

HPLC에 의한 韓國產 淸차의 分析

機器分析科, *食品分析科

金明姬·元智淑·*韓基榮

Studies on the Content of *Puerariae Radix* in the tea by HPLC

Instrumental Analysis Division and *Food Analysis Division
Myunghee Kim, Jisook Won and *Kiyoung Han

=Abstract=

This study was performed to investigate the quality control method of *Puerariae Radix* tea.

Experimental subjects were 3 kinds of *Puerariae Radix* tea. The standard experimental subjects were juice, powder, wet and methanol extract of raw materials, *Puerariae Radix*. They were collected from the Seoul area on September in 1985.

Analysis method was carried out by HPLC. All 3 samples contained less *Puerariae Radix* than the labeled amounts listed.

緒 論

最近 韓國產 茶의 개발에 따라 生藥劑로서 사용되어 오던 葛根(*Puerariae Radix*)이 기호食品인 茶로 만들어져 市販되고 있다. 葛根은 淸차라는 콩과植物 뿌리의 주피를 제거한 것으로 우리나라에서 市販되는 것은 주로 *Puerariae thumbergiana* Bentham이다.¹⁾ 주성분은 槲皮素와 isoflavonoids인 daidzin, daidzein, puerarin xyloside 등이며, 이 중의 일부는 그 生合成 과정까지 밝혀지고 있다.²⁾

生藥劑로만 利用되던 葛根이 기호食品인 茶類로 商品化되고 있으나 아직 이에 대한 뚜렷한 成分의 定量方法이 確立되어 있지 않아 이에 대한 品質管理가 문제되고 있다. 따라서 著者等은 신속하고 精確하게 成分을 比較 檢討할 수 있는 HPLC方法을 모색하고 市販 淸차에 대하여 分析한 結果를 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

材料: *Puerariae Radix*(市販品) 및 市販茶類 3種

試藥: Methanol(LC用), Distilled Water(LC用), Acetonitrile(LC用).

裝置: High Performance Liquid Chromatograph(Waters 440)

方法: A. 試料液의 調劑

1) 試料 約 10g을 正秤하여 methanol 70ml를 넣고 수욕상에서 Soxhlet抽出器로 4시간 환류 抽出한다. Flask 및 잔류물을 methanol로 세척하여 全量을 正確히 100ml로 한후 檢液으로 하였다. 이를 millipore로 여과하고 이 檢液을 Table 1에 기재된 액체크로마토그라프의 條件에 따라 實驗하였다.^{2,3)}

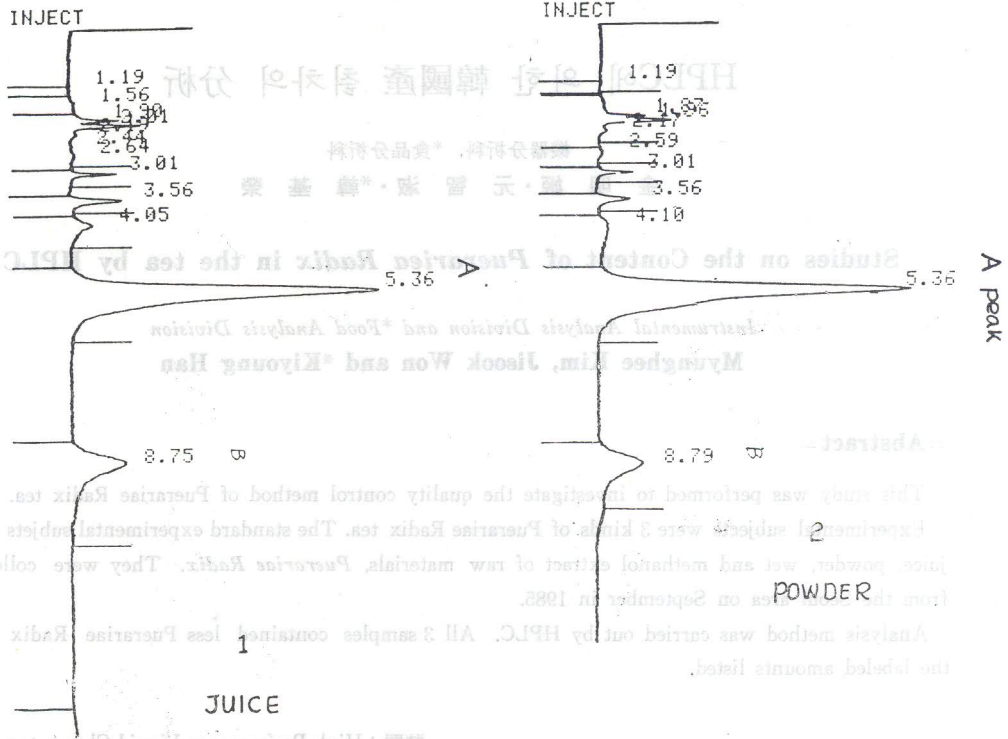
2) 試料 約 10g을 正秤하여 증류수 70ml를 넣고 가끔 흔들어 섞어 5시간 침출하였다. 이를 다시 19時間 室溫에서 방치한 후 여과하고 flask 및 잔류물을 증류수로 세척하여 全量을 100ml로 하여 millipore로 여과하고 上記條件에 따라 HPLC法을 行하였다.^{2,3)}

