

TLC에 의한 한국산 인삼과 서양삼 페놀성 성분의 비교

위재준* · 신지영¹ · 김시관 · 김만욱

한국인삼연초연구원, ¹서울여자대학교 식품미생물공학과
(1998년 3월 1일 접수)

Comparison of Phenolic Components between Korean and American ginsengs by Thin-Layer Chromatography

Jae Joon Wee*, Ji Young Shin¹, Si-Kwan Kim and Man Wook Kim

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

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

(Received March 1, 1998)

Abstract : The distribution of phenolic components of Korean ginseng (*Panax ginseng*, KG) and American ginseng (*Panax quinquefolium*, AG) were compared by thin-layer chromatography (TLC). Silica gel TLC gave 3-4 spots, while NH₂ HPTLC 5-6 spots, which were colored by both FeCl₃/K₃Fe(CN)₆ and Folin-Ciocalteu. The distribution of phenolic components was quite different between KG and AG. Especially, a polyphenol (m.w. 578), which had been isolated from KG by the author, was not found in AG. This result suggests that the polyphenol could be used as an index compound for the differentiation of KG from AG.

Key words : Phenolic components, polyphenol, TLC, index compound, Korean ginseng, American ginseng.

서 론

인삼의 페놀성 성분은 노화억제 활성성분으로 관심의 대상이 되어 한 등¹⁾에 의해 홍삼에서 maltol이 분리된 이래, 수삼에서 salicylic acid, vanillic acid 등이 분리되었고,²⁾ 위 등³⁻⁶⁾은 백삼에서 추가로 ferulic acid, caffeic acid 등을 분리하였다. Salicylic acid 등은 마우스에서 알코올로 유도되는 간의 지질과산화에 대해 항산화효과를 나타내었고²⁾ caffeic acid는 시험관 내에서 유도되는 흰 쥐 간 마이크로솜의 지질과산화에 대해 알려진 maltol보다 더 강력한 억제성을 나타내었다.⁷⁾ 한편 위 등⁸⁾은 계속된 연구에서 백삼의 지용성 산성분획으로부터 벤젠고리가 6개, hydroxyl group이 4개이고 분자량이 578로 추정되는 polyphenol 성분을 처음으로 분리하여 그 부분 구

조를 보고한 바 있다. 또한 최근 위 등⁹⁾은 GC/MS를 통해 salicyl alcohol, p-hydroxybenzyl alcohol 등을 한국산 홍삼에서 처음으로 동정한 바 있다.

본 연구에서는 이와 같이 인삼에서 알려진 페놀성 성분을 대상으로 TLC를 통하여 한국산 인삼(고려인삼, *Panax ginseng* C.A. Meyer)과 서양삼(*Panax quinquefolium* L.)의 페놀성 성분을 비교한 결과, 특히 위에서 언급한 polyphenol 성분이 서양삼에서는 검출되지 않는 현저한 차이를 보였기에 이를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

(1) 인삼시료

한국산 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 시료 중

백삼은 금산산 직삼과 반곡삼 20편과 피부백삼 50편 (표피가 부착됨)을 시중에서 구입하였고 홍삼은 담배 인삼공사에서 제조한 양삼 30지를 사용하거나 한국 인삼연초연구원 음성시험장에서 95년 10월 채굴된 6년근 수삼으로 부여 홍삼제조장에서 제조한 것을 사용하였다. 서양삼(*Panax quinquefolium* L.) 시료는 북미산과 중국산을 모두 구입해 사용하였다. 북미산 서양삼은 95년 4월 Wisconsin, Ontario, British Columbia주 등 북미 현지에서 직접 구입한 것으로서 우리 나라 백삼과는 달리 표피를 벗기지 않고 수삼을 그대로 건조시킨 형태였다. 중국산 서양삼과 중국산 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 96년 4월 중국 길림성 현지에서 구입하였다. 중국산 인삼은 우리 나라 백삼의 형태이고 표피가 부착되어 있었다.

