

수치에 따른 건강증의 6-Gingerol 함량 분석

김호경* · 김영아 · 황성원 · 고병섭

한국한의학연구원 검사사업부

Quantitative Analysis of 6-Gingerol in the Zingiberis Rhizoma By Processing methods

Ho Kyoung Kim*, Young A Kim, Seong Won Hwang, and Byoung Seob Ko

Quality Control of Herbal Medicine Department, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea

Abstract – On the quality control of commercial Zingiberis Rhizoma and its processed product, quantitative determination of 6-gingerol using HPLC method has been conducted. Quantitative analysis of 6-gingerol in Zingiberis Rhizoma showed average 0.359% in 14 samples collected throughout the regions of Korea. The contents of 6-gingerol in Zingiberis Rhizoma were decreased during the processing procedure (0.306%).

Key words – Zingiberis Rhizoma, Processed Zingiberis Rhizoma, 6-Gingerol, Quantitative analysis, HPLC method

건강(Zingiberis Rhizoma)은 생강과(Zingiberaceae)에 속한 다년생 초본인 생강(Zingiberis officinale Rosc.)의 근경을 건조한 것으로 한방에서는 온중축한(溫中逐寒), 회양통맥(回陽通脈), 치심복냉통(治心腹冷痛)의 효능이 있어 토사(吐瀉), 지냉맥미(肢冷脈微), 한음천해(寒飲喘咳), 풍한습비(風寒濕痺), 양허토혈(陽虛吐血), 하혈(下血)에 사용되었으며, 건위제, 구토, 복통, 요통, 설사 등의 치료 및 살균제, 식욕증진과 소화촉진 효과로도 사용되었다.^{1,2)} 수치에 의한 건강의 효능으로는 초탄(炒炭) 후 유효성분의 파괴 및 산실로 인하여 발한 해표작용의 부진, 신산(辛散)의 온중작용(溫中作用)이 감약되면서 온경지혈작용(溫經止血作用)을 한다.³⁾

Lee⁴⁾ 등이 Gingerol의 산화방지 효과에 대하여 보고하였으며, 조⁵⁾는 LC/MS에 의한 원료생강 및 생강 페이스트 중의 gingerol 화합물 분석에 대하여 보고하였고 또한 Altman⁶⁾ 등은 생강 추출물이 무릎 골 관절염 환자에게 미치는 영향을 조사한 바 있다.

본 연구에서는 2001년도 한약재 수급 및 유통관리 규정에 고시된 필수수치(법제) 품목 18개 중 건강을 대상 한약재로 선정한 후 건강의 약효성분이면서 HPLC로 정량이 가능한 성분을 지표성분으로 한 건강의 성분분석법을 확립하고, 건강의 산지(국내산, 중국산), 수치전·후 및 수치방법

에 따른 주성분의 함량, 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분 함량을 비교 분석하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 연구에 사용한 건강은 2001년 서울, 대전, 대구 약령시장에서 판매되는 국내산 7종과 중국산 7종을 구입하여 분쇄한 후 사용하였다.

시약 및 기기 – 분석용 시약 중 표준물질인 6-gingerol는 Wako(Japan)에서 구입하여 사용하였으며, HPLC 분석을 위한 용매는 Fisher chemicals사의 HPLC급 시약을 사용하였고, 한약재 추출용 시약은 국내산 특급시약을 사용하였다. TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck)와 RP-18 F_{254s}(Merck)를 사용하였다. HPLC는 Shimadzu LC-10A_{VP} System Controller, LC-10ATVP Pump, SPD-10A_{VP} UV-VIS Detector, SIL-10ADVP Auto Injector (Japan)를 사용하였다. 회화로는 Barnstead Thermolyne사의 F4800 Furnace를 사용하였다.

수치 – 한약포제학³⁾ 및 중약대사전⁷⁾에 일반적으로 알려져 있는 방법에 근거하여 수치하였다.

① 제 I법(건강초탄; 乾薑炒炭) : 건강편(乾薑片) 혹은 건강괴(乾薑塊) 200 g을 솔에 넣고 강한 불로 표면이 초흑색(焦黑色)이 될 때까지 10분 정도 볶은 뒤 내부가 갈색이 되면 물 30 mL을 뿌려 불이 약해졌을 때 꺼내어 식힌 다음 건

*교신저자(E-mail) : hkkim@kiom.re.kr

조기에서 45°C로 건조하였다.

