

人蔘의 加熱抽出 過程 중 사포닌의 加水分解 特性 및 有機酸 中和에 의한 分解抑制

鄭昇溢* · 李龍九** · 金千石*** · 李成****

Property and Inhibition of the Hydrolysis of Ginseng Saponins by Organic Acids Neutralization in Ginseng Extract Preparations

Seung Il Jeong*, Yong Gu Lee**, Cheon Suk Kim*** and Seong Lee****

ABSTRACT : Glucosidic bond at the C₂₀ position of the saponins was hydrolyzed easily in the lower pH, higher temperature and longer time to give prosapogenins and sugars. The glucosidic bond of saponin at the C₃ of ginsenoside-Rb₁, which is secondary carbon, was relatively stable due to the low electron density of -0.2. But the bond of saponin at the C₂₀ position, which is tertiary carbon with the relatively high electron density of -0.3, was liable to be hydrolyzed even in weak acidic solution by the increase of heating time. On the other hand, fresh and white ginseng contained 4.12 mg/g, 13.05 mg/g of citric acid, 0.68 mg/g, 2.18 mg/g of malonic acid, 1.13 mg/g, 3.68 mg/g of oxalic acid, 2.68 mg/g, 8.62 mg/g of malic acid and 0.13 mg/g, 0.46 mg/g of succinic acid, respectively. Ginseng saponins were very stable in ginseng extract neutralized with sodium carbonate or sodium bicarbonate corresponding to the equivalent amount of the total organic acid in the ginseng.

Key words : organic acids, saponin, hydrolysis property, electron density, extraction, pH.

緒 言

오갈피나무과 (*Araliaceae*)에 속하는 人蔘은 上品藥으로 副作用 및 毒性이 없고 大補元氣, 補益肺, 生津止渴, 安神益智 等の 效能이 認定되어 왔지만 化學成分에 대해서는 1957年 러시아의 Brekhman & Dardymov(1969)에 의하여 사포닌

配當體가 사포닌 藥效의 主成分임을 強調하므로써 사포닌 研究가 集中的으로 시작되었다. 現在 31種의 진세노사이드의 化學構造가 解析되었고 새로운 微量 진세노사이드의 研究가 계속되고 있다 (Park, 1996). 人蔘엑스의 製造方法은 물을 抽出溶媒로 하고 加溫抽出하는 傳來的인 韓方의 물抽出 方法이 人蔘이나 人蔘과 生藥劑가 混合된 韓方 製劑의 製造方法으로 가장 널리 이용되고 있다. 그러나 近

* 圓光大學校 自然科學大學 (College of Nature, Wonkwang Univ., Iksan, 570-749, Korea)

** 忠南大學校 自然科學大學 (College of Nature, Chungnam National Univ., Taejeon, 305-764, Korea)

*** 韓國人蔘煙草研究院 (Korea Ginseng & Tobacco Research Institute Taejeon 305-345, Korea)

**** 韓瑞大學校 (Dept. of Food & Biotechnology, Hanseo Univ., Seosan, 356-820, Korea)

〈 '98. 9. 22 接受 〉

來에는 人蔘 엑스제제의 購買力 增大와 더불어 人蔘 엑스제제의 製造過程이 工業化되었으며 傳來 韓方의 열탕 물 抽出에서 澱粉 抽出을 줄이고 사포닌 分解를 抑制하기 위하여 에탄올 水溶液을 이용하여 加溫抽出하는 方法이 사용되고 있다. 그러나 이러한 알코올 抽出方法은 抽出物의 香味가 좋지 않은 단점이 있다. 또한 알코올을 溶媒로 抽出하는 境遇에 물 抽出에 비하여 抽出物의 收率이 낮고 嗅냄새 등 이취미가 강하며 구수한 香味가 弱화된다. 人蔘의 물 抽出은 長時間 水溶媒에서 高溫 처리되므로 製造工程 중에서 人蔘 자체에 含有되어 있는 有機酸들의 影響으로 人蔘의 有效成分인 사포닌의 分解가 심하게 일어나는 단점이 있다. 抽出過程에서 人蔘 중의 사포닌 成分을 分解시키는 物理的 要因으로는 抽出溫度와 抽出時間이 있고 化學的 要因으로는 抽出 中 抽出液의 pH 및 溶媒 등이 있다. 이 중 하나의 要因만 變化되어도 사포닌의 分解率은 크게 變化된다. 本研究는 人蔘엑스를 製造할 때 열수추출, 농축 및 숙성과정 등의 熱處理 過程 중 人蔘이 含有한 有機酸類에 의하여 人蔘의 주된 有效成分으로 밝혀진 사포닌이 加水分解되어 減少되는 것을 防止하기 위하여, 人蔘에 함유된 總 有機酸 含量을 各各 定量하고 그에 해당하는 當量의 중화제로써 人體에 無害한 弱鹽基인 炭酸水素나트륨 또는 炭酸나트륨 등을 抽出溶媒인 물에 가하여 중화시키고자 하였다. 이러한 方法으로 抽出하므로써 抽出液에 存在하는 有機酸을 나트륨鹽의 形態로 중화시키고 (Kim et al., 1995) 添加된 炭酸나트륨 및 炭酸水素나트륨의 炭酸基는 人體에 해롭지 않은 炭酸가스로 轉換되어 揮發되므로 人蔘自體가 含有하고 있는 有機酸으로 인한 saponin의 加水分解를 防止하여 藥理效能이 높은 人蔘엑스를 生産하는 方法을 開發코자 하였다.