(2) 시약

추출 및 분획용 용매는 모두 EP급을, 최종 정제용 용매는 HPLC급을, NMR 측정용 용매는 Fluka사 제품을 사용하였다. 페놀성 성분 표준품은 일본 동경화학공업(주) 또는 Sigma사 제품을 사용하였고 polyphenol 표준품은 전보⁸⁾에서와 같은 방법으로 백삼 2 kg으로부터 순수분리하여 사용하였다. TLC plate는 Merck사 제품으로서 silica gel 60 F₂₅₄ pre-coated aluminium sheet와 HPTLC NH₂ F₂₅₄S pre-coated glass plate를 사용하였다. 막 두께는 모두 0.2 mm 이었다. FeCl₃, K₃Fe(CN)₆와 Folin-Ciocalteu는 Sigma사 제품이었다.

2. 방법

(1) Polyphenol 표준품의 분리

한국산 백삼 2 kg의 80% 메탄올 추출물을 증류수에 분산시키고 석유에테르로 세척한 후 에칠아세테이트로 추출하였다. 이 추출액을 1N-NaOH로 다시 추출한 다음 이 알칼리층을 산성화시킨 후 다시 에칠아세테이트로 추출하여 polyphenol 성분이 함유된 산성분획을 얻었다. 이 분획을 전보⁸⁾에서와 같은 방법으로 column chromatography하여 polyphenol 화합물(1) 약 3 mg(yield 1.5 × 10⁻⁴%)을 분리하였다. 분리된 화합물(1)을 NMR(Bruker ARX 400) 및 mass(JEOL JMS-DX 303) 분석하여 화학구조를 확인하였다.

Polyphenol 화합물(1, 3 mg) : white powder, TLC Rf 0.23(silica gel, toluene/EtOAc/HCOOH, 5:4:1), FeCl₃ positive, ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-d₆, δ)

7.58(1H, d, J=15.9, olefine), 7.40(1H, s), 7.37 (1H, s), 6.70~7.57(9H, aromatic), 6.37(1H, d, J=15.9, olefine), 3.56, 3.75, 3.94(methoxy×3), ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-d₆, c) 170.57(carbonyl), 148.59~149.04 (methoxy×3), 123.17~139.73(quaternary), 112.73~117.79 (aromatic), EI/MS(m/z, %) 446(3), 386(10), 342(14), 194(100), 150(20).

(2) 페놀성 성분의 추출 및 분획

전보⁸⁾에서와 동일한 방법을 사용하였다. 즉, 인삼 분말 50 g에 80% 메탄올을 가하고 80°C에서 환류추출하고 농축한 다음, 증류수에 분산시키고 에칠 에테르로 추출하였다. 추출액을 합치고 부피를 줄인 다음, 1N-NaOH로 추출하였다. 이 알칼리 용액의 pH를 산성화한 다음 에칠 에테르로 추출, 농축하여 에테르 가용성 산성분획을 얻었다. 잔사를 메탄올로 최종 10 ml로 하여 TLC 분석시료로 사용하였다.

(3) 페놀성 분획의 TLC 분석

위에서 얻은 각 인삼시료의 페놀성 분획 10 ml 중 20 μl씩을 TLC plate에 점적하였다. Silica gel 60 G의 전개용매는 toluene/EtOAc/HCOOH(5:4:1)이었고 HPTLC NH₂의 전개용매는 AcCN/BuOH/NH₄-OH(1:1:1)를 사용하였다. 발색시약으로 FeCl₃/K₃Fe(CN)₆는 각각 1%, 2% 수용액을 사용전 동량씩을 혼합하여 분무하거나, FeCl₃를 0.5N-HCl에 녹여 사용하였고 Folin-Ciocalteu는 사용전 증류수로 1:1로 희석하여 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 분리된 polyphenol 화합물(1)의 확인

