

## 인삼 Sesquiterpene의 새로운 분리방법

위재준\* · 신지영<sup>1</sup> · 손현주 · 허정남 · 김시관 · 김만욱

한국인삼연구소연구원, <sup>1</sup>서울여자대학교 식품미생물공학과  
(1997년 11월 13일 접수)

## New Methods for Isolation of Sesquiterpene from *Panax ginseng*

Jae Joon Wee\*, Ji Young Shin<sup>1</sup>, Hyun Joo Sohn, Jeong Nam Heo

Si-Kwan Kim and Man Wook Kim

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

<sup>1</sup>Department of Food and Microbial Technology, Seoul Woman's University, Seoul 139-774, Korea

(Received November 13, 1997)

**Abstract** : New simple methods for the isolation of sesquiterpenes from *Panax ginseng* were developed. First, volatile compounds were isolated by simultaneous distillation and extraction (SDE) with 30% methanol and n-hexane instead of water and ethyl ether/pentane (1:1). Secondly, head space volatiles in U-shaped tube at 70°C were passed through C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup> by nitrogen gas streaming and the adsorbed volatiles were eluted by n-hexane. TLC analysis showed that the volatile concentrates consisted mainly of terpenes when colored by vanillin-sulfuric acid. GC/MS data revealed that approximately 30 sesquiterpenes of molecular weight 204 occupied 81.1% or more of the volatile concentrates isolated by those two newly developed methods. Among these, alloaromadendrene, germacrene B, isocaryophyllene,  $\alpha$ -neoclovene,  $\gamma$ -muurolene,  $\beta$ -panasinsene, and  $\alpha$ -humulene were identified as being major sesquiterpenes by authentic samples or literature search.

**Key words** : *Panax ginseng*, volatile compound, sesquiterpene, isolation, new method, GC/MS.

## 서 론

인삼의 정유에는 휘발성 terpene계 물질로서 sesquiterpene이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. 김등<sup>1)</sup>과 중국의 Zhang 등<sup>2)</sup>은  $\beta$ -patchoulene, trans- $\beta$ -farnesene, eremophilene 등 sesquiterpene을 인삼의 주요 향기성분으로 동정한 바 있고, Iwabuchi 등<sup>3)</sup>은 ether추출물로부터 ginsenosol, (+)-spathulenol 등 sesquiterpene alcohol을 순수분리하여 구조를 확인하였다. 최근 고등<sup>4)</sup>은 동시증류추출(simultaneous distillation and extraction, 이하 SDE)로 조제한 인삼의 정유성분을 GC/MS로 분석하여 sesquiterpene류로서  $\alpha$ -panasinsene의 22종, sesquiterpene alcohol류로서 panasinsenol A의 8종,

monoterpene류로서 myrcene의 8종, aldehyde류로서 n-pentanal의 5종, ester류로서 methyl palmitate의 4종등을 검출하였는데, sesquiterpene류가 약 40%를 차지하였다. 저자등<sup>5)</sup>도 위와 동일한 방법으로 정유성분을 분리하여 GC/MS로 분석한 결과 위에서 검출한 성분외에도 polyacetylene계 성분인 panaxynol이 상당량 함유되어 있음을 확인한 바 있다. SDE에 의하여 조제한 정유성분은 이와 같이 분자량, 비점, 극성 등에 있어 매우 다양한 범위 및 성질을 가진 물질들을 포함하고 있으므로 GC 분석시 수백개의 피크가 분리되며 분석시간도 장시간을 요한다.

본 연구에서는 유사한 성질의 정유성분군을 간편하게 분리하여 보다 단순화된 GC 또는 TLC profile을 얻음으로써 짧은 시간에 삼류간 특성을 보다 용이

하게 찾을 수 있는 방법을 모색하였다. 그 결과 분자량 204의 sesquiterpene계 성분군을 간편하게 분리하는 새로운 방법을 확립하였기에 이를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 시약

한국인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 시중에서 구입한 금산산 4년근 백삼을 사용하였다. SDE용 에테르는 GR급을 재증류하여 사용하였고 펜탄과 *n*-헥산은 GR급을 사용하였다. (-)- $\alpha$ -neoclovene,  $\alpha$ -,  $\beta$ -panasinene, (-)-trans-caryophyllene,  $\alpha$ -,  $\beta$ -humulene, (+)-aromadendrene, alloaromadendrene 등 sesquiterpene 표준품은 모두 Fluka사 제품을 사용하였다. 인삼의 head space 성분 포집을 위한 흡착제로는 Waters사의  $C_{18}$  Sep-Pak<sup>®</sup>을 사용하였다.

