

## 솔잎으로부터 Polyphenols의 분리 · 정제

김덕숙 · 김경이 · 이근보  
서일대학 식품가공과

### Separation and Purification of Polyphenols from Pine Needle

Duk-Sook Kim, Kyung-Yee Kim and Keun-Bo Lee

Department of Food Science and Technology, Seoil College, Seoul 131-702, Korea

#### Abstract

The antimicrobial and antioxidative effect of polyphenols (PP) was proved from pine needle. This method which was separated and purified of PP used pine needle powder as the material and assorted the solvent and then it was added the 7 times (w/v) of the material. It was extracted at 85°C for 6 hours and was passed the column to fill with formamide-active carbon (1:1, w/v). It was concentrated and dried by sprayer, added n-hexane as the food adding material in this powder, was extracted for 1 hrs. The each sample was obtained after removing the fat component then dried. The effect of extraction solvent among the hot water, ethyl alcohol (EtOH), isopropyl alcohol (IPA) was determined depending on the yield and the purity. The relationship between the yield and purity showed the positively inverse proportion and the extraction solvent was selected as the utilization of separation material. As the method of separation and purification of PP was accomplished, in order to use of the new subject matter the purity enhance is expected. The application of the new subject matter as the raw material of food needs to examine actively except the functional properties of anticancerous, antimicrobial, antioxidative, antiallergic.

Key words : pine needle, polyphenols, n-hexane, EtOH, IPA

## 서 론

소나무(*Pinus densiflora*)는 한국, 일본, 만주 등 각처의 야산에서 자생하는 식물(1)로 솔잎과 솔방울은 예로부터 구황 식물로 이용되었으며, 전통 민속주의 방향 및 약용으로도 이용되어 왔다(2). 최근에는 건강 기호식품과 음료, 화장품 등의 원료 성분으로 제표화되고 있는 실정이다. 그러나 아직까지 솔잎의 여러 약리작용에 대하여는 완전히 밝혀지지 못하고 있는 실정이며, 경험적으로 각종 약효가 있다고 알려져 왔을 뿐이나 예로부터 산사에서는 수도승들이 이 분말을 식사대용으로 사용하는 등 널리 이용되어져 왔다. 한의서(3)나 민간요법(4)에 의하면 간장질환, 비뇨생식기계 질환, 위장질환, 신경계질환, 순환기계질환, 피부질환 등에 효과가 있는 것으로 알려지고 있기도 하다. 뿐만 아니라 최근 김등(5)은 중요한 사료자원의 하나인 탈지 옥수수배아박(defatted corn germ meal)에 생 솔잎 및 솔잎분말을 5% (w/w) 처리하여 aflatoxin의 생성을 현격하게 억제할 수 있었

다고 보고한 바 있으나 솔잎의 어떤 성분에 의한 효과인지가 규명되지 못한 실정이다. 이와 함께 솔잎의 항산화물질에 관한 구체적인 연구도 행해진 바 있는데(6), 일반적으로 항산화물질은 동·식물계에 널리 분포되어 있으며, 과일과 채소에 많은 phenol성 화합물, flavone 유도체, 토코페롤, 아스코르빈산, 셀레늄과 같은 항산화물질은 지방의 산화를 지연시키거나 방지하며, 암, 심장혈관기계 질환 등을 예방·지연시킴으로써 노화방지에도 중요한 역할(7)을 하는 것으로 알려지고 있다.

실제로 탈지 들깨박에서 추출한 각 형태의 페놀산 추출물들은 각각의 페놀함량 차이가 크에도 불구하고 대두유에서 0.02% (w/w) 농도로 첨가된 BHT와 비슷한 정도의 항산화 효과를 나타내었다고 보고(8)한 바 있다. 탈지들깨박 중 페놀산 추출물은 유리형, 에스터형, 불용성 페놀산이 각각 213, 133.1, 89.4 mg/100 g 이었으며, 이의 항산화 효과는 TBHQ 보다는 약했으나 BHA나 AP (0.02%) 보다는 강하였다(9). 홍화 추출물의 폴리페놀 화합물 함량은 홍화꽃잎 수용성 및 MeOH 추출물은 12.70% 및 8.05%, 홍화씨는 6.96% 및 12.34%, 홍화순은 각각 8.75% 및 5.10%였다(10).