분리된 화합물 1은 FeCl₃ 및 Folin-Ciocalteu에 각각 갈색과 회색으로 정색되었다. ¹H-NMR(DMSO-d₆) 스펙트럼에서 3개의 methoxy group(δ 3.94, 3.75 및 3.56, singlet), 두개의 olefinic group(δ 7.58과 6.37, doublet, J=15.9), 11개의 aromatic proton(δ 6.70~7.57)을 확인하였다. 이러한 결과는 위 등⁸⁾이 보고한 바 있는 polyphenol permethyl ether의 ¹H-NMR 스펙트럼에 나타난 aromatic proton의 signal 패턴과 일치하는 경향으로 새로 분리한 물질이 동일 물질임을 시사하였다.

¹³C-NMR 스펙트럼에서는 한개의 carbonyl carbon(δ 170.57), 3개의 methoxy carbon(δ 148.59~

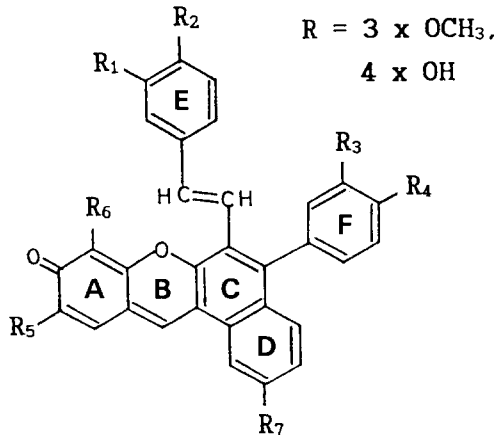


Fig. 1. Possible structure of a polyphenol (1) isolated from Korean ginseng.

149.04), 7~8개의 quaternary carbon(δ 123.17~139.73)을 확인하였다. 또한 112.73~117.79의 signal도 8~9개의 aromatic carbon의 존재를 시사하고 있다. EI/MS 스펙트럼에서는 m/z 446, 386, 342, 150 등이 나타났는데, 이 중 m/z 342는 Fig. 1에 표시된 B와 D ring의 개열에 의하여 생성된 것으로 생각할 수 있으며 m/z 150은 B ring의 개열에 의한 fragment ion으로 추정된다. 전보⁸⁾에서 permethyl ether를 high resolution mass 분석하였을 때 나타난 m/z 151, m/z 454도 B와 D ring의 개열에 의한 것으로 사료되며 본 연구결과를 뒷받침한다. 이상의 결과로부터 분리된 물질은 전보⁸⁾에서 이미 보고한 바 있는 polyphenol임을 확인하였다.

2. 한국산 인삼과 서양삼의 페놀성 성분의 TLC 비교

(1) Silica gel TLC에 의한 비교

한국산 홍삼과 백삼 그리고 서양삼 페놀성 분획을 silica gel TLC하였을 때, FeCl₃/K₃Fe(CN)₆와 Folin-Ciocalteu에 검출되는 3~4개의 spot가 분리되었다 (Fig. 2). 7종의 페놀성 화합물 표준품을 전개시킨 결과 3개의 spot으로 분리되었는데, spot a는 *p*-coumaric+vanillic+*p*-hydroxybenzoic+ferulic acid이고 spot b는 gentisic+caffeic acid, spot c는 polyphenol이다.

