

홍삼의 알콜 농도별 추출 엑스의 수율과 사포닌 함량

고성룡 · 김석창 · 최강주
한국인삼연구소

Extract Yields and Saponin Contents of Red Ginseng Extracts prepared with various Concentrations of Ethanol

Sung Ryong Ko, Seok Chang Kim and Kang Ju Choi
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea

Abstract—Red ginseng extracts were prepared with various concentrations of ethanol. Extract yields were examined and saponins in the extracts were identified and determined by TLC and HPLC, respectively. Yields of the extracts, 19.7~50.3%, were the highest in water extract and showed significant decrease with the increase of ethanol concentration used for extraction. Contrary to the extract yields, saponin yields from red ginseng were conspicuously increased with the increase of ethanol concentration and were 3.47~5.13% of crude saponins and 1.28~1.93% of six major ginsenosides. Saponin contents in the red ginseng extracts were 6.9~24.2% of crude saponin and 2.57~9.22% of six major ginsenosides.

Keywords—*Panax ginseng* · red ginseng · water and ethanol extracts · saponin contents

최근 국내의 인삼 시장의 소비자층이 다양해지고 식생활의 패턴도 바뀐에 따라 다양한 인삼 제품류와 인삼이 함유된 생약복합제가 개발되어 건강식품으로 또는 의약품으로 등록되어 유통되고 있는 실정이다. 이들 인삼이 함유된 제품류에 대하여는 국내의 품질검사 공인기관에서 인삼의 가장 주된 유효성분인 동시에 인삼속 식물에만 함유된 것으로 밝혀진 dammarane계 triterpenoid glycoside인 인삼 사포닌 성분을 중심으로 유효성분 수준을 평가하고 품질검사를 수행하고 있다.¹⁻³⁾ 그러나 인삼은 부위별⁴⁾, 년근별⁴⁾ 및 원료삼류^{5,6)}에 따라 사포닌 함량이나 사포닌들의 조성 패턴이 상이한 것으로 밝혀졌고, 또한 홍미삼 추출용매의 에탄올 농도에 따라서도 엑스 수율⁷⁾과 사포닌 함량⁸⁾도 상이한 것으로 일부 보고된 바 있다.

그러나 홍삼 엑스에 대해서는 거의 연구 보고된 바 없으므로, 본 연구에서는 홍삼 엑스 제조시 물 및 알콜 농도별 추출용매에 따른 엑스의 수율과 사포닌의 추출이행량을 조사하고 아울러 홍삼 엑스 중의 사포닌 함량을 분석하여 다양한 홍삼제품류의 원료용 홍삼엑스 제조시 추출용매 선정에 자료로 활용코자 하였다.

실험 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 홍삼 시료는 한국담배인삼공사에서 6년근 원료수삼을 증삼가온시켜 제조한 홍삼을 42~80 mesh로 균일하게 분쇄한 의약품 분말(수분함량 7.22%)을 구입하여 시료로 사용하였다. 액체크로마토그래피 분석에 사용한

acetonitrile, n-butanol, methanol, 증류수 등의 용매류는 E. Merck 회사의 HPLC용 용매류를 사용하였고, 그 외의 추출용매류 및 TLC 전개용매류는 일급시약을 사용하였다. Ginsenoside 표준품은 한국인삼연구초연구소에서 분리한 표준품을 사용하였다.

2. 방 법

1) 추출 알콜농도별 엑스 제조

홍삼의 알콜농도별 엑스 제조는 추출용매로 물, 20% 에탄올, 30% 에탄올, 40% 에탄올, 60% 에탄올, 80% 에탄올, 무수에탄올을 각각 사용하였고, 사포닌 추출량의 대조구로는 80% 메탄올을 사용하였다. 엑스 추출 조건은 각각의 추출용매를 가하여 4회 반복 추출하였으며, 1회 추출은 홍삼 분말(수분함량 7.22%) 20g에 각각의 추출용매 200 ml씩을 가하여 10배량(v/w)으로, 2회, 3회 및 4회는 각각의 추출 용매 100 ml씩 5배량(v/w)의 추출용매를 가하여 80°C 수욕조에서 3시간 가열환류 추출 후 여과포로 여과하였다. 여액을 9,220×g(10,000 rpm)으로 원심분리시켜 침전물을 제거시킨 다음 상정액을 60±1°C에서 감압농축하여 각각의 엑스를 얻었다. 각 엑스의 수율조사는 제조된 엑스중 일부를 취하여 105°C 건조기에서 항량이 될 때까지 건조하여 건물 엑스량을 구한 다음 홍삼 분말 대건물량에 대한 건물 엑스량 %로 표기하였다.