B. 比較標準物

1) 생淸과의 比較

생淸을 細切하여 5g, 10g, 20g을 正秤한 후 methanol 100ml를 加하고 수욕상에서 2時間 環流抽出하고 여과하였다. 잔류물에 다시 100ml의 methanol을 加하고 2時間 더 수욕상에서 環流抽出 後 여과하여 여액을 舍하고 methanol을 加하여 全量을 250ml로 하여 millipore로 여과한 後 檢液으로 하였다.

2) 粉末과의 比較



OCT. 11, 1985 05:35:57 CHART 1.00 CM/MIN
 RUN #21
 COLUMN SOLVENT
 CALC #0
 OPR ID: 6

2. EXTERNAL STANDARD QUANTITATION

PEAK #	AMOUNT	RT	EXP RT	AREA	RF
	651.81500	1.90		651815 F	0.000000 E0
	955.33900	2.01		955339 F	0.000000 E0
Juice	19.65300	2.19		19653 F	0.000000 E0
	37.01100	2.64		37011 L	0.000000 E0
	563.04800	3.01		563048 L	0.000000 E0
	1100.38000	3.56		1100387 L	0.000000 E0
	898.16200	4.05		898162 L	0.000000 E0
	*20713.70000	5.36		20713863 L	0.000000 E0
	5462.15000	8.75		5462176 L	0.000000 E0
TOTAL	30401.30000				

VOLUME SOLVENT OPR ID: 6

2. EXTERNAL STANDARD QUANTITATION

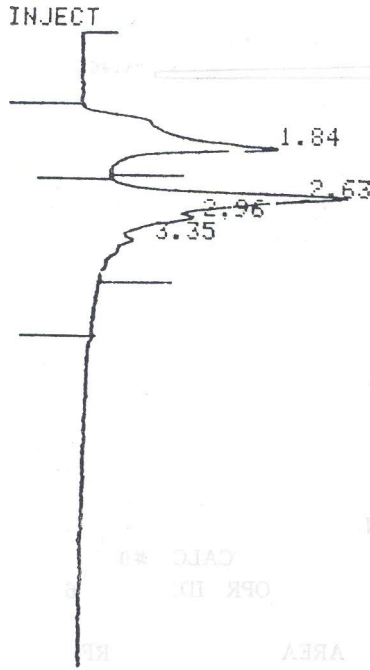
PEAK #	AMOUNT	RT	EXP RT	AREA	RF
	17.57300	1.19		17573 L	0.000000 E0
	882.12800	1.87		882128 F	0.000000 E0
	1203.36000	1.96		1203361 F	0.000000 E0
Powder	146.59900	2.17		146599 L	0.000000 E0
	112.90200	2.59		112902 L	0.000000 E0
	459.13800	3.01		459138 L	0.000000 E0
	789.56300	3.56		789563 L	0.000000 E0
	*22266.80000	5.36		22266898 L	0.000000 E0
	4001.77000	8.79		4001789 L	0.000000 E0
TOTAL	29879.90000				

Fig. 1. HPLC chromatogram of standard materials. (Juice and Powder)

Table 1. Analytical Condition of HPLC

HPLC	Waters 440
Column	μ -Bondapak C ₁₈
Mobil phase	18% CH ₃ CN
Flow rate	1.0ml/min
Detector	U.V 254nm
A.U.F.S	0.5
Chart Speed	0.5cm/min