- 한국산 홍삼과 백삼의 비교: 한국산 홍삼과 백삼의 뚜렷한 차이는 홍삼 제조과정 중에 생성되는 것으로 알려진 maltol(Rf 0.35)의 유무로 나타났는데, 위 등⁹⁾은 GC/MS를 통해 이를 보고한 바 있고, 이번에는

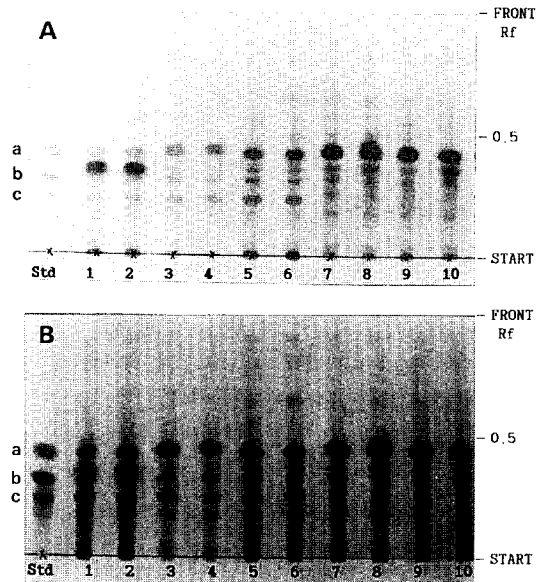


Fig. 2. Thin-layer chromatograms of phenolic components of ethyl ether soluble acidic fractions from Korean ginseng (KG) and American ginsengs (AG). TLC plate: pre-coated silica gel 60 G aluminium sheet, Developing solvent: toluene/EtOAc/formic acid (5:4:1), Spraying reagent: (A) FeCl₃/K₃Fe(CN)₆, (B) Folin-Ciocalteu, Track 1: KRG¹ (Korean Red Ginseng, "Chunsam"), 2: KRG("Yangsam"), 3: KG² ("Jik-sam"), 4: KG ("Bangoksam"), 5: KG ("Pibubaeksam"), 6: Chinese ginseng³, 7: AG³ (Wiscon.), 8: AG (Ont.), 9: AG (B.C.), 10: AG (cultivated in Changchoon, China), Spot a: *p*-coumaric+vanillic+*p*-hydroxybenzoic+ferulic acid, b: gentisic+caffeic acid, c: polyphenol. ¹steamed and dried ginseng, ²dried ginseng with skin peeled off, ³dried ginseng with skin.

TLC 방법으로 백삼류에 나타나지 않음을 재확인하였다. Maltol의 spot은 TLC상에서 특징적인 주황색을 나타내므로 홍삼과 백삼을 구별짓는 지표성분으로 활용할 수 있다고 사료된다. Maltol은 백삼에는 존재하지 않지만 다량의 백삼을 추출하여 농축하는 과정에서 고온 처리를 받으면 생성될 수도 있다.¹⁰⁾ 우리나라 백삼류 중 백삼은 피부백삼에 비해 대체로 정색 반응이 약하게 나타난 것으로 보아 전반적인 페놀성 성분의 함량이 낮은 것으로 추정되며 그 이유는 백삼 제조시 표피를 제거하기 때문인 것으로 사료된다. Spot b에 함유되어 있는 caffeic acid는 phenolic group 2개가 벤젠고리의 3번 및 4번 위치에 인접하여 치환되어 있는 화합물로서 반응성이 강하여 항산

화활성은 강한 반면 산화 변질이 쉬운 물질로서 홍삼 제조과정중 소실이 클 것으로 추측되나 본 실험조건에서는 maltol과의 중첩으로 인해 홍삼과 백삼간에는 비교하기 어려웠다.

- 한국산 인삼과 서양삼간 비교: 서양삼은 표피가 부착된 우리 나라 피부백삼에 해당하는 것으로서 spot a는 한국산 인삼에 비해 서양삼에서 강하게 나타났다. Spot b는 한국산 백삼류와 서양삼간에는 다소 다른 분리패턴을 나타냈다. Spot c는 분자량 578로 추정되는 polyphenol로서 우리 나라 홍삼과 백삼류와 우리 나라 인삼과 동종인 중국산 인삼(표피 부착)에서는 모두 나타났으나 서양삼(북미산 및 중국산)에서는 전혀 검출되지 않았다. 우리 나라 인삼류를 서로 비교해 보면 표피가 부착된 피부백삼과 홍삼이 표피가 제거된 백삼에 비해 polyphenol이 더 강하게 나타난 것으로 보아 polyphenol은 표피쪽에 더 많이 분포하는 것으로 추측된다. 서양삼은 표피가 있음에도 불구하고 이 spot이 나타나지 않은 점은 서양삼에 polyphenol이 존재치 않을 가능성을 더 뒷받침해 준다.