이러한 polyphenols의 활용방안은 무궁무진할 것으로 판단되지만 그동안 학술적 차원에서의 고순도 정제품에 대한 기

Corresponding author : Duk-Sook Kim, Department of Food Science and Technology, Seoil College, Seoul 131-702, Korea  
E-mail : dskim@seoil.ac.kr

법은 활발하게 진행된 반면 산업적으로 직접 응용할 수 있는 분리·정제에 관한 연구보문은 전혀 찾아 볼 수 없었다. 이에 본 연구에서는 산업적으로 직접 응용 가능한 분리·정제 방법을 확립하고자 하는 의도에서 본 연구를 행하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

솔잎은 2000년 6월 초순 경기도 용인지역의 야산에서 직접 채취한 리키다 종으로 이를 증류수로 3회에 걸쳐 세척을 실시하여 이물 등을 완전히 제거한 다음 햇빛을 전혀 받지 않는 응달에서 자연건조 하여 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄물은 50 mesh 체를 이용하여 체질한 후 이 분말을 본 실험의 재료로 사용하였다.

### Polyphenols 물질의 분리·정제

솔잎분말로부터 polyphenols의 분리·정제는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 행하였다. 즉, 솔잎을 건조·분쇄하여 얻은 분말을 이용하여 polyphenols의 경우는 열수, ethyl alcohol (EtOH) 및 isopropyl alcohol(IPA)을 각각 1:7(v/v)의 비율로 혼합하여 환류냉각기를 설치하고 85℃의 온도조건에서 6시간 동안 연속적으로 추출을 실시하였다. 추출이 완료된 다음 이를 여과지를 이용하여 여과하고 이 여액을 formamide-활성탄소(1:1, w/w)를 충전한 유리관을 통과시켜 정제(8)를 행하였다. 추출용매는 진공감압농축기(rotary vacuum evaporator, BUCHI, Germany)에서 50~60℃, 진공도 700 mmHg의 조건하에서 농축하여 제거하였다. 이 농축액을 분무건조한 후 이 추출분말에 식품첨가물용 n-hexane을 1.0:2.5(w/v)의 비율로 가하여 상온 하에서 서서히 교반하며 1시간 동안 추출하여 조지방 성분을 제거하였다. 조지방 성분이 제거된 분말을 풍건하여 정제된 polyphenols를 얻었다.

### Polyphenols 화합물의 함량분석

Polyphenols의 함량은 Folin-Denis법(11)을 일부 수정하여 측정하였다. 즉, 솔잎 추출물을 1 mg/mL에 녹인 다음 0.2 mL을 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 정용한 후 0.2 mL Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 다음 3분간 실온에서 방치하였다. 3분 후 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 다음 실온에서 1시간 방치하여 상징액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, 총 polyphenols는 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid 1 mg을 50% MeOH 용액 1 mL에 녹이고 최종농도가 0, 50, 100, 150, 200 및 300 μg

/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출용매에 따른 polyphenols의 물리적 성질의 변화

솔잎으로부터 솔잎 polyphenols를 추출하는 과정에서 그 추출용매로 열수 EtOH 및 isopropyl alcohol을 각각 사용한 결과는 Table 1에서 나타낸 바와 같았다. 즉, polyphenols는 추출, 농축과정에서의 열처리에 의하여 변색이 초래되어 솔잎 고유의 색상이 아닌 암갈색을 보였을 뿐만 아니라 고유의 맛과 향이 아닌 이미·이취를 강하게 나타내었다. 각각의 추출용매에 의하여 얻어진 polyphenols의 외관 및 관능적 특성에서는 열수추출물이 상대적으로 그 색상이 가장 밝고 이미·이취가 약한 등 가장 우수한 반면 최종적으로 얻어진 수율은 가장 낮은 9.84%였다. 이에 비하여 그 추출용매로 EtOH, IPA를 사용한 경우는 열수추출물에 비하여 그 외관상 암갈색의 정도와 이미·이취발생 정도가 심하였으며, 상대적으로 수율은 각각 11.61, 14.36%를 나타내어 대조적이었다. 사과와 같은 경우는 성숙도에 따라 페놀계 물질의 함량이 70.19~97.57 mg% 였으며, 성숙이 진행됨에 따라 점진적인 감소현상을 보이는 것으로 보고된 바 있다(12).