2) 인삼 사포닌성분의 확인

추출 알콜농도별 엑스중에 추출 이행된 인삼 사포닌 성분의 확인은 각 엑스로부터 수포화 n-butanol 추출방법⁹⁾으로 조사포닌 분획물을 분리한 다음 사포닌성분의 TLC 확인은 silica gel 60 precoated aluminum sheet(E. Merck Co., layer thickness 0.2 mm)를 이용하여 chloroform/methanol/water(65:35:10, lower phase)으로 전개시킨 다음 30% 황산(w/v)을 분무후 가온시켜 확인하였다. 이때 TLC 점적량은 홍삼분말 10g에 상당하는 각각의 엑스로부터 추출된 조사포닌을 각각 메탄올 10 ml에 용해시켜 3 μl씩 점적하였다.

3) 사포닌성분의 정량

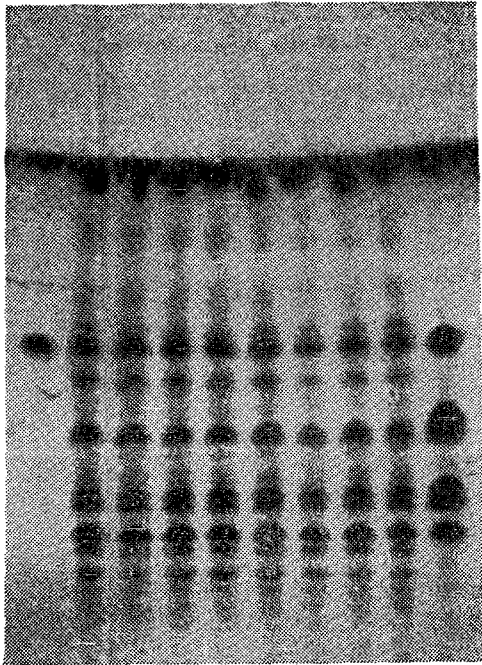
사포닌성분의 정량은 각 엑스로부터 Ando 등⁹⁾의 방법에 준하여 수포화 n-butanol 추출방법으

로 조사포닌 분획물을 분리한 후 감압 농축하여 중량법으로 조사포닌량을 조사하였다. 각 사포닌성분의 분리 정량은 각 엑스로부터 추출된 조사포닌 분획물을 메탄올에 용해시켜 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분석하였다.^{4,10)} 이때 사용한 HPLC는 Waters Associates Model 244를, 컬럼은 Lichrosorb NH₂(Merck, 10 μm, 25×0.46cm I.D.)를, 검출기는 differential refractometer RI 401을 사용하였고, 이동상은 acetonitrile/water/n-butanol(80:20:10, v/v)을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

1. 홍삼의 알콜농도별 추출엑스의 사포닌 TLC 패턴

홍삼의 물 및 알콜농도별 추출엑스중에 추출 이행된 사포닌의 TLC 패턴은 Fig. 1과 같다. 여기서 볼 수 있듯이 추출용매의 알콜농도별에 따른 엑스중 사포닌의 TLC 조성 패턴은 대체로 유사하였으나 40% 에탄올 이상의 알콜 용매로 추출된 엑스중의 사포닌성분들이 TLC 패턴상에서 보다 더 많은 양이 검출 확인되었다. 이것은 Table 1에서 볼 수 있는 바와 같이 알콜농도가 높은 용매로 추출된 엑스중에 사포닌의 추출이 행량이 높기 때문임을 알 수 있다. 즉 홍삼 10g에 상당하는 각 엑스별 조사포닌을 메탄올 10 ml에 용해시켜 3 μl씩 점적하였을 때 Table 1의 조사포닌량을 고찰해 보면 물추출 엑스는 96.6 μg, 20% 에탄올 엑스는 104.1 μg, 30% 에탄올 엑스는 106.8 μg, 40% 에탄올 엑스는 122.7 μg, 60% 에탄올 엑스는 140.4 μg, 80% 에탄올 엑스는 142.8 μg, 무수에탄올 엑스는 132.6 μg, 대조구로 사용한 80% 메탄올 엑스는 145 μg에 상당하는 양이 점적되었다고 볼 수 있다. 이들 엑스중의 사포닌성분은 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re 및 -Rg₁ 등 주종 사포닌성분 외에 미량 사포닌성분들도 대체로 유사한 패턴 경향을 나타내었다. 또한 대한약전²⁾ 및 일본약국방³⁾에서 인삼 확인시험법으로 통용되고 있는 ginsenoside-Rg₁ 성분은 원료인삼이나 원료인삼의 배합 비율에 따라 TLC 패턴이나 HPLC 패턴이 상이