### 2. 방법

#### (1) SDE에 의한 정유성분의 분리

인삼분말 30 g을 1 l의 증류수와 함께 2 l 둥근 바닥 flask에 넣고 추출용매로 50 ml 에테르/펜탄(1:1)을 사용하여 Likens-Nickerson 장치로 SDE하거나 1 l의 증류수 대신 250 ml의 30% 메탄올과 에테르/펜탄(1:1) 대신 *n*-헥산을 사용하여 SDE하였다. 인삼분말을 증류수 중에서 끓일 때, 사포닌에 의해 거품이 심하게 발생하여 용매층에 넘어 가므로 정유성분에 비휘발성 물질이 오염되는 문제가 발생한다. 따라서 거품이 넘어 가지 않게 하기 위하여 용적이 큰 증류용기(2 l 둥근 바닥 flask)를 사용하였다. 30% 메탄올로 증류할 경우는 비점이 약 88°C로 떨어졌고 500 ml 용기를 사용하여도 무방하였다. 추출액은 질소기류하에서 최종 약 500  $\mu$ l로 농축한 후 TLC 또는 GC/MS로 분석하였다.

#### (2) Head space 휘발성분의 포집

시료분말 10 g을 "U"자 모양의 tube(직경 10 mm, 높이 10 cm, 총길이 25 cm)에 넣고 분당 100 ml의 질소 기류를 흘려주면서 70°C에서 2시간 가온하는 동안 휘발되는 head space 성분은  $C_{18}$  Sep-Pak<sup>®</sup>에 포집한 후 *n*-헥산으로 용출하여 TLC 또는 GC/MS로 분석하였다.

#### (3) 정유성분의 TLC 분석

TLC plate는 Merck사의 pre-coated silica gel 60

aluminium plate(층두께 : 0.2 mm)를 사용하였고 toluene/ethylacetate(85:15)로 전개한 다음 5%  $H_2SO_4$ /에탄올과 1% vanillin/에탄올을 연속해서 분무한 다음 105°C 항온기에서 10분간 가열하여 발색시켰다.

#### (4) 정유성분의 GC/MS 분석

영국 VG Masslab Fisons Instruments사 기기(모델명 : MD-800)를 사용하여 GC/MS 분석하였다. GC column은 fused silica capillary SPB-1 (0.25 mm i.d.  $\times$  30 m, 0.25 m thickness)을 사용하였고 온도는 100°C에서 5분간 유지한 후 분당 2°C의 비율로 150°C까지 승온시켰으며 150°C에서 다시 분당 6°C의 비율로 280°C까지 승온시켰다. 질량분석은 70 eV에서 Electron Impact Mode로 분석하였다. WILEY와 NIST Library Search를 수행하여 동정하였고 일부 성분은 표준품과 대조하여 재확인하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 분리방법에 따른 인삼정유의 비교

#### (1) TLC에 의한 비교

분리방법에 따른 정유시료를 서로 비교해 보았을 때, 30% 메탄올과 *n*-헥산으로 SDE하여 얻은 정유성분 그리고  $C_{18}$  Sep-Pak<sup>®</sup>에 흡착된 head space 정유성