이상 살펴 본 바와 같이 한국산 인삼과 서양삼의 페놀성 분획의 TLC 분리패턴은 일부 공통적인 spot을 제외하고는 조성 및 spot의 존재 유무 등 현저한 차이를 나타내었다. 지금까지 한국산 인삼과 서양삼과의 화학성분의 비교에서 현저한 차이가 나는 것으로 이미 밝혀진 성분 계열은 대표적으로 사포닌 성분¹¹⁾과 sesquiterpene 계열¹²⁾이다. 이 둘은 모두 terpenoid계 화합물로서 이들 2차 대사산물의 생합성 경로가 한국산 인삼과 서양삼간에 서로 다름을 시사해 주고 있다. 본 연구 결과에 나타난 polyphenol 역시 한국산 인삼과 서양삼간에 화학적 성분차이를 나타내는 지표물질이 될 수 있음을 시사한다.

(2) NH₂ HPTLC에 의한 비교

앞에서 silica gel TLC에 의한 결과를 재확인하기 위해서 NH₂ HPTLC를 시행하였다(Fig. 3). Spot a (salicylic acid+saligenin)는 한국산 백삼을 제외하고는 한국산 홍삼, 피부백삼, 그리고 서양삼류에서 유사한 분리패턴을 나타내었다. Spot b는 maltol로서 한국산 홍삼에서만 나타남을 알 수 있고 spot c(genticic acid)와 spot d(*p*-coumaric+vanillic+ferulic+syringic acid)는 한국산 인삼보다 서양삼류에서 강하게 나타났다. Spot e가 polyphenol 성분으로 silica

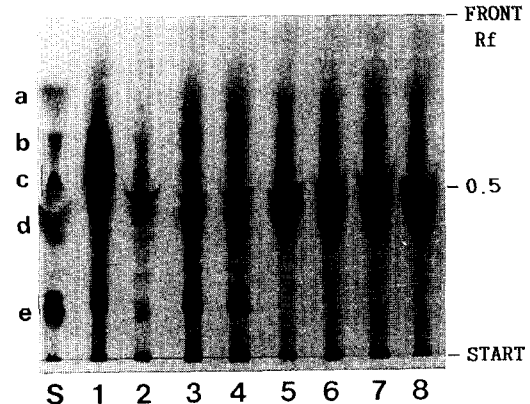


Fig. 3. Thin-layer chromatograms of phenolic components of ethyl ether soluble acidic fractions from Korean ginsengs (KG) and American ginsengs (AG). TLC plate: HPTLC NH₂, Developing solvent: AcCN-BuOH-NH₄OH(1:1:1), Spraying reagent: Folin-Ciocalteu, Track S: Authentic phenolic components mixture, 1: KRG ("Yangsam"), 2: KG ("Bangoksam"), 3: KG ("Pibubaeksam"), 4: Chinese ginseng, 5: AG (cultivated in Cheongwoo, China), 6: AG (cultivated in Changchoon, China), 7: AG (Wiscon.), 8: AG (Ont.), Spot a: salicylic acid+saligenin, b: maltol, c: genticic acid, d: *p*-coumaric+vanillic+ferulic+syringic acid, e: polyphenol, Abbreviations and notes are the same as in Fig. 2.

gel TLC에 의한 앞의 결과와 같이 한국산 인삼류에서는 뚜렷이 나타났으나 북미산 및 중국산 서양삼에서는 모두 검출되지 않았다. 다만 앞에서와 같이 한국산 백삼은 피부가 부착된 피부백삼 및 중국산 인삼에 비해 polyphenol 성분(spot e)의 함량이 낮게 나타난 것으로 보아 polyphenol 성분은 표피쪽에 높게 분포함을 다시 시사해 주었다. 서양삼은 피부가 부착되어 있음에도 불구하고 polyphenol 성분이 검출되지 않는 것으로 보아 polyphenol 성분은 한국산 인삼과 서양삼간 차별화 지표성분으로 활용할 수 있다고 사료된다.

