

홍삼의 추출 시간 및 온도에 따른 Ginsenosides 함량 비교분석

양병욱 · 한성태¹ · 고성권^{2*}

중앙대학교 생명공학과, ¹KT&G 중앙연구원, ²세명대학교 한방식품영양학부

Quantitative Analysis of Ginsenosides in Red Ginseng Extracted under Various Temperature and Time

Byung Wook Yang, Sung Tai Han¹, and Sung Kwon Ko^{2*}

Department of Biotechnology, Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea

¹KT&G Central Research Institute, Daejeon 350-805, Korea

²Department of Oriental Medical Food & nutrition, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea

Abstract – This study compared the contents of ginsenoside according to the extract conditions of red ginseng to provide basic information for developing functional food using red ginseng. According to the result, the content of crude saponin was highest in 72 hours of extraction at 82°C (RG-823). The content of prosapogenin (ginsenoside Rh₁, Rh₂, Rg₂, Rg₃) was highest in 48 hours of extraction, and followed by 72 and 24 hours at 82°C. And at 93°C the prosapogenin contents were highest in the order of 48 hours, and next in 24 and 72 hours. In addition, ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc and Re were not detected in 72 hours of extraction at 93°C (RG-933) presumably due to hydrolysis, but ginsenoside Rd, Rf and Rg₁ were detected as long as 72 hours of extraction. These results show that protopanaxatriol group is relatively more resistant to heat than protopanaxadiol group.

Key words – ginsenoside, red ginseng, prosapogenin, protopanaxadiol, protopanaxatriol

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한반도가 원산인 한국의 특산 약용식물로 2000여년 전부터 동북아시아에서 보원기제로 사용되어 온 중요한 한약 중의 하나이다. 동양에서 가장 오래된 본초서인 신농본초경에 인삼은 오장을 보하고, 원기를 보충한다고 기록되어 있다.¹⁾ 인삼의 생리활성은 체계적인 약리학적 접근으로 심혈관계,²⁾ 면역계,³⁾ 신경계⁴⁾에 대한 효능과 해독작용,⁵⁾ 항암작용⁶⁾ 그리고 항당뇨작용⁷⁾ 등이 보고되었다.

인삼의 주요한 생리활성물질은 인삼사포닌(ginsenosides), polyacetylenes, 산성다당체, 인삼단백질, 페놀성 물질 등이 알려져 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 그 중에서 인삼사포닌은 Shibata 등⁹⁾의 연구에 의해서 그 화학구조가 명확히 확인되었고, 항당뇨 활성⁷⁾을 비롯하여 항암작용, 항산화작용, 동맥경화 및 고혈압의 예방, 간 기능 촉진 및 숙취제거효과, 항 피로 및 항 스트레스 작용, 노화방지 작용, 두뇌활동 촉진작용, 항염활성, 알레르기성 질환치료, 단백질합성능력의 촉진 등이 보고되

었다.⁸⁾

특히, 수삼을 찌서 건조한 홍삼은 열에 의해서 생성되는 홍삼 특유 성분인 ginsenoside Rg₂, Rg₃, Rh₁, Rh₂ 등이 암예방작용, 암세포성장 억제작용,^{11,12)} 혈압강하 작용,¹³⁾ 뇌신경 세포 보호작용,¹⁴⁾ 항혈전작용,¹⁵⁾ 항산화작용¹¹⁾이 있다고 하여 홍삼만의 특·장점으로 주목받고 있다.

또한, 홍삼 특유 성분은 인삼사포닌 배당체가 열에 의해서 가수 분해 되어 생성되는 prosapogenin 형태의 인공물인데, 최근에 열이나 압력과 같은 물리적인 방법¹⁶⁾과 효소를 이용한 생화학적 방법^{17,18)}에 의해서 고농도 인삼 prosapogenin 제제가 개발되고 있다. 그러나, 인삼을 가공하는 데는 추출 농축을 통하여 진행되는 것이 일반적인데, 인삼가공 추출조건에 따른 생리활성성분의 변화에 대한 체계적인 연구가 되어있지 않는 점에 착안하여 본 연구는 홍삼 제조기를 이용하여 홍삼의 추출 시간 및 온도에 따른 인삼 사포닌의 함량을 비교분석함으로써 홍삼의 최적 생리활성 고농도 함유제제와 전문화된 인삼 기능성 식품의 개발에 필요한 기초 자료를 제공하고자 한다.