생즙을 細切하여 40°C이하로 24時間 건조 후 분쇄하여 粗末로 한다음 건조한 後 秤量하여 건조감량을 환산하였다. 이를 0.1, 0.2, 0.3g, 精밀히 秤量하고 각각에 포도당 10g을 加하고, methanol 100ml로 上記方



OCT. 14, 1985	11:51:03	CHART	1.00	CM/MIN	
		RUN #8			CALC #0
COLUMN		SOLVENT			OPR ID: 6
EXTERNAL STANDARD QUANTITATION					
PEAK #	AMOUNT	RT	EXP RT	AREA	RF
	3979.45000	1.84		3979468 L	0.000000 E0
	3964.22000	2.63		3964237 F	0.000000 E0
	1226.67000	2.96		1226675 F	0.000000 E0
	[510.06100	3.35		510061 L	0.000000 E0
TOTAL	9680.40000				

Fig. 2. HPLC Chromatogram of Sample 2 (SA₂)

法과 동일하게 檢液을 製成하였다.

3) 葛根汁과의 比較

생즙을 직접 압착하여 즙을 짜서 각각 그 액 0.5, 1.0 및 2.0ml를 取하여 각각에 포도당 10g을 加하고 上記 方法과 동일하게 製成하여 檢液으로 하였다.

4) 乾燥 수성엑기스

比較標準物인 粉末 約 2g을 正秤하여 증류수 70ml를 넣고 가끔 攪拌하여 섞어 5時間 침출하고 다시 室溫에서 19時間 방치한 後 여과하였다. flask 및 잔류물을 여액이 100ml가 될 때까지 증류수로 세척하고 이 여액 50ml를 수욕상에서 증발건조한 後 105°C로 4時間 乾燥하여 desiccator(silicagel)에서 식힌 後 乾燥엑기스를 50mg, 100mg 正秤하여 methanol에 녹여 全量을 100ml로 하여 檢液으로 하였다. 또한 농축하기 前 침출액 자체도 檢液으로 하였다.

5) 乾燥 묽은 에탄올엑기스

4)의 方法 중 증류수 대신 묽은 ethanol(50v/v%)을 使用하여 동일方法으로 製成한 後 檢液으로 하였다.

結果 및 考察

Fig. 1에 나타난 바와 같이 생즙즙 및 粉末의 methanol 抽出物을 injection하여 얻은 chromatogram에서 보면 5.36分에서 가장 큰 peak A가 나타났고 8.75分에서 작은 또 하나의 peak B가 分離되었다. 이들 두 peak들의 量의 變化에 따른 檢量線을 각각 作成하여 본 結果 5.36分의 peak A가 더욱 양호한 檢量線을 나타냈다. 따라서 著者들은 peak A의 量을 기준으로 하여 試料와 다른 比較標準物의 量을 比較하였다.

畝의 主成分인 daidzin이나 기타 isoflavonoid 成分을 따로 分離^{4,5)} 이들 標準品으로 하여 市販 畝차의 畝量을 研究하는 것이 原則이나 著者들의 경우 이들은 分離하지 못한 狀態에서 試驗한 점이 무엇보다도 아쉬운 일이다. 그러나 市販茶類의 경우 그 表記 자체가 主成

분의 함량으로 되어 있지 않으며 취차의 경우에도 어느 試料에서는 생즙의 汁으로서, 또는 淸의 methanol 엑기스로서 각기 그 含有量을 表記하고 있는 狀態이므로 著者等은 생즙의 汁, powder, 및 methanol 엑기스 등을 만들어 비교 試驗하였다.