② 제 II법 (포건강; 炮乾薑) : 깨끗한 모래를 솔에 넣고 강한 불로 가열하여 모래가 나부껴 매끄럽고 유동성이 있을 때까지 볶은 다음 건강편(乾薑片) 혹은 건강괴(乾薑塊) 200 g을 넣고 계속 뒤집어 표면이 뚜렷한 갈색이 될 때 꺼내어 체로 모래를 제거하고 식힌 다음 건조기에서 45°C로 건조하였다.

건조감량시험 – 무게를 단 칭량병에 시료 2~6 g을 넣어 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 5시간 건조하고, 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀하게 측정하였다. 이것을 다시 105°C에서 1시간마다 무게를 측정하여 향량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.

회분시험 – 사기도가니를 550°C에서 1시간 이상 강열하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀히 달았다. 시료 2~4 g을 사기도가니에 넣어 무게를 정밀하게 측정한 후 회화로에 넣어 서서히 온도를 올리면서 550°C에서 4시간 이상 가열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여 데시케이터에서 방냉한 다음 무게를 정밀하게 측정하여 회분량(%)으로 하였다.

산불용성 회분시험 – 회분에 묽은 염산 25 ml를 천천히 조심스럽게 넣고 5분간 가만히 끓여 불용물을 정량용여과지를 써서 여과한 후 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조한다. 무게를 정밀하게 측정한 사기도가니에서 3시간 강열(550°C)하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀하게 측정하여 산불용성회분량(%)으로 하였다.

HPLC 조건 – HPLC는 Shimadzu LC-10A_{VP} System으로서 LC-10AT_{VP} Pump, SPD-10A_{VP} UV-VIS Detector, SIL-10AD_{VP} Auto Injector (Japan)를 사용하였다. Column은 Luna C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm, Phenomenex)를 사용하였고, 이동상으로는 CH₃CN : H₂O=55 : 45 (v/v)이 되도록 하였다. 유속은 1.0 ml/min으로, UV Detector 파장은 280 nm에서 고정하여 실시하였다.

표준액의 조제 – 6-Gingerol 1.1 mg을 HPLC용 아세토나이트릴 2 m에 녹이고 이것을 stock solution으로 하여 550, 275, 137.5, 68.75, 34.375, 17.1875 μg/ml로 단계적으로 희석하여 검액을 만들어 검량용 표준용액으로 하였다. 각각의 표준용액 10 μl를 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을 구하고 이들의 면적과 표준용액의 농도를 변수로 한 검량선을 작성하여 얻은 회귀직선 방정식은 $y=6563.154x+387.373$ 이고 상관계수는 0.9999로서 1에 접근하였다.

검액의 조제 – 검체 2.0 g을 정확히 평량하여 아세톤 15 ml를 가해 30분간 초음파 추출을 하였다. 3000 rpm에서 원심분리 후에 추출액을 얻고, 잔사를 총 3회 반복 추출하였다. 추출액을 모두 합하고 아세톤 5 ml를 가하여 정확히 50 ml

를 만들어 0.45 μm membrane filter로 여과한 여액을 검액으로 사용하였다.⁸⁾ 각각의 검액을 10 μl씩 HPLC로 분석하여 얻은 chromatogram의 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로부터 각각의 지표물질 함량을 구하였고 검체에 대해 3회 반복 실험하여 6-gingerol의 함량(mg)을 구하여 %를 산출하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 건강의 산지(국내산, 중국산)와 수치방법에 따른 주성분의 함량, 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분 함량을 비교 분석하고자 수치 전·후의 시료를 검체로 사용하였다.

한약포제학³⁾ 및 중약대사전⁷⁾에 수록된 수치 방법을 선정하여 시험하였다. 제 I법은 건강편(乾薑片) 혹은 건강괴(乾薑塊)를 솔에 넣고 강한 불로 표면이 초흑색(焦黑色)이 될 때까지 볶은 뒤 내부가 갈색이 되면 물을 조금 뿌려 불이 약해졌을 때 꺼내어 식힌 다음 건조하였고 제 II법은 깨끗한 모래를 솔에 넣고 강한 불로 가열하여 모래가 나부껴 매끄럽고 유동성이 있을 때까지 볶은 다음 건강편(乾薑片) 혹은 건강괴(乾薑塊)를 집어 넣어 계속 뒤집어 톡톡 튀어 표면이 뚜렷한 갈색이 될 때 꺼내어 체로 모래를 제거하고 식힌 다음 건조하여 HPLC로 분석한 6-gingerol 함량, 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분함량을 대한약전⁹⁾ 일반시험법에