*교신저자(E-mail) : skko@semyung.ac.kr
(FAX) : 043-649-1759

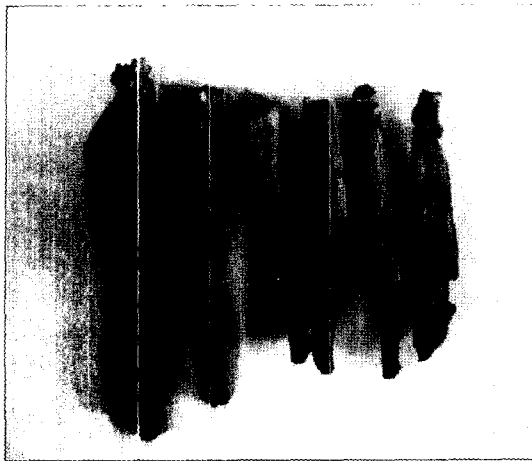


Fig. 1. Figure of red ginseng.

재료 및 방법

실험재료 - 실험재료로 Fig. 1에서 보는바와 같이 15지 6년근 홍삼으로 K사 제품을 서울약령시에서 구입하여 사용하였고, 표본은 세명대학교 한방식품영양학부 천연물연구실에 보관하고 있다.

추출 및 엑스의 조제 - 추출은 홍삼 제조기 KG-7000(고려파낙스, 한국)을 이용하였고 추출용매는 증류수로 하였으며, 섭씨 82 및 93도에서 24시간, 48시간, 72시간 각각 추출하여 여과한 후, 감압 농축하여 분석용 엑스를 조제하였다. 분석엑스의 시료번호는 RG-821~3, 931~3이다.

기기 및 조건 - HPLC 장치는 Gilson 305 system (Gilson, 프랑스)이었으며, 컬럼은 Prevail™ Carbohydrate ES 5 μm (250×4.6 mm, Alltech, 미국)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile (ACN), isopropyl alcohol (IPA), water (HPLC급, JT Baker, 미국)을 사용하였으며, Solvent A는 (ACN:Water:IPA=80:5:15), Solvent B는 (ACN:Water:IPA=67:21:12)이었고, Solvent B의 비율을 10%에서 85%(28분), 80%(35분), 75%(45분), 90%(50분), 100%(51분), 그리고 25%(57분)로 순차적으로 변화시켜 주고 마지막으로 다시 10%(58분)로 조절하였다. 전개온도는 실온이었고 유속은 분당 0.8 ml이었다. 크로마토그램은 ELSD detector(Alltech, 미국)를 이용하여 검출하였다.

조 사포닌(crude saponin)의 조제 - 검체 7.0 g을 100 ml의 농축플라스크에 취하고 감압농축 건조한 후 수포화 부탄올(n-butanol) 50 ml를 가하여 환류 냉각기를 붙여 수욕 중에서 70~80°C로 약 1시간 가열 추출한 다음 냉각한 후 여과하고 잔류물에 대하여 같은 조작을 계속 2회 반복하였다. 여지는 수포화 부탄올(n-butanol) 10 ml로 세척하고 여액 및 세액을 합하여 250 ml 분액깔때기에 넣고 물 20 ml로 잘 진탕시켜 수세하였다. 수포화 부탄올 추출액 전액을 미

리 향량으로 한 농축플라스크에 옮겨 수욕 중에서 감압 농축하여 부탄올을 제거한 다음 그 잔류물에 에테르 50 ml를 넣고 환류냉각기를 붙여 수욕 중에서 36°C로 30분간 가열하여 탈지시킨 후 에테르를 제거하였다. 잔류물은 105°C에서 20분간 건조하고 다시 데시케이터에서 30분간 식혀 무게를 달아 다음 식의 공식에 따라 조사포닌 량을 구하였다.¹⁹⁾

$$\text{조 사포닌 량(mg/g)} = (A - B) / S$$

A : 수포화 부탄올 층을 농축 건조한 후의 플라스크의 무게(mg)