St W E₂₀ E₃₀ E₄₀ E₆₀ E₈₀ E₁₀₀ M₈₀ Rg₁

Fig. 1. Thin layer chromatograms of saponins of ginseng extracts prepared with various alcohol concentration

* The samples were as follows;

St : ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₁

W : Water extract

E₂₀ : 20% ethanol extract

E₃₀ : 30% ethanol extract

E₄₀ : 40% ethanol extract

E₆₀ : 60% ethanol extract

E₈₀ : 80% ethanol extract

E₁₀₀ : absolute ethanol extract

M₈₀ : 80% methanol extract

Rg₁ : ginsenoside-Rg₁

한 것으로 보고^{5,6,11)}되었으나, 홍삼분말 시료의 추출 알콜농도별 엑스중의 ginsenoside-Rg₁은 Fig. 1의 TLC 패턴이나 Table 1의 분석결과에서 알 수 있듯이 고농도 알콜 엑스중의 함량이 다소 높았으나 사포닌의 조성패턴은 대체로 유사한 경향이였다.

2. 홍삼의 알콜농도별 추출 엑스의 수율 및 사포닌추출 이행량

홍삼의 에탄올 농도별 추출 엑스의 수율 및 사포닌 추출이행량은 Table 1과 같다. 엑스의 수율은 물추출 엑스가 50.3%로 가장 높았고 에탄

올 농도가 증가함에 따라 수율은 감소되어 80% 에탄올 추출구는 36.5%였고, 무수에탄올 추출구에서는 19.7%로 가장 낮았다. 반면에 홍삼으로부터 엑스중에 추출되어 이행된 조사포닌 수율은 물추출구가 3.47%로 가장 낮았고 추출용매의 에탄올 농도가 증가됨에 따라 조사포닌 수율도 증가되는 경향으로 80%에탄올 추출구가 5.13%로 가장 높았으며, 무수 에탄올 추출구는 4.76%로 다소 낮았다.

주종 사포닌성분인 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Re, -Rg₁의 함량을 비교해 볼 때 조사포닌과 같은 경향으로 물추출 엑스중의 6종 ginsenoside의 추출 수율은 1.28%로 가장 낮았고, 에탄올 농도가 증가됨에 따라 그 이행량도 증가하여 80%에탄올 추출구에서는 1.93%로 현저하게 증가되었다. 에탄올 농도별에 따른 엑스중의 ginsenoside 추출 이행량은 사포닌 정량시 추출용매로 사용되는 80% 메탄올의 추출량을 100%로 기준하여 비교해 볼때 물추출 엑스는 65.0%로 가장 낮았고, 80% 에탄올추출 엑스는 98.0%로 가장 높아서 33%의 추출수율 차이를 나타내었다.

한편 인삼 뿌리에는 부위에 따라 전분질¹³⁾이 대분물 함량비로 26.2~36.6% 정도로 다량 함유되고 이들 전분질은 홍삼의 증삼, 가온 건조 과정에서 호화 즉 젤라틴화(gelatinization)¹⁴⁾되어 홍삼의 조직은 매우 치밀 견고하다. 따라서 무수에탄올에는 홍삼에 다량 함유된 전분질, 다당류, 펙틴질, 단백질 등 수용성물질¹²⁾들이 거의 용출되지 않고, 또한 홍삼의 조직도 거의 팽윤이 되지 않기 때문에 무수에탄올 엑스 추출시 엑스의 추출수율이 매우 낮고 사포닌의 추출 이행량도 다소 떨어진 것으로 사료된다. 이와 같은 경향은 홍미삼 엑스 제조시 추출용매에 따라 조사포닌 용출량은 70%에탄올>50%에탄올>90%에탄올>물>30%에탄올 추출 순이었고, 주종 ginsenosides의 용출량은 90%에탄올>70%에탄올>50%에탄올>30%에탄올>물 추출 순으로 성등⁸⁾의 보고 결과와 대체로 유사한 경향이였으나 추출 용매별 사포닌의 추출량이나 추출율은 상이하였다. 이것은 본 시험에서는 홍삼을 분쇄하여 시료로 사용한 반면에 성등⁸⁾은 사포닌 함