Table I. Contents of 6-gingerol, loss on drying, residue on ignition and residue on acid insoluble ignition from Zingiberis Rhizoma

Sample	6-Gingerol Amounts (%)	Loss on Drying (%)	Residue on Ignition (%)	Residue on Acid Insoluble Ignition (%)
Korea				
ZR 1	0.273	9.464	6.089	0.415
ZR 2	0.555	7.550	14.283	1.868
ZR 3	0.255	6.828	6.747	0.755
ZR 4	0.489	6.330	7.405	0.482
ZR 5	0.411	9.806	5.426	0.724
ZR 6	0.299	7.733	7.337	1.075
ZR 7	0.392	10.554	8.012	1.284
China				
ZR 1	0.364	10.657	3.456	0.207
ZR 2	0.326	10.718	2.609	0.225
ZR 3	0.366	8.871	2.918	0.168
ZR 4	0.452	9.638	3.258	0.203
ZR 5	0.275	9.663	2.959	0.221
ZR 6	0.210	5.885	3.008	0.316
ZR 7	0.353	7.581	2.808	0.214

Table II. Contents of 6-gingerol, loss on drying, residue on ignition and residue on acid insoluble ignition from Zingiberis Rhizoma by processed I method

Sample	6-Gingerol Amounts (%)	Loss on Drying (%)	Residue on Ignition (%)	Residue on Acid Insoluble Ignition (%)
Korea				
ZR 1	0.362	3.902	4.859	0.656
ZR 2	0.513	1.513	11.489	1.743
ZR 3	0.214	1.737	7.141	0.601
ZR 4	0.386	2.250	5.311	1.121
ZR 5	0.364	2.994	7.391	1.315
ZR 6	0.390	3.897	8.556	1.696
ZR 7	0.260	0.682	6.762	1.156
China				
ZR 1	0.233	3.662	2.856	0.270
ZR 2	0.342	4.796	3.061	0.275
ZR 3	0.238	1.090	3.382	0.224
ZR 4	0.433	3.124	5.096	0.391
ZR 5	0.203	3.980	3.510	0.378
ZR 6	0.190	3.218	3.357	0.274
ZR 7	0.362	4.169	3.556	0.306

Table III. Contents of 6-gingerol, loss on drying, residue on ignition and residue on acid insoluble ignition from Zingiberis Rhizoma by processed II method

Sample	6-Gingerol Amounts (%)	Loss on Drying (%)	Residue on Ignition (%)	Residue on Acid Insoluble Ignition (%)
Korea				
ZR 1	0.323	2.089	6.740	0.898
ZR 2	0.564	2.556	16.190	2.576
ZR 3	0.132	2.468	9.206	1.827
ZR 4	0.333	1.665	7.314	1.351
ZR 5	0.450	2.177	7.978	0.838
ZR 6	0.330	3.099	6.497	1.242
ZR 7	0.222	2.375	7.128	0.995
China				
ZR 1	0.236	2.297	3.322	0.337
ZR 2	0.214	1.807	4.566	0.424
ZR 3	0.155	2.899	3.613	0.316
ZR 4	0.422	2.265	4.217	0.428
ZR 5	0.253	1.955	3.755	0.558
ZR 6	0.117	2.427	4.002	0.438
ZR 7	0.317	2.234	3.903	0.385

Table IV. Average amounts of 6-gingerol, loss on drying, residue on ignition and residue on acid insoluble ignition from Zingiberis Rhizoma and its processed products (%)

	Region	Raw	Processed	Processed
6-Gingerol	Korea	0.382±0.113	0.356±0.097	0.336±0.141
	China	0.335±0.077	0.286±0.093	0.245±0.102
	Total	0.359±0.096	0.321±0.098	0.291±0.127
Loss on drying	Korea	8.324±1.614	2.425±1.228	2.347±0.444
	China	9.002±1.745	3.434±1.182	2.269±0.350
	Total	8.663±1.653	2.930±1.271	2.308±0.387
Residue on ignition	Korea	7.900±2.945	7.358±2.211	8.722±3.415
	China	3.002±0.281	3.545±0.728	3.911±0.406
	Total	5.451±3.240	5.452±2.533	6.317±3.419
Residue on acid insoluble ignition	Korea	0.943±0.511	1.184±0.450	1.390±0.622
	China	0.222±0.045	0.303±0.061	0.412±0.080
	Total	0.583±0.511	0.743±0.552	0.901±0.662

규정하고 있는 방법에 의해 3번 반복 시험하여 얻은 평균치를 Table I, II, III, IV에 정리하였다.