試料들은 증류수와 methanol로 각기 抽出하여 이를 比較標準物들과 比較한 結果는 Table 2, 와 같다. 試料를 증류수로 24시간 抽出한 경우 試料 SA1은 생즙으로서는 1.35%, 淸의 粉末로는 0.4%, 그리고 생즙의 汁으로는 1.38%를 含有한 것으로 나타났으며 乾燥水性엑기스로는 0.21%를 含有한 것으로 나타났다. SA3

試料는 SA1의 거의 두배정도 淸의 含有量이 높아 생즙으로서는 2.37%, 粉末로는 0.82%, 생즙의 汁으로는 2.80%, 乾燥水性 엑기스로는 0.42%를 含有한 것으로 나타났다. 그러나 試料 SA2의 경우에는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 5.36분에서 전혀 peak가 나타나지 않았으며 試料 SA1의 chromatogram (Fig. 3)와는 전혀 다른 형태를 나타냈다. 따라서 試料 SA2는 거의 淸이 含有되지 않은 것으로 사료된다. 이는 試料를 methanol로 抽出한 경우에도 같게 나타났다. 전체적으로 試料의 증류수 추출액이 methanol 抽出液에 比하여 약간 淸成分의 추출이 높게 된 것으로 나타났으나 큰 差는 인

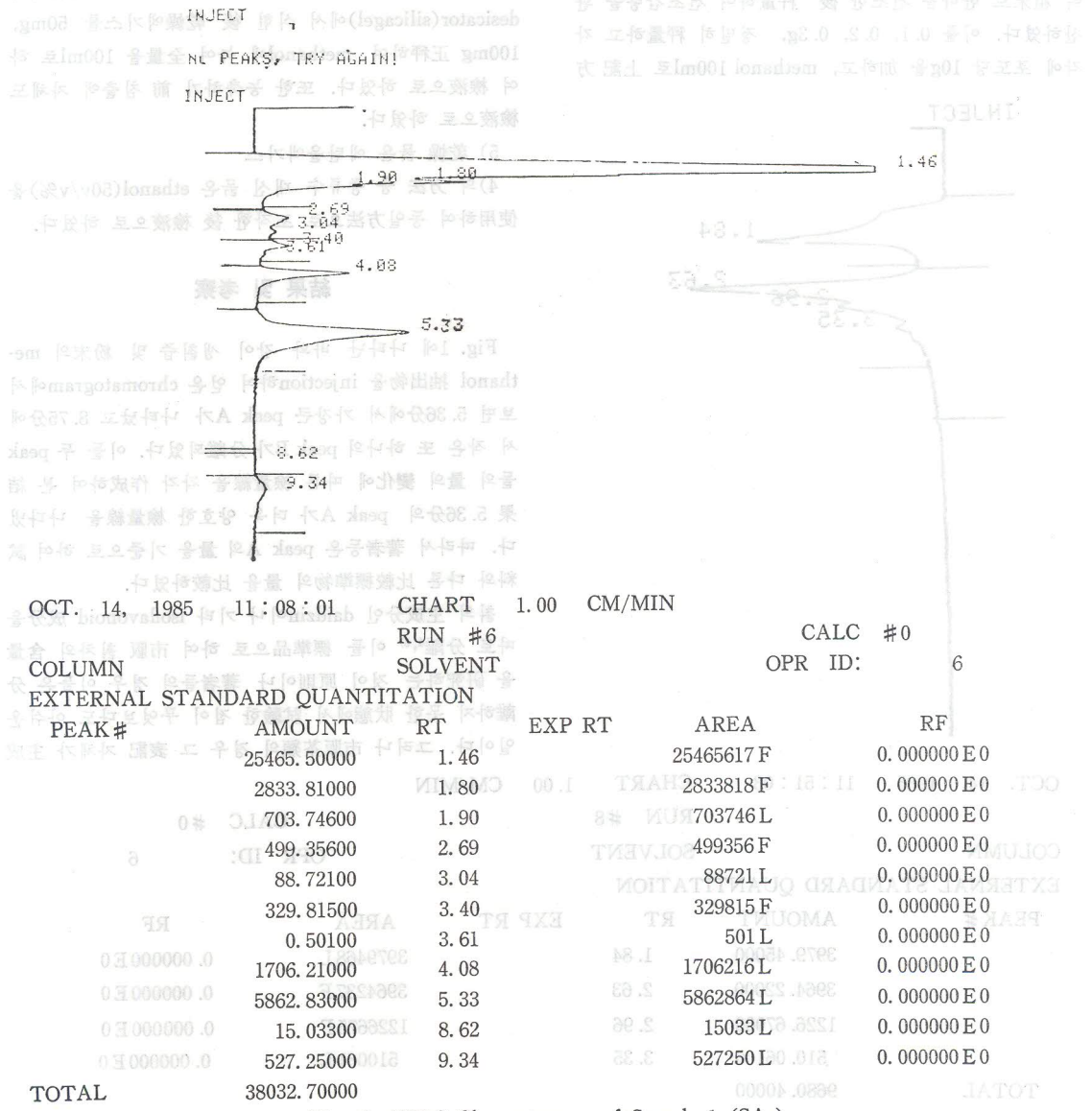


Fig. 3. HPLC Chromatogram of Sample 1 (SA₁)