Table 1. Change of physical properties of pine needle polyphenol according to extraction solvent from pine needle

Extraction solvent	Dark brown color <sup>1)</sup>	Off-flavor <sup>2)</sup>	Off-taste <sup>3)</sup>	Yield (%)
Hot water	**	**	*	9.84
Ethyl alcohol	***	***	**	
Isopropyl alcohc	*****	*****	***	14.36

<sup>1)</sup>Color : Strength of dark brown color by color change.

<sup>2)</sup>Flavor : Strength of off-flavor.

<sup>3)</sup>Taste : Strength of off-taste.

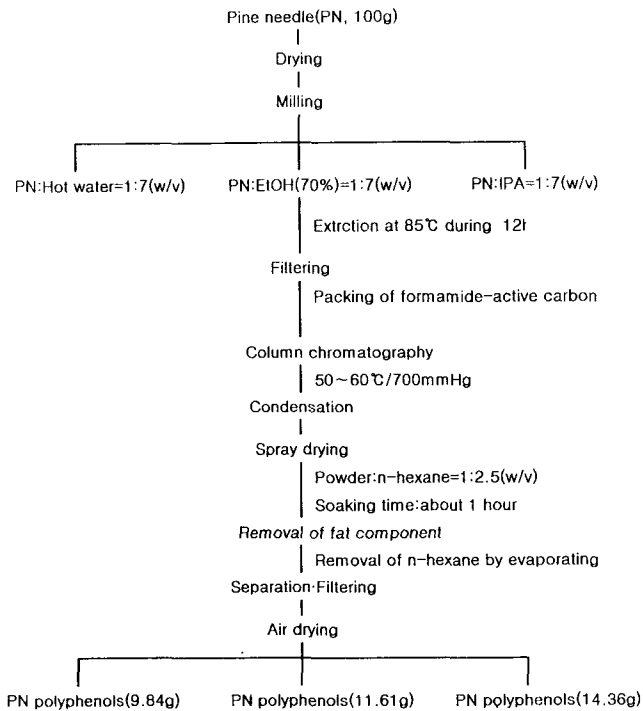
이와 같이 추출용매에 따라 성상 및 수율에서 차이를 보이는 것은 추출용매의 극성도 차이와 농축과정에서의 휘발 시간에 따른 열처리 정도의 차이에 기인하는 현상의 일부인 것으로 판단된다. 따라서, 수율의 측면에서는 IPA를 이용하여 polyphenols를 추출하는 것이 가장 우수한 방법인 것으로 판단할 수 있으나 이를 식품 등에 직접 적용할 경우 그 색상 및 이미·이취는 매우 중요한 의미를 갖게 되기 때문에 솔잎으로부터 얻어진 polyphenols의 최종 용도에 따라 추출용매를 선택할 필요성이 대두되었다. 뿐만 아니라 현행 식품첨가물공전<sup>13)</sup>에서 IPA의 경우는 식품 또는 식품원료에의 사용이 금지되어 있는 용매이므로 이는 식품용으로는 현실

적으로 사용이 불가능한 실정이다. 결과적으로 추출과정은 실험실법의 경우 위에서 밝힌 바와 같이 환류냉각기를 설치하여 실시하였으나 추출기를 사용할 경우 환류냉각 장치의 이용 없이 대량의 동시 추출이 가능하였는데, EtOH 등의 용매 회수율이 낮아 경제성이 떨어지는 문제점을 내포하고 있었다.

**Table 2. Purity of polyphenols at various extraction-purification method from pine needle (%)**

	Extraction solvent		
	Hot water	Ethyl alcohol	IPA <sup>1)</sup>
Pre-purified type	80.98	78.95	78.36
After purified type	83.83	82.64	81.52

<sup>1)</sup>Isopropyl alcohol.