HPLC의 분석조건으로는 Phenomenex C₁₈ column을 이용하여 acetonitrile : H₂O=55 : 45 (v/v)을 유속 1.0 ml/min으로 용출시킴으로써 retention time 약 7-8분대에서 6-gingerol의 peak을 양호하게 분리할 수 있었다. Fig. 2 및 Fig. 3은 건강 및 수치 건강을 HPLC에 주입하여 얻은 chromatogram이고 이러한 실험 결과로부터 Fig. 1과 같은 calibration curve

를 얻었고 검량선에 대한 상관계수는 0.9999로서 1에 접근하여 이를 이용하여 각 시료들의 함유된 표준물질의 함량을 구하였다.

건강중의 6-gingerol 함량의 평균은 0.359±0.096%(n=14)로 시료에 따라 0.210%~0.555%를 보였고 대한약전에 규정하고 있는 0.4% 이상을 함유한 시료는 4개에 불과했다. 국내에서 유통 중인 건강을 산지별로 6-gingerol의 함량을 비교하였을 경우 국내산(0.382%)이 중국산(0.335%)보다 많

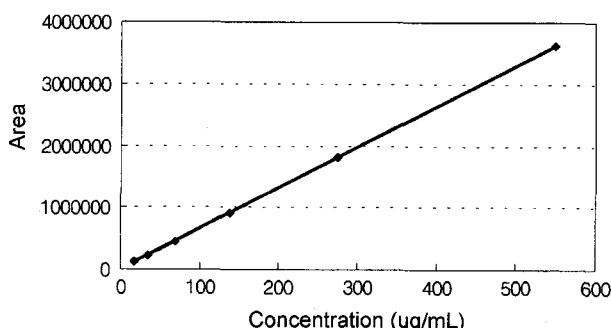


Fig. 1. Calibration curve of 6-gingerol.

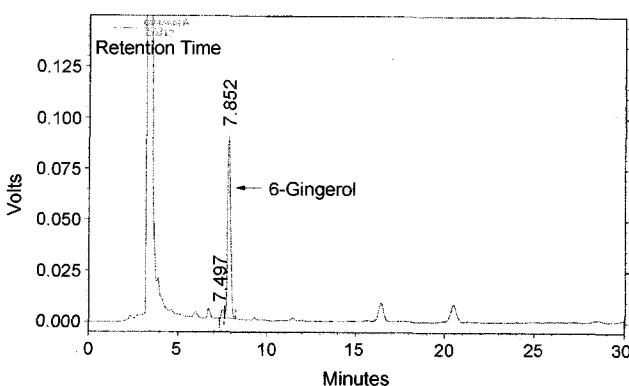


Fig. 2. HPLC chromatogram of extract from Zingiberis Rhizoma.

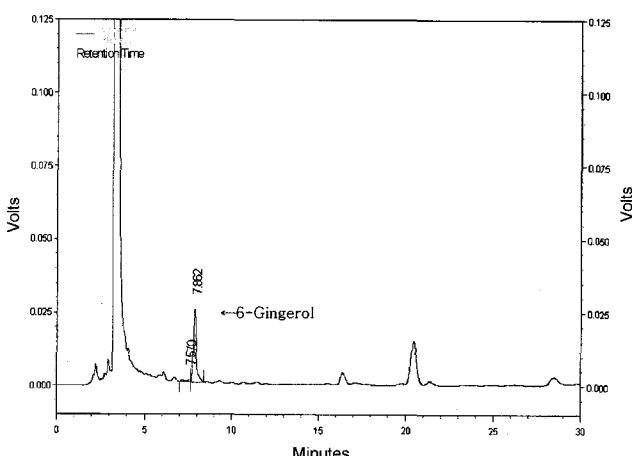


Fig. 3. HPLC chromatogram of extract from Zingiberis Rhizoma by processed I method.