Table 2. Contents of P. Radix preparations in H₂O Ex. and MtOH Ex. of Samples

	H ₂ O Extract			MtOH Extract		
	SA ₁	SA ₂	SA ₃	SA ₁	SA ₂	SA ₃
Wet P. Radix	1.35	nd	2.73	1.31	nd	2.71
Powder Radix	0.40	nd	0.82	0.39	nd	0.81
Juice Radix	1.38	nd	2.80	1.35	nd	2.78
H ₂ O Ex. of Powder	0.41	nd	0.83	0.40	nd	0.83
EtOH Ex. of Powder	0.24	nd	0.50	0.24	nd	0.49
Dried Water Ex. of Powder	0.21	nd	0.42	0.20	nd	0.42
Dried EtOH Ex. of Powder	0.20	nd	0.40	0.19	nd	0.40

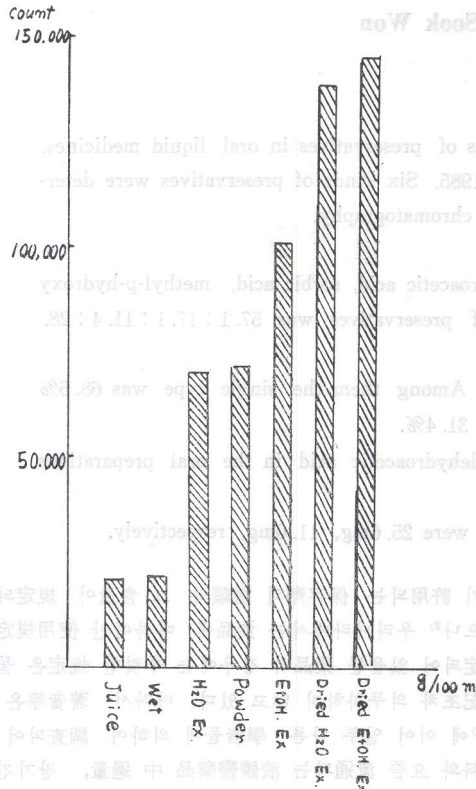


Fig. 4. Comparing Histogram of peak A count in each preparations (1g/100ml)

정되지 않았다.

著者等이 사용한 powder의 경우 건조감량은 78.1%였으며 Fig. 4에서 보는 바와 같이 동량의 비교標準物

質의 경우 1ml의 汁에서 그 含量이 가장 낮았고 乾燥에 타낼 엑기스 1g의 경우에 그 含量이 가장 높게 나타났다. 따라서 앞으로는 畵의 主成分들을 純粹하게 分離하여 標準品을 만드는 일이 다음의 課題라 사료된다.

結 論

종래의 TLC法에 比하여 HPLC에 依한 畵차의 成分分析은 훨씬 신속하고 양호한 結果를 얻을 수 있었으며 本 方法에 의한 市販 畵차의 分析 結果 대부분의 경우 그 含量이 表記量에 比하여 현저히 낮거나 전혀 含有되지 않은 例도 있어 앞으로 國產茶의 보급을 필요로 하는 이 시기에 이들 茶類의 品質管理가 시급한 문제라 思料된다.

Reference

1. 韓德龍의 7人：現代生藥學， 進明出版社. 서울, p. 342 (1980).
2. 國立保健院：의약품 시험기준 및 방법집 (1983).
3. 野口 衛：生藥分析의 技法, 厚生科學研究報告(2), 大阪生藥協會. p. 249 (1978).
4. 中本泰正, 岩崎有紀, 木津治久：葛根의 水溶性抽出物의 研究(第 4報) 葛根의 活性엑기스(MTF-101) からの 다이진單離並びにその體溫降下作用と鎮痙作用について 藥學雜誌, 97:103 (1977).
5. 檜垣寅雄：漢方藥の評價と開發技術東京生藥研究會, 東京, p. 323 (1983).