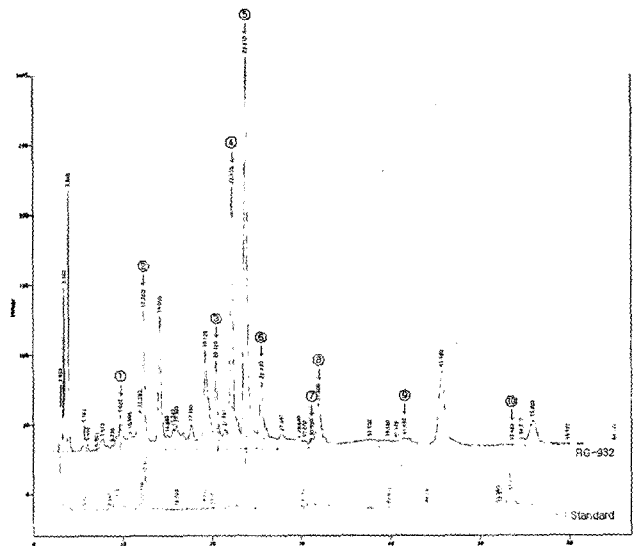
B : 향량으로 한 빈 플라스크의 무게(mg)

S : 검체의 체취량(g)

HPLC 분석 - 위에서 얻은 시료를 Ko 등²⁰⁾의 조건을 응용하여 HPLC를 실시하고, 상법에 따라 표준과 직접 비교하여 ginsenoside의 함량 및 조성을 Fig. 2와 같이 분석하였다. 표준은 Wako Chemical(일본)로부터 구입한 순도 99% 이상의 ginsenoside들이었다.

결과 및 고찰

현재 우리나라에서 시판되고 있는 K사 6년근 홍삼(300 g, 15지)를 대상으로 추출시간 및 온도에 따른 조 사포닌(crude saponin) 및 총 사포닌(total saponin)량과 개별 ginsenosides의 함량 분포를 조사·비교함으로써 추출조건에 따른 사포



① Ginsenoside-Rh₂, ② -Rh₁, ③ -Rg₂, ④ -Rg₃, ⑤ -Rg₁, ⑥ -Rf, ⑦ -Re, ⑧ -Rd, ⑨ -Rb₂ + -Rc, ⑩ -Rb₁

Fig. 2. HPLC profiles of ginsenosides detected from the RG-932, and compared with chromatograms of the standard authentics.

Table I. Saponin contents in red ginseng extracted under various conditions (%)

Extracts	82°C			93°C		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
C.S.	7.6	7.2	8.0	5.9	7.9	6.1
T.S.	3.3	2.4	2.1	2.3	3.2	2.0

C.S.: crude saponin, T.S.: total saponin(sum of individual ginsenosides content)

닌 함유패턴을 중심으로 차이점을 검토하였다. 추출 조건에 있어서는 홍삼제품 생산현장에서 일반적으로 80°C에서 95°C 사이에서 추출하고 있으므로 82°C와 93°C를 설정하여 추출 시간 별로 검토하였다.

Table I에서와 같이 식품공전법에 따라 1회씩 실시하여 측정한 조 사포닌 량은 82°C에서는 72시간 추출한 RG-823가 8.0%로 높은 함량을 나타내었고, 93°C에서는 48시간 추출한 RG-932가 7.9%로 가장 높은 함량을 나타냈다. 또한, 분석한 ginsenosides의 총합인 총 사포닌 량에 있어서는 82°C에서 24시간 조건에서 추출한 RG-821이 3.3%로 높은 함량을 나타내었고, 93°C에서 48시간 조건에서 추출한 RG-932가 3.2%로 가장 높은 함량을 나타냈다. 따라서, 82°C의 조건에 있어서 조 사포닌은 72시간, 총 사포닌은 24시간 추출시 가장 높은 함량을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었고, 93°C의 조건에 있어서 조 사포닌과 총 사포닌 공히 48시간 추출시 가장 높은 함량을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다. 최대 총 사포닌 함량을 나타낸 82°C에서 24시간 조건에서 추출한 RG-821의 함량은 박⁸⁾ 등이 보고한 홍삼의 총사

포닌 량인 1.3%보다 2.6배 높은 함량을 나타냈다.

또한, 홍삼을 증숙할 때 생성되는 홍삼 특유성분으로 항암 및 암전이 억제활성^{11,12)}을 나타내는 prosapogenin(ginsenoside Rh₁, Rh₂, Rg₂, Rg₃)의 총량에 있어서는 Table II에서 보는바와 같이 82°C와 93°C에서 공히 48시간 추출시 1.3%, 1.4%로 가장 높은 함량을 나타냈다. 특히, 93°C 조건에서는 48시간 추출시 1.4%이었으나, 72시간 추출시 0.7%로 현저히 함유량이 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 최대 prosapogenin 함량을 나타낸 93°C에서 48시간 조건에서 추출한 RG-932의 함량은 박⁸⁾ 등이 보고한 홍삼의 prosapogenin 총량인 0.04%보다 32배 정도 높은 함량을 나타냈다.