앞의 결과를 종합해 볼 때, silica gel TLC 및 NH₂ HPTLC를 통해 polyphenol은 한국산 인삼과 중국산 인삼에는 존재하나 서양삼에 없는 것으로 확인할 수 있었다. 페놀성 분획 중 성분을 유도체화(trimethylsilyl, methyl)하여 GC로 분석해 보면 페놀성 성분에 비해 혼입된 유기산, 지방산 등의 피크가 상대적으로 크게 나타나고 특히 polyphenol의 피크를 검출하기가 어려웠다.^{9,13)} 그러나 본 연구에서 같이 TLC

분석은 분획 중 페놀성 성분만이 선택적으로 정색되어 검출되므로 단순한 profile이 얻어졌고, 특히 서양삼과의 polyphenol 비교에 있어서는 일반적인 GC (FID)와 GC/MS(EI)로 얻을 수 없었던 뚜렷한 비교 결과를 얻을 수 있었다.

요 약

한국산 인삼(*Panax ginseng*)과 서양삼(*Panax quinquefolium*) 페놀성 성분의 분포를 TLC로 비교하였다. $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ 와 Folin-Ciocalteu를 분무하였을 때, silica gel TLC에서는 3~4개 spot이, NH_2 HPTLC에서는 5~6개 spot이 검출되었다. 한국산 인삼은 서양삼에 비해 페놀성 물질의 분포에 있어 현저한 차이를 나타내었다. 특히 한국산 인삼으로부터 분리된 바 있는 분자량 578로 추정되는 polyphenol은 서양삼에서는 검출되지 않았는데, 이러한 결과는 이 성분이 종이 다른 한국산 인삼과 서양삼간의 화학적 성분 차이를 나타내는 지표성분이 될 수 있음을 시사한다.

인 용 문 헌

1. Han, B. H., Park, M. H., Woo, L. K., Woo, W. S.

- and Han, Y. N. : *Proc. 2nd Int'l Ginseng Symp.*, Seoul, Korea, p.13 (1978).
2. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. : *Arch. Pharm. Res.*, **4**, 53 (1981).
3. 위재준 : 인삼의 항산화 및 조혈활성 분획성분의 분리 및 동정, 서울대학교 박사학위 논문 (1989).
4. 위재준, 박종대, 김만옥, 이형주 : 한국농화학회지 **32**, 50 (1989).
5. 위재준, 박종대, 김만옥, 이형주 : 한국 농화학회지 **32**, 44 (1989).
6. Kim, M. W., Wee, J. J. and Park, J. D. : *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**, 392 (1987).
7. 김만옥 등 : 미발표자료
8. 위재준, 박종대, 김만옥 : 고려인삼학회지 **14**, 27 (1990).
9. 위재준, 허정남, 김만옥 : 고려인삼학회지 **20**, 284 (1996).
10. 박종대 : 인삼 알칼로이드 분획의 성분에 관한 연구, 성균관대학교 박사학위 논문 (1986).
11. Morita, T. : 아시아산 *Panax*(인삼)속 식물의 화학적 연구, 히로시마의과대학 대학원 분자약학과 박사학위논문, p.6 (1986).
12. 위재준, 신지영, 손현주, 허정남, 김시관, 김만옥 : 고려인삼학회지 **21**, 209 (1997).
13. 김만옥, 위재준 : 고려인삼학회지 **9**, 54 (1985).