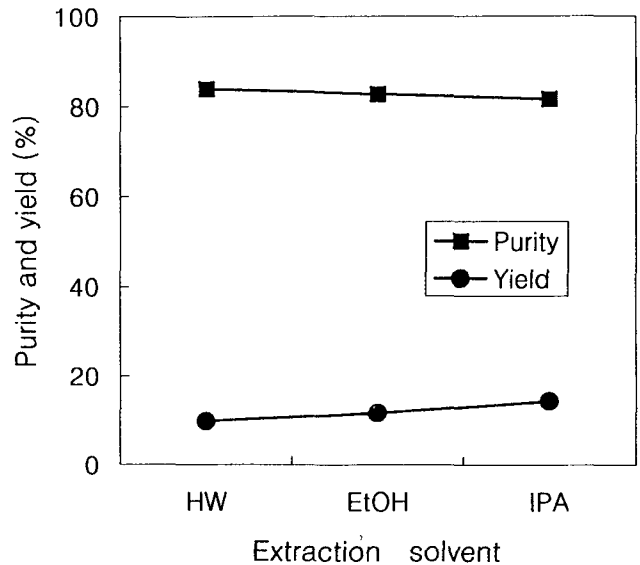


**Fig. 1. Separation and purification method of polyphenols from pine needle used for hot water, ethyl alcohol and isopropyl alcohol.**

**분리·정제에 따른 polyphenols의 순도**

한편, 솔잎분말로부터 polyphenols의 추출과정에서 추출용매로 열수, EtOH, IPA를 사용하여 얻어진 polyphenols의 순도를 HPLC로 측정된 결과는 Table 2에 나타난 바와 같았다. 즉, 정제과정을 거치지 않은 polyphenols의 순도는 열수추출물 80.98%, EtOH 추출물 78.95%, IPA 추출물 78.36%로 나타나 polyphenols의 순도는 열수추출법이 우수한 것으로 나타났다. 이들 polyphenols를 formamide-활성탄소를 충전한 유리관을 통과시켜 정제과정을 거친 후에는 각각 83.83, 82.64, 81.52%의

순도를 보여 일정 수준의 정제효과가 인정되었으며, 정제과정 이전과 동일하게 polyphenols의 순도는 열수추출물이 상대적으로 높았다. 따라서, polyphenols의 순도 및 Fig. 1에서 나타난 수율을 동시에 고려해 볼 때, 열수추출물인 경우 순도는 높은 반면 수율은 낮았으며, 각 3종의 추출물에서 추출용매별로 순도와 수율의 관계를 Fig. 2에 나타내었다.



**Fig. 2. Relationship between purity and yield according to extraction solvent system.**

**Polyphenols의 이화학적 특성**

3종의 용매계를 이용하여 솔잎으로부터 polyphenols 성분을 추출-정제하여 최종적으로 얻어진 솔잎 polyphenols 분말의 이화학적 특성은 Table 3에 나타난 바와 같았다. 즉, 수분함량은 풍건 및 분무건조의 조건에 따라 다소의 차이가 있었으나 11.36~12.74% 수준으로 추출용매의 종류와는 무관하였다. 입도는 200 mesh 체 통과율로 측정된 결과 55.7~56.2%를 나타내어 미립자였으며, 40~50°C 온수에서의 용해도는 92~100%였다. 온수에서의 용해도는 열수추출물의 경우 100%, EtOH 추출물 93~94%, IPA 추출물은 92~93%를 나타내어 추출용매에 따라 큰 차이를 보였다. 따라서, 수율, 순도와 함께 polyphenols분말의 용도 즉, 수용액 중에 용해시켜 식품 또는 식품원료에 사용할 경우에는 열수추출물, 식품 이외의 용도로 사용할 경우에는 IPA추출물이 적합할 것으로 판단되며, 최종적인 용도에 따라 그 추출용매를 차별화 하여야 할 필요성이 대두되었다. 식용유지 등에 열수추출물을 항산화제 등의 용도로 적용할 경우에는 그 낮은 용해도로 인하여 제한을 받을 수 있으나 이 경우에는 EtOH에 용해시킨 다음 이를 적용하고 열처리를 행하는 과정을 통하여 해결이 가능하였다. 즉, EtOH에 용해시킨 후 식용유지 등에 혼합하면 유기용매인 EtOH는 완전히 용해되는

