果 및 考察

1. Extrelut[®] column에 依한 saponin 抽出時間

40分마다 分取한 抽出液의 乾固物 重量比는 Table 2와 같았고, 各 分割의 ginsenoside

Table 1. Conditions for HPLC

Model	Waters Associates Model ALC 244
Column	Lichrosorb NH ₂ Column, Merck Co.
Detector	RI detector (Refractometer R 401)
Solvent system	Acetonitrile/Water/n-Butanol (80/20/15) (v/v)
Flow rate	1.5ml/min
Injection volume	20μl

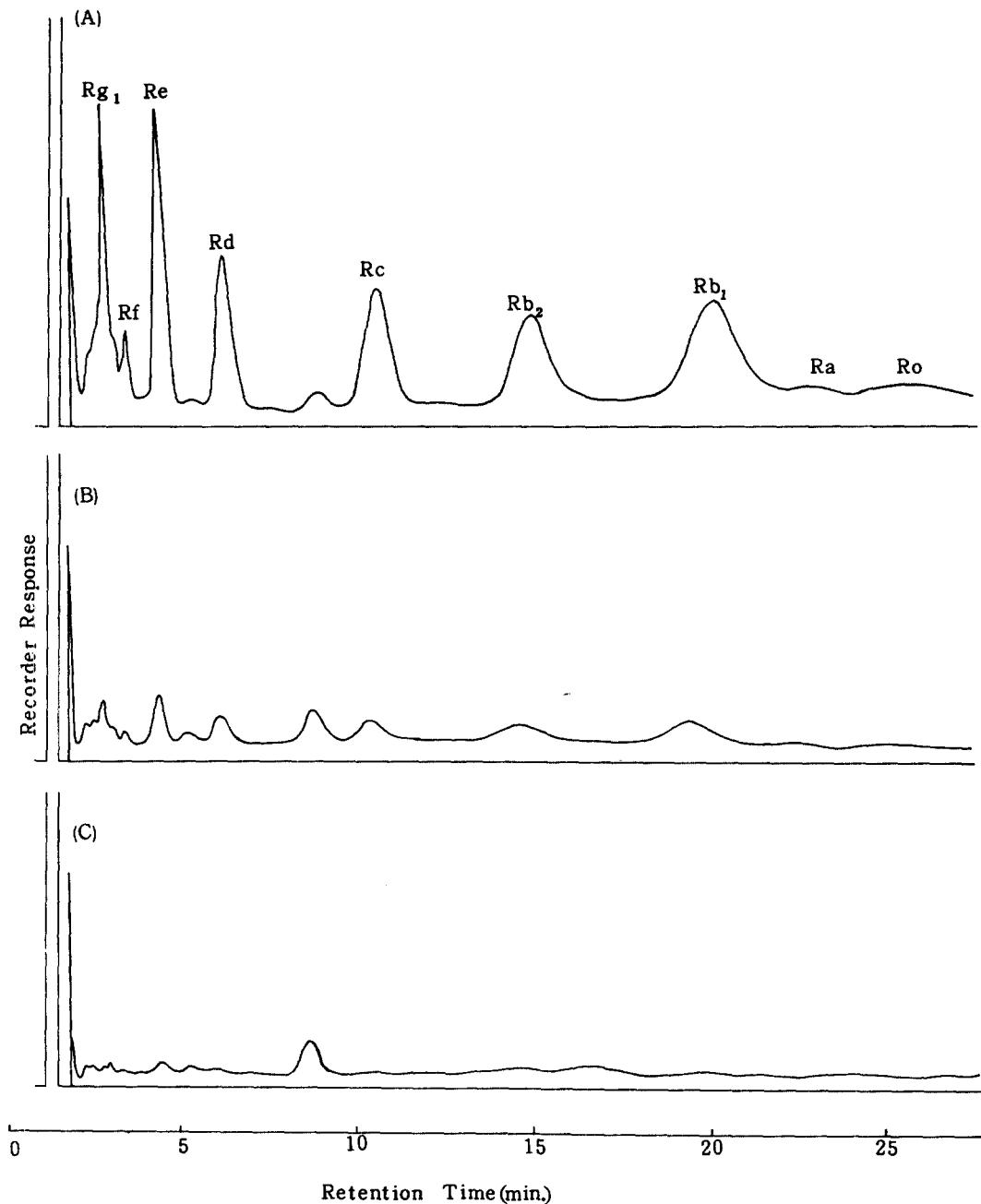


Fig1. HPLC Chromatograms of Ginsenosides with Various Elution Times
(A) 0~40 mins. (B) 40~80 mins. (C) Over 80 mins.

Table 2. Weight Percentage of Eluted Saponin in each Fraction

	0~40 mins.	40~80 mins.	over 80 mins.	total
Extract 1	79.5	14.4	6.1	100.0
Extract 2	73.2	19.7	7.1	100.0
Mean	76.3	17.0	6.7	100.0

Table 3. Recovery Rates of Total Saponin by Weight (Unit : percent)

Amount (mg)	Method I	Method II	Method II / Method I
50	69.4	89.9	1.30
100	79.7	91.9	1.15
150	82.6	90.4	1.09
200	85.3	90.3	1.06
250	81.2	90.0	1.11
Mean \pm S. D.	90.3 \pm 0.93	79.6 \pm 6.99	1.14 \pm 0.09

Method I: Method by Phase Separation.

Method II: Method by Extrelut® Column.

pattern 은 Fig. 1과 같았다. 80分까지의 乾固物重量比는 約 90%였으나 80分以後의 分割에서 ginsenoside의 peak가 거의 나타나지 않은 것으로 보아 總 saponin에 含有되어 있던 不純物이 column內에 吸着된 것으로 보이며, 抽出時間은 최소한 80分으로 하는 것이 適合하다고 생각되었다.