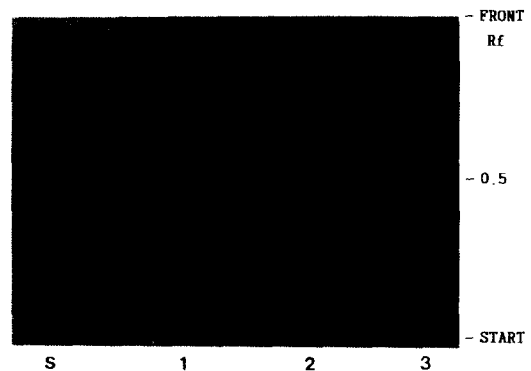


Fig. 1. Thin layer chromatograms of essential oils isolated by various methods. Track S: five authentic sesquiterpenes mixture, Track 1: SDE with water and ethyl ether/pentane (1:1), Track 2: SDE with 30% methanol and *n*-hexane, Track 3: head space technique with  $C_{18}$  Sep-Pak<sup>®</sup>. TLC plate: pre-coated silica gel 60 aluminium plate (0.2 mm thickness). Developing solvent: toluene/ethylacetate (85:15), Spraying reagent: vanillin-sulfuric acid.

분은 일반적으로 사용되는 증류수와 에테르/펜탄(1:1)<sup>10)</sup>으로 SDE하여 얻은 정유성분과는 대조적으로 Rf 0.83에 해당하는 성분군만이 주로 증류, 흡착되었음을 알 수 있다(Fig. 1). 표준품과 비교한 결과 이 spot에는 인삼에 존재하는 것으로 알려진  $\beta$ -panasin-sene,  $\alpha$ -neoclovene,  $\alpha$ -humulene 등 분자량 204의 sesquiterpene이 함유되어 있음을 추측할 수 있다. 증류수와 에테르/펜탄(1:1)을 사용하여 얻은 정유성분에서는 vanillin-황산에 발색되는 terpene계 성분 외에 panaxynol로 추정되는 Rf 0.50 spot를 비롯하여 정색반응으로 보아 bi-terpene계 물질로 추정되는 다수의 성분이 검출되었다.

이와 같이 증류수 대신 30% 메탄올을 사용하여 증류온도를 낮추어 증류하거나 또는 head space 흡착제로서 HPLC에서 시료 전처리용으로 흔히 쓰이는 C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>을 사용함으로써 인삼의 여러 정유성분 중 sesquiterpene계 성분만을 주성분으로 추출해 낼 수 있음을 알 수 있다.

일반적으로 head space 휘발성 성분을 포집하는데는 Tenax GC, Tenax GR, Porapak Q 등을 사용하는 것이 보통이나<sup>11)</sup> cartridge 충전 및 재생이 번거로우므로 다수의 시료를 처리하기에는 어려운 점이 많다. C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>은 solid phase extraction의 용도로 널리 쓰이는 것으로서 cartridge 자체가 상업적으로 구하기 쉽고 그 충전물의 성질은 비극성이다. 이 점에 착안하여 비극성 탄화수소인 sesquiterpene계 성분의 흡착에 C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>을 사용하였다.

## (2) GC/MS에 의한 비교

TLC에 사용한 동일한 시료를 GC/MS로 분석하여 비교한 결과 30% 메탄올과 *n*-헥산을 사용하여 SDE하거나(Fig. 2B), C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>를 사용하여 head space 정유성분을 포집함으로써(Fig. 2C) 증류수와 에테르/펜탄으로 SDE하여 얻은 정유성분(Fig. 2A)과 대조적으로 머무름 시간(이하 tR) 24분 이내에 피크를 나타내는 성분만이 주로 분리되었음을 알 수 있다.

Fig. 2B에서 tR 10~24분에 나타난 각 피크들의 질량분석 결과 30여종의 피크 대부분이 분자이온 m/z 204를 갖는 sesquiterpene계 성분을 알 수 있었고 주요 base peak는 m/z 105, 121, 133, 147, 161, 162, 189 등이었다(Table 1). 이 중 5종은 표준품과 대조한 결과  $\beta$ -panasin-sene,  $\alpha$ -neoclovene,  $\alpha$ -humulene, (+)-aromadendrene과 alloaromadendrene으