Table I. Yields of ginseng extracts, crude saponin and ginsenosides from red ginseng with various concentrations of ethanol (Unit: % of dry ginseng)

Solvents	Yield Extract	Crude ¹⁾		Ginsenoside					Extraction	
		Saponin	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	Total ²⁾	Ratio ³⁾
Water	50.3	3.47	0.39	0.18	0.19	0.07	0.20	0.25	1.28	65.0
20% EtOH	44.3	3.74	0.42	0.20	0.20	0.08	0.22	0.26	1.38	70.1
30% EtOH	43.6	3.84	0.43	0.22	0.22	0.08	0.25	0.27	1.47	74.6
40% EtOH	42.2	4.41	0.50	0.24	0.25	0.09	0.26	0.29	1.63	82.7
60% EtOH	39.6	5.04	0.57	0.28	0.30	0.10	0.28	0.33	1.86	94.4
80% EtOH	36.5	5.13	0.60	0.28	0.30	0.11	0.30	0.34	1.93	98.0
100% EtOH	19.7	4.76	0.54	0.27	0.29	0.09	0.29	0.33	1.81	91.8
80% MeOH	41.3	5.22	0.61	0.29	0.31	0.11	0.31	0.34	1.97	100

*Saponin and ginsenoside content values represent the average of triplicate experiments

1) Water saturated n-butanol extract

2) Total ginsenosides are 6 major ginsenosides(Rb₁+Rb₂+Rc+Rd+Re+Rg₁)

3) Ginsenoside extraction ratios were obtained by the factor of 100 based on the total amount of ginsenoside extracted to 80% MeOH extract

량이 매우 높은 홍미삼^{4,5)}을 조쇄하여 시료로 사용하였기 때문이라고 사료된다.

3. 홍미삼의 알콜 농도별 추출 엑스중의 사포닌 함량

Table I의 원료홍미삼으로부터 추출 알콜 농도별 엑스 중 추출 이행된 사포닌량에 비하여 Table II의 엑스중 사포닌 함유 비율은 추출용매의 알콜농도가 높을수록 현저하게 증가되었다. 이것은 Table I에서 알 수 있듯이 홍미삼으로부터 엑스 제조시 추출알콜의 농도가 높을수록 엑스 수율은

현저하게 감소되었으나 사포닌 추출 이행량은 오히려 증가되어 고농도 알콜 엑스중 사포닌함량이 현저하게 높다는 것을 알 수 있었으며, Table I에서 사포닌 추출량은 80%에탄올 엑스가 가장 높았으나 Table II에서 무수에탄올 엑스중 사포닌의 함유비율이 가장 높은 것은 무수에탄올 엑스의 수율이 18.27%로 매우 낮았기 때문에 엑스중 사포닌의 함유 비율이 더욱 높다는 것을 알 수 있다. 즉 고농도 알콜^{8,9)}에는 홍미삼의 사포닌성분이 잘 추출되는 반면에 홍미삼에 다량

Table II. Contents of crude saponin and ginsenosides in the ginseng extracts prepared with various concentrations of ethanol (Unit: % of dry extract)

Solvents	Yield	Crude ¹⁾		Ginsenoside					
		Saponin	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	Total ²⁾
Water		6.9	0.79	0.36	0.39	0.13	0.41	0.49	2.57
20% EtOH		8.5	0.95	0.46	0.47	0.17	0.49	0.58	3.12
30% EtOH		8.8	0.99	0.49	0.50	0.18	0.57	0.62	3.35
40% EtOH		10.4	1.17	0.56	0.59	0.20	0.61	0.69	3.82
60% EtOH		12.7	1.44	0.71	0.76	0.27	0.73	0.84	4.75
80% EtOH		14.1	1.65	0.77	0.83	0.30	0.84	0.95	5.34
100% EtOH		24.2	2.74	1.37	1.48	0.44	1.49	1.70	9.22
80% MeOH		12.6	1.49	0.70	0.76	0.27	0.76	0.83	4.81

*Saponin and ginsenoside content values represent the average of triplicate experiments