았고, 수치후(0.306%)에는 수치전(0.359%)보다 감소하였으며 수치법에 따라 약간의 함량차이가 있었다.

건조감량 시험에서 평균 및 표준편차는 $8.663 \pm 1.653\%$ ($n=14$)이었고 시료에 따라 $5.885\% \sim 10.718\%$ 를 보였으므로 건강의 건조감량은 10% 이하로 규정하는 것이 타당하다고

생각된다. 산지별 건조감량은 중국산(9.002%)이 국내산(8.324%)보다 많았고, 수치후(2.619%)에는 수치전(8.663%)보다 감소하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

회분함량 시험에서는 평균 및 표준편차는 $5.451 \pm 3.240\%$ ($n=14$)이었고 시료 2개를 제외하고는 대한약전에 규정하고 있는 8.0% 이하에 적합하였다. 산지별 회분 함량은 국내산(7.900%)이 중국산(3.002%)보다 2배정도 많았고, 수치후(5.885%)에는 수치전(5.451%)보다 다소 증가하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

산불용성회분 함량 시험에서 평균 및 표준편차는 $0.583 \pm 0.511\%$ ($n=14$)이었으며 건강의 산불용성회분 함량은 0.5% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 생각된다. 산지별 산불용성회분 함량은 국내산(0.943%)이 중국산(0.222%)보다 4배 정도 많았으며, 수치후(0.822%)에는 수치전(0.583%)보다 다소 증가하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

결 론

- 건강증의 6-gingerol 함량의 평균 및 표준편차는 $0.359 \pm 0.096\%$ 이었고 국내산(0.382%)이 중국산(0.335%)보다 많았고, 수치후(0.306%)에는 수치전(0.359%)보다 감소하였으며 수치법에 따라 약간의 함량차이가 있었다.

- 건조감량 시험에서 평균 및 표준편차는 $8.663 \pm 1.653\%$ 이었으며 건강의 건조감량은 10%이하로 규정하는 것이 타당하다고 생각된다. 중국산(9.002%)이 국내산(8.324%)보다 많았고, 수치후(2.619%)에는 수치전(8.663%)보다 감소하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

- 회분함량 시험에서는 평균 및 표준편차는 $5.451 \pm 3.240\%$ 이었고 시료 2개를 제외하고는 모두 대한약전에 규정하고 있는 8.0% 이하에 적합하였다. 국내산(7.900%)이 중국산(3.002%)보다 2배정도 많았고, 수치후(5.885%)에는 수치전(5.451%)보다 다소 증가하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

- 산불용성회분 함량 시험에서 평균 및 표준편차는 $0.583 \pm 0.511\%$ 이었으며 건강의 산불용성회분 함량은 0.5% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 생각된다. 국내산(0.943%)이 중국산(0.222%)보다 4배정도 많았으며, 수치후(0.822%)에는 수치전(0.583%)보다 다소 증가하였으며 수치법에 따라 약간의 차이가 있었다.

인용문헌

- 康秉秀, 高雲杉, 金先熙, 盧昇鉉, 徐榮培, 宋昊燮, 辛民教, 安德均, 李尙仁, 李暎鍾, 李熙, 朱榮丞(1995) 본초학,

- 334-335. 영림사, 서울.
2. 東醫寶鑑國譯委員會(1988) 增補國譯 東醫寶鑑, 1166. 南山堂, 서울.
 3. 김재길(1992) 임상응용 韓藥 製學, 88-89. 藥業新聞社, 서울.
 4. Lee, I. K. and Ahn, S. Y. (1985) The antioxidant activity of gingerol. *Korean J. Food. Sci. Technol.* **17**(2): 55-59.
 5. Jo, K. S. (2000) Analysis of gingerol compounds of raw ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and its paste by high performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **5**(29): 747-751.
 6. Altman, R. D. and Marcussen K. C. (2001) Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* **44**: 2531-2538.
 7. 강소신의학원저, 김창민외역(1998) 중약대사전, 5131. 도서출판정담, 서울.
 8. 보건복지부(1996) '96 생약·한약재 품질 표준화 연구, 26.
 9. 보건복지부, 대한보건공정서협회(1998) 대한약전 7개정, 709-710. 한국메디칼인텍스사, 서울.

(2002년 8월 27일 접수)