한편, protopanaxadiol group 사포닌 배당체 성분(PDG, Rb₁+Rb₂+Rc+Rd)과 protopanatriol group 사포닌 배당체 성분(PTG, Re+Rf+Rg₁)의 비율(Diol. G/Triol. G)에 있어서 Table II에서 보는바와 같이 82°C와 93°C에서 공히 추출 시간이 길어지면서 낮은 비율을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 93°C에서 72시간 조건에서 추출한 RG-932에 있어서는 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc와 Re는 함량이 측정되지 않았으나, ginsenoside Rd, Rf와 Rg₁은 함유량이 측정되었다. 이와 같은 결과는 인삼 사포닌(ginsenosides) 즉, dammarane group triterpenoid saponin의 두 종류의 물질군(PDG, PTG) 중에서 PDG가 PTG에 비하여 열처리에 의해서 보다 쉽게 가수 분해된다고 판단되며, PTG가 열에 보다 안정한 물질군으로 해석된다. 그러나, PDG 중 ginsenoside Rd와 PTG 중 ginsenoside Re는 두 dammarane group이 나타내는 공통적인 특징과는 다른 경향을 나타냈다. 이와 같은 결과는 홍삼 추출물의 응용에 있어서 최적의 생리활성

Table II. Ginsenoside contents in red ginseng extracted under various conditions

(% , w/w)

Ginsenosides	82°C			93°C		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Rb ₁	0.485±0.005	0.127±0.011	0.048±0.029	0.184±0.009	0.017±0.114	Trace
Rb ₂ +Rc	0.296±0.046	0.075±0.089	0.026±0.009	0.092±0.112	0.048±0.006	Trace
Rd	0.153±0.007	0.102±0.038	0.125±0.071	0.085±0.091	0.152±0.139	0.151±0.035
Re	0.194±0.036	0.055±0.006	0.021±0.008	0.069±0.037	0.016±0.069	Trace
Rf	0.188±0.078	0.163±0.011	0.150±0.011	0.150±0.008	0.273±0.009	0.149±0.014
Rg ₁	0.933±0.038	0.641±0.007	0.595±0.006	0.581±0.122	1.254±0.117	1.033±0.017
Rg ₂	0.152±0.008	0.180±0.178	0.166±0.119	0.190±0.061	0.234±0.039	0.106±0.178
Rg ₃	0.487±0.029	0.499±0.126	0.390±0.128	0.458±0.124	0.464±0.108	0.139±0.134
Rh ₁	0.325±0.121	0.488±0.049	0.433±0.038	0.434±0.014	0.585±0.183	0.333±0.038
Rh ₂	0.084±0.132	0.098±0.122	0.117±0.024	0.087±0.063	0.144±0.059	0.074±0.056
Diol. G/Triol. G ^{a)}	0.710	0.404	0.260	0.451	0.141	0.128
Prosapogenin ^{b)}	1.048	1.265	1.106	1.169	1.427	0.652

^{a)}Ginsenoside Rb₁+Rb₂+Rc+Rd/Re+Rf+Rg₁

^{b)}Ginsenoside Rg₂+Rg₃+Rh₁+Rh₂

Values represent the mean±S.E. (n=3)

고농도 함유물에 대한 정보를 주는 것이며, 홍삼을 가공해서 고농도 홍삼 특유 성분이 함유된 기능성 인삼 제품 개발에 기초정보를 제공하는 결과라 사료된다.