1) Water saturated n-butanol extract

2) Total ginsenosides are 6 major ginsenosides(Rb₁+Rb₂+Rc+Rd+Re+Rg₁)

함유된 전분질, 다당류, 펙틴질과 단백질 등 수용성물질¹²⁾들은 상대적으로 적게 추출되어 무수에탄올 엑스 및 고농도 알콜엑스의 수율(Table I 참조)은 낮았으나 엑스 중의 사포닌의 함유비율(Table II 참조)이 현저하게 높다는 것을 알 수 있었다. 따라서 사포닌 함량만을 고려하여 비교한다면 홍삼의 엑스 제조시 고농도 에탄올로 추출함으로써 사포닌 함량이 높은 엑스를 제조할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 그러나 홍삼 엑스는 홍삼 제품류 제조시 제품 형태나 사용목적에 따라 사포닌 함량뿐 아니라 원료홍삼으로부터 수율, 향미 등 여러가지 품질 문제가 동시에 고려되어야 할 것으로 사료된다. 또한 한국의 보사부¹⁵⁾나 일본의 후생성³⁾ 등 관련 검사 공인기관에서는 소비자의 안전성 측면에서 장구한 세월동안 복용해온 물추출 방법으로 생약복방제 원료 엑스를 제조할 것을 권장하고 있으며 에탄올을 추출용매로 사용할 경우에는 안전성 측면에서 가능한 30% 에탄올 용액 이하로 규제하고 있다는 점에 대해서도 유의를 해야 할 것이다.

결 론

홍삼을 여러가지 에탄올 농도별로 추출하여 엑스를 제조한 다음 엑스의 수율을 조사하고, 엑스 중 추출 이행된 사포닌을 TLC로 확인하고 HPLC로 정량하였다. 홍삼의 물과 에탄올 농도별 엑스 수율은 19.7~50.3%로 물추출 엑스의 수율이 가장 높았고 에탄올 농도가 증가됨에 따라 엑스 수율은 현저하게 감소되었다. 그러나 홍삼으로부터 사포닌 추출 수율은 알콜 농도가 증가됨에 따라 현저하게 증가되었으며 조사포닌의 수율은 3.47~5.13%, 6종의 주종 ginsenoside의 수율은 1.28~1.93%였다. 추출 알콜 농도별 홍삼 엑스 중의 조사포닌 함량은 6.90~24.2%,

6종의 주종 ginsenoside의 함량은 2.57~9.22%였다.

<1991년 12월 24일 접수 : 1992년 2월 15일 수리>

문 헌

1. 한국식품공업협회 : 식품공전, 보건사회부, 서울, pp. 300-324 (1988).
2. 보건사회부 : 대한약전(제 5 개정), 대한보건공정서 협회, 서울 (1987).
3. 日本公定書協會 : 日本藥局方解説書(第12改定), 廣川書店, 東京 (1991).
4. 김만옥, 고성룡, 최강주, 김석창 : 고려인삼학회지 11(1), 10 (1987).
5. 김만옥, 최강주, 박종대, 김석창, 고성룡 : 인삼연구보고서(제품분야), pp. 217-224 (1985).
6. 고성룡, 최강주, 김석창, 김만옥 : 한국생약학회지 20(3), 170 (1989).
7. 홍순근, 김명수 : 시험연구보고서(인삼부문), pp. 57-69 (1974).
8. 성현순, 양차범 : 한국식품과학회지 17(3), 227 (1985).
9. Ando, T., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Shoyakugaku Zasshi* 25, 28 (1971).
10. 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운 : 약학회지 23(3 & 4), 245 (1979).
11. 김만옥, 최강주, 박종대, 위재준, 고성룡, 김석창 : 인삼연구보고서(표능분야), pp. 212-219 (1988).
12. 성현순 : 고려인삼정의 추출조건이 이화학적 특성에 미치는 영향에 관한 연구, 한양대학교 박사학위 논문 (1983).
13. 김해중, 조계선 : 고려인삼학회지 8(2), 114 (1983).
14. 오훈일, 도재호, 노해원 : 인삼연구보고서(제조분야), 고려인삼연구소, 서울 pp. 3-20 (1980).
15. 국립보건원 : 의약품등(화장품 제외) 기준 및 시험방법 검토 의뢰서 심사에 관한 규정(국립보건원 예규 제295호, 1987. 6. 15).