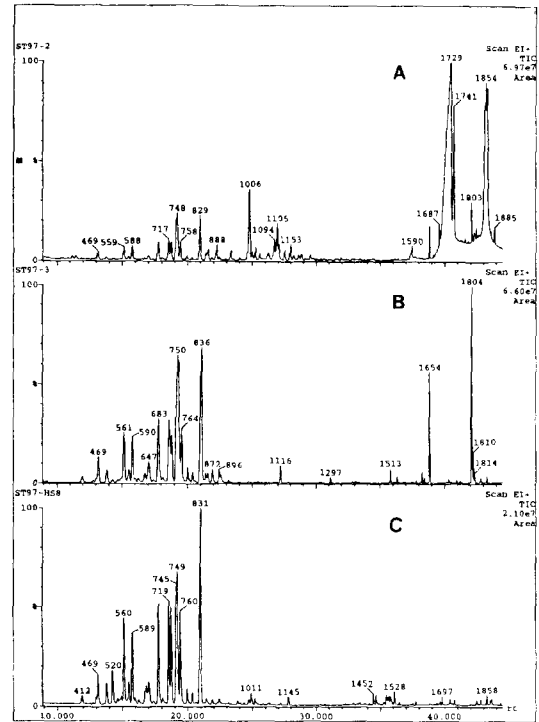


Fig. 2. Total ion chromatograms of essential oils isolated by (A) SDE with water and ethyl ether/pentane (1:1), (B) SDE with 30% methanol and *n*-hexane, and (C) head space technique with C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>. GC column: fused silica capillary SPB-1 (0.25 mm i.d.×30 m, 0.25  $\mu$ m thickness).

로 확인되었다. 나머지 성분의 동정을 위해 WILEY와 NIST Library Search를 행하였는데, 가능성이 있다고 검색된 후보물질 중에서 base peak가 일치하고 이온의 상대비도(relative intensity %)가 근접한 것만을 선별하여  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -panasin-sene,  $\beta$ -elemene,  $\alpha$ -gurjunene, aromadendrene,  $\gamma$ -muurolene, isocaryophyllene( $\gamma$ -caryophyllene), germacrene B,  $\beta$ -bisabolene,  $\delta$ -cadimene 등 13종의 sesquiterpene계 성분들을 동정하였다(Table 1). 이들 30여종이 Fig. 2B에 나타난 전체 피크면적에서 차지한 비율은 81.1% 그리고 Fig. 2C에서는 84.0%를 차지하였는데, 12.5%를 차지한 Fig. 2A와 비교해 볼 때, 월등히 높은 비율로서 새로이 확립한 두 방법은 인삼 sesquiterpene계 성분의 분리를 위한 좋은 방법임을 알 수 있다. Fig. 2A에서 tR 24분 이후의 피크들은 sesquiterpene alcohols(tR 24~30분), panaxynol(spec # 1741) 또는

**Table 1.** Mass spectral data obtained by GC/MS of sesquiterpenes isolated from Korean white ginseng by SDE with 30% methanol and *n*-hexane