결 론

홍삼을 대상으로 추출 조건에 따른 ginsenosides의 함량에 미치는 영향을 검토한 결과, 조 사포닌의 함량은 82°C 72시간 추출 조건에서 가장 높은 함량을 나타냈고, prosapogenin량은 82°C에서는 48시간 추출 조건에서 가장 높은 함량을 나타냈고, 72시간, 24시간의 순이었고, 93°C에서도 48시간 추출 조건에서 가장 높은 함량을 나타냈고, 24시간, 72시간의 순이었다. 결론적으로, 홍삼 특유성분인 prosapogenin을 가장 많이 함유하게 하는 추출조건은 82°C와 93°C 공히, 48시간이었고, 조 사포닌 량에 있어서는 82°C의 추출 조건에서 보다 높은 함량을 보여주었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Namba, T. (1980) The Encyclopedia of Wakan-Yaku with Color Pictures (I), 1-5, *Hoikusha*, Osaka.
- Lee, D. C., Lee, M. O., Kim, C. Y. and Clifford, D. H. (1981) Effect of ether, ethanol and aqueous extracts of ginseng on cardiovascular function in dogs. *Can. J. Comp. Med.*, **45**: 182-187.
- Jie, Y. H., Cammisuli, S. and Baggolini, M. (1984) Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer in the mouse. *Agents Actions*, **15**: 386-391.
- Kim, Y. C., Kim, S. R., Markelonis, G. J. and Oh, T. H. (1998) Ginsenosides Rb₁ and Rg₃ protect cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurodegeneration. *J. Neurosci. Res.*, **53**: 426-432.
- Joo, C. N., Koo, J. D., Kim, D. S. and Lee, S. J. (1977) Biochemical studies of ginseng saponins. XI. The effects of ginseng saponins on alcohol dehydrogenase. *Hanguk Saenghwa Hakhoechi*, **10**: 109-120.
- Tahara, M., Kono, H., Mune, S. and Odashima, S. (1985) Action of ginsenosides on tumor cells. Growth inhibition and redifferentiation of neoplasia. *Wakan Yaku Gakkaishi*, **2**: 170-171.
- Yokozawa, T., Kobayashi, T., Oura, H. and Kawashima, Y. (1985) Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-Rb₂ in streptozotocin-diabetic rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**: 869-872.
- Park, J. D. (1996) Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.*, **20**: 389-415.
- Sanata, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. (1974) Studies on the saponins of ginseng. I. Structure of ginseng-R₀, Rb₁, Rb₂, Rc and Rd. *Chem. Pharm. Bull.*, **22**: 421-428.
- Kitagawa, I., Taniyama, T., Shibuya, H., Nota, T. and Yoshikawa, M. (1987) Chemical studies on crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (2); Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. *Yakugaku Zasshi*, **107**: 495-505.
- Keum, Y. S., Park, K. K., Lee, J. M., Chun, K. S., Park, J. H., Lee, S. K., Kwon, H. and Surh, Y. J. (2000) Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.*, **150**: 41-48.
- Kim, S. E., Lee, Y. H., Park, J. H. and Lee, S. K. (1999) Ginsenoside-Rs₃, a new diol-type ginseng saponin, selectively elevates protein levels of p53 and p21WAF1 leading to induction of apoptosis in SK-HEP-1 cells. *Anticancer Res.*, **19**: 487-491.
- Kim, W. Y., Kim, J. M., Han, S. B., Lee, S. K., Kim, N. D., Park, M. K., Kim, C. K. and Park, J. H. (2000) Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J. Nat. Prod.*, **63**: 1702-1704.
- Bao, H. Y., Zhang, J., Yeo, S. J., Myung, C. S., Kim, H. M., Kim, J. M., Park, J. H., Cho, J. S. and Kang, J. S. (2005) Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. *Arch. Pharm. Res.*, **28**: 335-342.
- Jung, K. Y., Kim, D. S., Oh, S. R., Lee, I. S., Lee, J. J., Park, J. D., Kim, S. I. and Lee, H. K. (1998) Platelet activating factor antagonist activity of ginsenosides. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**: 79-80.
- Kwon, S. W., Han, S. B., Park, I. H., Kim, J. M., Park, M. K. and Park, J. H. (2001) Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. *J. Chromatogr.*, **921**: 335-339.
- Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. (1996) Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.*, **62**: 453-457.
- Hasegawa, H., Sung, J. H. and Benno, Y. (1997) Role of human intestinal *Prevotella oris* in hydrolyzing ginseng saponins. *Planta Med.*, **63**: 436-440.
- Korea Food and Drug Administration. (2001) Code of Korea Food Regulation 2001, 396-398, Seoul.
- Ko, S. K., Lee, K. H., Hong, J. K., Kang, S. A., Sohn, U. D., Im, B. O., Han, S. T., Yang, B. W., Chung, S. H. and Lee, B. Y. (2005) The Change of Ginsenoside Composition in Ginseng Extract by the Vinegar Process. *Food Sci. Biotechnol.*, **14**: 509-513.

(2006년 7월 31일 접수)