특성을 이용하여 전체적으로 분산시킨 다음 열처리를 행하여 EtOH를 휘발시키면 polyphenols는 식용유지 중에 전체적으로 분산되어 항산화 효과를 발휘하는 것을 확인할 수 있었다.

**Table 3. Physicochemical characteristics of pine needle polyphenol products**

Moisture content (%)	Particle size (200 mesh through, %)	Solubility in warmed water (%)
11.36~12.74	55.7~56.2	92~100

### 요 약

솔잎으로부터 항균, 항산화효과 등이 입증된 바 있는 polyphenols 분리·정제를 실시하였다. 이 물질의 분리를 위한 추출용매로는 열수, EtOH, IPA를 사용하였는데, 각각의 용매에 의하여 분리된 polyphenols의 수율 및 순도는 각각 9.84, 11.61, 14.36% (w/w) 및 83.83, 82.64, 81.52%였다. 추출 조건은 솔잎분말 대비 약 7배 (w/v)에 해당하는 용매를 가하고 85℃에서 6시간 동안의 처리로 추출이 가능하였다. 분리된 polyphenols의 정제는 formamide-active carbon(1:1, w/w)을 충전한 column을 통과시켜 정제한 다음 농축, 분무건조 하고, 이 분말에 식품첨가물용 n-hexane(1:2.5, w/v)을 가하여 1 시간 동안 추출하여 지방성분을 추출, 제거하고 풍건하여 각각의 시제품을 얻었다.

Polyphenols의 추출용매로는 열수, EtOH, IPA 중 수율과 순도를 동시에 고려할 때, 상호간의 장단점이 있었는데, 수율과 순도간에는 정의 반비례 관계가 성립하였다.

### 감사의 글

본 연구는 2000년도 서일대학 학술연구비 지원과제의 일부로 이에 깊이 감사드립니다.

### 참고문헌

- 고경식 (1991) 한국식물검색도감. 아카데미출판사, 서울, p.16
- 한병재 (1997) 솔방울과 솔잎의 휘발성 향기성분 분석. 전북대학교 대학원 석사학위논문
- 박종갑 (1987) 한방대의전. 동양종합종신교육원출판부, 대구, p.134
- 문화방송 (1988) 한국민간요법대전. 금박출판사, 서울, p. 121
- 김형열, 김덕숙, 윤원호, 구본순, 김경이, 이근보 (2000) 솔잎이 탈지 옥수수배아박의 aflatoxin 생성 억제에 미치는 영향. 산업식품제조학회지, 4, 87-92
- 이민수 (1985) 송엽의 항산화물질에 관한 연구. 한양대학교 대학원 석사학위논문
- Block, G. and Langseth, L. (1994) Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technology, 48, 80-85
- 이기영 (1993) 탈지들깨박에서 분리한 페놀화합물의 항산화효과. 한국식품과학회지, 25, 9-14
- 조희숙, 안명수 (1999) 탈지들깨박 중 페놀산의 대두유에 대한 항산화 효과(1). 한국조리과학회지, 15, 55-60
- 김현정, 전방실, 김성규, 차재영, 조영수 (2000) 홍화 (*Carthamus tinctorius* L.)씨, 순 및 꽃잎 추출물의 폴리페놀 화합물 함량과 항산화 활성. 한국식품영양과학회지, 29, 1127-1132
- Gutfinger, T. (1981) Polyphenols in olive oils. J. Am. Oil Chem., Soc., 58, 966-968
- 황혜정 (1999) 성숙기 사과 중의 페놀계물질 변화. 한국식품영양학회지, 12, 364-369
- 식품첨가물공전 (2000) 보건복지부

(접수 2002년 12월 11일)