spec #	Mass spectral data (relative intensity %)	Identity <sup>a</sup>
460	105(17), 119(14), 131(21), 147(17), 161(12), 189(100), 204(17)	
469	93(72), 107(46), 121(100), 136(20), 161(13), 189(6), 204(1)	$\delta$ -elemene <sup>b</sup>
499	105(45), 119(32), 133(75), 148(100), 161(9), 189(60), 204(28)	
519	105(63), 119(75), 133(100), 147(75), 161(76), 162(78), 175(18), 189(52),	
537	204(51)	
548	105(41), 119(33), 133(34), 147(42), 161(20), 189(100), 204(25)	
561	105(91), 119(94), 133(100), 147(74), 161(89), 162(78), 189(65), 204(39)	$\beta$ -panasinsene <sup>c</sup>
577	105(75), 107(70), 119(42), 133(77), 147(30), 161(100), 175(18), 189(31),	
590	204(21)	$\beta$ -elemene
599	105(49), 107(55), 119(32), 121(25), 133(35), 147(72), 162(100), 189(13),	
633	204(12)	$\alpha$ -gurjunene <sup>d</sup>
647	81(100), 93(94), 107(60), 121(39), 133(27), 147(35), 161(23), 189(18), 204(1)	
663	105(41), 119(31), 133(100), 148(52), 161(22), 189(16), 204(6)	
	91(70), 105(95), 119(75), 133(60), 147(35), 161(100), 189(85), 204(71)	
683	105(95), 119(45), 133(33), 147(100), 161(29), 162(35), 189(23), 204(35)	$\gamma$ -muurolene
696	91(92), 93(100), 105(89), 107(81), 119(56), 133(60), 147(42), 161(58), 163(81),	(+)-aromadendrene <sup>e</sup>
	189(47), 204(22)	
720	105(50), 119(40), 133(27), 147(20), 161(100), 162(23), 189(22), 204(8)	$\alpha$ -neoclovene <sup>f</sup>
728	91(97), 93(95), 105(96), 107(75), 119(74), 133(58), 147(68), 161(65), 189(30),	$\alpha$ -humulene <sup>g</sup>
750	204(20)	alloaromadendrene <sup>e</sup>
	105(77), 107(58), 119(48), 133(40), 161(100), 175(42), 189(71), 204(22)	
755	93(100), 107(22), 121(34), 147(20), 161(6), 189(5), 204(6)	isocaryophyllene <sup>f</sup>
764	69(100), 93(94), 105(56), 107(45), 119(45), 133(70), 147(34), 161(49), 189(30),	cis-caryophyllene <sup>f</sup>
	204(35)	
784	69(100), 79(75), 93(95), 105(25), 120(52), 133(72), 161(34), 189(6), 204(5)	$\gamma$ -selinene
802	69(100), 79(61), 93(85), 105(42), 119(35), 120(33), 133(55), 161(42), 189(16),	$\beta$ -selinene
	204(4)	
836 <sup>h</sup>	91(57), 105(62), 119(35), 133(80), 147(35), 161(32), 189(100), 204(36)	germacrene B <sup>†</sup>
842	79(80), 93(93), 105(100), 107(89), 121(60), 133(47), 147(45), 161(47), 175(21),	$\alpha$ -amorphene
	189(36), 204(25)	
855	93(95), 107(89), 121(100), 136(31), 161(47), 189(18), 204(15)	contaminant <sup>g</sup>
872	93(52), 105(100), 119(43), 133(19), 161(47), 189(12), 204(27)	$\beta$ -bisabolene
	93(32), 105(16), 133(15), 191(100), 206(17)	
896	69(100), 93(75), 109(24), 119(20), 121(13), 133(8), 147(4), 161(20), 189(5),	$\delta$ -cadinene
	204(10)	
902	105(76), 119(75), 134(55), 147(7), 161(100), 189(17), 204(44)	$\beta$ -sesquiphellandrene <sup>h</sup>

<sup>a</sup>identified by the WILEY and NIST library search or comparing with authentic samples, <sup>b</sup>interchangeable with germacrene B, <sup>c</sup>further identified by comparing with authentic samples, <sup>d</sup>interchangeable with  $\beta$ -maaliene, <sup>e</sup>have similar fragmentation patterns, <sup>f</sup>interchangeable with  $\delta$ -elemene, <sup>g</sup>identified to be artificial phenolic antioxidant, <sup>h</sup>its spectrum also matches those of trans- $\beta$ -farnesene or farnesol.

palmitic acid(spec # 1729), linoleic acid(spec # 1854) 등의 지방산으로 동정되었다. Fig. 2B에서 동정된 30여종의 sesquiterpene 성분들의 피크면적을 합산한 후 각 피크의 백분율(%)을 구한 결과, alloaromadendrene 17.7%, germacrene B 17.5%, isocaryophyllene 8.9%,  $\alpha$ -neoclovene 8.2%,  $\gamma$ -muurolene 8.3%,  $\beta$ -panasinsene 6.4%,  $\alpha$ -humulene 4.9% 등 10여종이 80% 이상을 차지하는 주요 sesquiterpene계 성분이었다. 그 밖에 Fig. 2B에 나타난 spec # 1654와 1804는 각각 palmitic acid methyl ester와 linoleic

acid methyl ester로 동정되었는데, 이들이 인삼 고유의 물질인지는 아직 확실치 않다.