2. Saponin 抽出方法間 總 saponin 回收率比較

總 saponin 使用量 別 各 ginsenoside의 peak 높이는 Fig. 2와 같이 거의 定量的인 關係를 나타냈다.

抽出方法間 乾固物 重量回收率은 Table 3과 같이 Extrelut® column 法이 89.9~91.9%로 分液法의 69.4~85.3%보다 높았고, 總 saponin 使用量間 偏差도 훨씬 작았다.

抽出方法間 各 ginsenoside의 回收率은 Table 4와 같이 ginsenoside의 種類에 관계없이 Extrelut® column 法이 97.8~106.1%로 分液法에 比하여 10%以上 높았고 總 saponin 使用量에 따라 各 ginsenoside의 HPLC peak

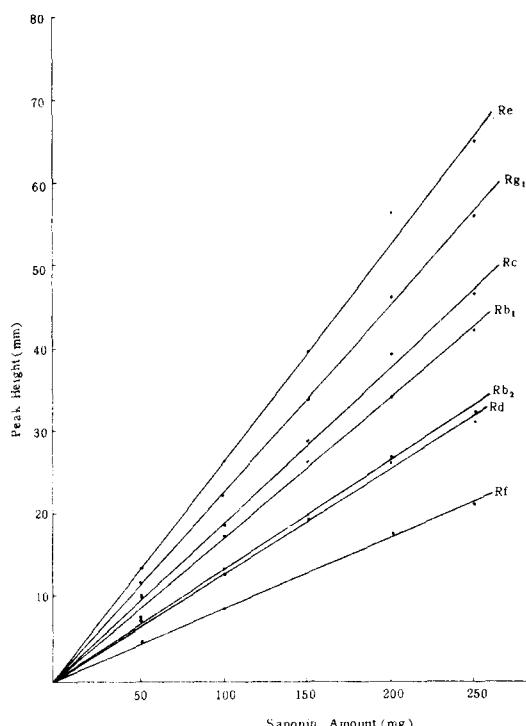


Fig 2. Relationship between Total Saponin Content and Peak Height of each Ginsenoside

Table 4. Recovery Rates of each Ginsenoside by Peak Height in HPLC Chromatogram.

Amount (mg)	Rg ₁		Rf		Re		Rd		Rc		Rb ₂		Rb ₁	
	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II	Met. I	Met. II
50	69.0	99.1	87.0	100.0	89.6	103.0	78.6	106.7	80.0	90.7	82.2	101.4	88.5	104.2
100	81.4	110.4	89.3	103.6	83.3	101.5	87.3	106.7	83.8	104.9	88.5	110.0	86.7	108.7
150	90.0	100.1	92.3	100.8	91.9	99.7	92.8	97.9	88.2	96.5	96.0	106.1	92.8	103.4
200	88.6	102.8	90.9	100.5	87.3	101.2	89.7	101.1	83.8	99.0	89.6	110.4	90.6	104.3
250	89.3	100.9	91.5	97.2	90.8	101.1	90.0	99.4	85.7	97.9	89.8	102.8	87.7	102.1
Mean	83.7	102.7	90.2	100.4	88.6	101.3	87.7	102.4	84.2	97.8	89.2	106.1	89.3	104.5
S.D.	8.89	4.54	2.10	2.28	3.41	1.18	5.44	4.12	3.04	5.10	4.91	4.08	2.44	2.49

MeMet. I: Method by Phase Separation
MeMet. II: Method by Extrelut® Column

높이는定量的인 관계가 있었다.

以上의結果를綜合하면, Extrelut® column法은分液法에比하여人蔘saponin抽出時間을훨씬短縮시킬수있으며,回收率도높아보다簡便하고正確한抽出方法으로생각되었다. 그러나人蔘및人蔘製品에이抽出方法을適用하기爲해서는saponin以外의不純物除去能에대한檢討가必要하다고본다.

IV. 要 約

人蔘saponin抽出方法에대하여總saponin을材料로saponin回收率을比較研究한結果는다음과같았다.

- Extrelut® column에依한saponin抽出時間은2~3時間으로分液에依한抽出時間에比하여훨씬짧았다.
- Extrelut® column法은ginsenoside回收率이97.8~106.1%로分液法에比하여매우높아보다正確한saponin抽出方法으로생각되었다.

参考文献

- T. Namba, M. Yoshitaki, and M. Tomimori, K. Kobashi, K. Mitsui and T. Hase : *Planta Medica* 28(1974).
- 조한옥, 조성환, 김수자 : 한농화 22, 10 (1979).
- 오훈일, 김상달, 이승재 : 인삼연구보고서 38, 한국인삼연초연구소(1980).
- 김우정, 최진호, 박길동 : 인삼연구보고서 145, 한국인삼연초연구소(1980).
- 김만옥, 최강주, 이정숙 : 인삼연구보고서 307, 한국인삼연초연구소(1980).
- 성현순, 박명한 : 인삼연구보고서 87, 한국인삼연초연구소(1981).
- 정노팔 : 고려인삼학회지 5, 24(1981).

8. 최강주 : 고려대학교 대학원 박사학위논문 (1983).
9. F. Soldati and O. Sticher : *Planta Medica* 38, 348 (1980).
10. 專賣廳 : 人蔘事業法施行規則 (1981).
11. D.H.Kim, Y. Hahn and S.K. Hong : *Arch. Pharm. Res.* 5, 45 (1982).