고양근은 정향, 계피를 비롯한 많은 식물의 정유에 존재한다고 보고되어 있는데, trans-caryophyllene( $\beta$ -caryophyllene)이 한국백삼의 정유중의 7.07%를 차지하는 주요 sesquiterpene이라고 보고하였는데, 본 연구에서 표준품과 대조한 결과 확인할 수 없었다. WILEY와 NIST Library에는 3개의 caryophyllene 이성체의 질량스펙트럼이 수록되어 있다. 즉 trans-caryophyllene(WILEY 131006, 131008, 131011),

cis-caryophyllene(WILEY 37605) 그리고 isocaryophyllene(NIST 23887)인데, 이들의 세 질량스펙트럼은 서로 매우 유사한 분열 패턴을 가지고 있다. 본 연구에서 표준품을 사용하여 확인한 결과, GC profile상에서 trans-caryophyllene과 같은 tR에서 피크(spec # 647)가 나타났지만 질량스펙트럼이 상이한 것으로 보아 인삼의 정유에는 trans-caryophyllene이 존재하지 않는 것으로 판단된다. 따라서 trans-caryophyllene과 질량스펙트럼이 매우 유사하게 나타난 spec # 755와 764 피크는 isocaryophyllene 또는 cis-caryophyllene으로 동정하였다. Isocaryophyllene은 식물체에 널리 분포한다고 보고되어 있다.<sup>13)</sup> 이상에서 살펴본 바와 같이 새로이 개발된 두 방법에 의해 분리된 인삼의 정유중에는 sesquiterpene계 성분이 81.1~84.0%로서 대부분을 차지하고 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

본 연구는 인삼 sesquiterpene계 성분을 간편하게 분리하는 방법을 확립하기 위하여 수행하였다. 인삼 분말을 물과 에테르/헵탄 대신 30% 메탄올과 *n*-헵산으로 동시증류추출(SDE)하거나, 70°C로 유지되는 U자관에 인삼분말을 넣고 질소개스에 의해 밀려 나오는 휘발성 성분을 C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup>으로 포집한 후 *n*-헵산으로 용출하였다. 위에서 얻은 두 정유성분 추출물을 상법에 의해 조제한 정유성분 추출물과 TLC 및 GC/MS로 분석, 비교한 결과 새로이 확립한 두 방법에 의해 분리한 인삼의 정유중에는 인삼에서 알려진 여러 정유성분 중  $\beta$ -panasinsene,  $\alpha$ -neoclovene,  $\alpha$ -humulene 그리고 alloaromadendrene 등 분자량

204의 30여종 sesquiterpene계 성분이 81.1~84.0%로서 대부분을 차지하고 있음을 literatme search 및 일부 표준품을 사용한 비교실험을 통해 확인하였다.

## 인 용 문 헌

1. 김만옥, 박종대 : 고려인삼학회지 **8**, 22 (1984).
2. Kim, M. W., Choi, K. J. and Wee, J. J. : *Proc. Int'l. Ginseng Symp.*, Seoul, Korea, p. 185 (1984).
3. Zhang, H., Sun, Y., Mao, K., Jang, W., Li, F., Wang, M., Zhou, W. and Sun, Z. : *Proc. Int'l Ginseng Symp.*, p. 87 (1990).
4. Iwabuchi, H., Yoshikura, M., Ikawa, Y. and Kamisako, W. : *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1975 (1987).
5. Iwabuchi, H., Yoshikura, M. and Kamisako, W. : *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 2447 (1988).
6. Iwabuchi, H., Yoshikura, M. and Kamisako, W. : *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 509 (1989).
7. 고성룡, 최강주, 김영희 : 고려인삼학회지 **20**, 42 (1996).
8. 위재준 : 미발표자료.
9. Land, D. G. and Nursten, H. E. : *Progress in Flavour Research*, Applied Science Publishers, London, p. 83 (1978).
10. Morton, I. D. and Macleod, A. J. : *Food Flavors Part A. Introduction*, Elsevier, Amsterdam, p. 21 (1982).
11. Land, D. G. and Nursten, H. E. : *Progress in Flavour Research*, Applied Science Publishers, London, p. 87 (1978).
12. Buckingham, J. (ed.) : *Dictionary of Natural Products* Vol. I, Chapman and Hall, London, p. 880 (1994).