材料 및 方法

本 實驗에 材料로 쓰인 水蔘과 白蔘 試料는 1998年産 全北人蔘組合(鎭安)에서 분양 받은 8월에 採掘, 6年根을 使用하였고, 白蔘試料는 담배인삼공사 고려인삼장에서 蒸蔘한 後 加溫乾燥시켜 42~80 mesh로 粉碎한 後 試料로 使用하였다. 사

포닌 分析用 標準品은 韓國人蔘煙草研究院에서 分離製造한 진센노사이드 標準品을 使用하였으며, 有機酸 標準品은 Sigma會社 製品을, PLC plate는 silica gel 60(layer thickness 0.20mm, E. Merck 제)을 使用하였다. 기타 炭酸鹽, 황산 및 抽出溶媒 등은 一級試藥을 使用하였다. 人蔘試料의 有機酸 分析은 試料를 粉碎한 後 60℃에서 乾燥시킨 다음 約 5g을 採取하여 Court & Hendel(1978) 方法에 準하여 12%의 황산/메탄올(v/v)로 室溫에서 20時間 抽出하여 메칠에스터화 시켜 가스크로마토그래피법으로 有機酸을 定量分析하였다. 有機酸이 定量된 各各의 粉碎試料는 抽出濃縮物 製造를 위하여 大조군은 500ml 플라스크에 粉末 人蔘試料 20g에 200ml의 蒸溜水를 加하여 냉각관을 부착시킨 수조에서 85 ± 2℃로 溫度를 維持시키면서 30時間 抽出하였고, 시험군은 500ml 플라스크에 試料 重量 20g과 各 人蔘中에 함유된 總 有機酸의 當量으로 炭酸나트륨 또는 炭酸水素나트륨을 加하고 蒸溜水 200ml를 가하여 냉각관을 부착한 수조에서 85 ± 2℃로 溫度를 維持시키면서 30時間 抽出 한 다음 各各의 抽出液을 9,200 × g(10,000 rpm)으로 원심분리하고 濾液을 동일량(200ml)으로 정용하여 分析하였다. 사포닌 분석은 Ando et al (1971) 方法에 準하여 사포닌 成分을 n-butanol 抽出法으로 抽出한 다음 조사포닌은 減壓濃縮法으로 測定하였고, 各 ginsenoside 含量은 HPLC로 定量하였으며 移動相은 acetonitrile/water/n-butanol (80/20/10, v/v)로 하였다. 人蔘 saponin의 糖에테르 結合部位 酸素의 電荷密度 計算은 Hyperchem Release 3 for Windows를 使用하였고, 主從 사포닌인 Ginsenoside-Rb₁을 選擇하여 人蔘 saponin의 糖에테르 結合部位中 C₃와 C₂₀에 結合된 酸素의 electron density를 計算하였다. 其他 分析은 抽出物의 收率은 重量法으로 하였고, 抽出 後 pH를 測定하고, 9段階 嗜好尺度法을 利用하여 맛, 香氣 등을 分析하였다.

結果 및 考察

人蔘의 抽出方法 中 抽出率이나 엑스의 香味가 가장 좋으며 其他 物理性 등이 良好한 물抽出 方法

으로 抽出하면서 주된 有效成分으로 밝혀진 사포닌 分解에 參與하는 要因을 살펴보면 物理化學的 要因인 抽出 溫度, 抽出 時間, 抽出液의 pH 등이 있다. 이들 要因中에서 人蔘중 有機酸에 의한 酸度 增加에 의한 加水分解를 알아보기 위하여 人蔘중 有機酸의 含量을 測定한 結果(Table 1) oxalic acid, malic acid, succinic acid, malic acid, citric acid 등이 있었으며, 그중 citric acid 와 malic acid가 주된 有機酸이었다. 이들 有機酸의 當量 含量은 $1.23 \times 10^{-4}N$ 과 $3.96 \times 10^{-4}N$ 이었으며 pH는 約 4.5이

었다. 이들 有機酸의 normal 濃度(N)에 해당하는 鹽基로서 中和시키는 方法 등이 있겠으나 試料別 有機酸의 濃度差異 등에 따른 鹽基度의 급격한 增加를 야기시켜 오히려 加水分解를 일으킬 수 있으므로 이러한 問題를 解決하고 人體에도 無害하면서 맛에도 變化가 적으며(Kim et al 1995 ; Hughes, 1948) 各 試料의 有機酸 含量의 差異에 의하여 當量比가 一致하지 않아도 酸도가 과도하게 減少하지 않는 弱鹽基로서 炭酸水素나트륨과 炭酸나트륨을 中和제로 使用하여 人蔘중 有機酸을 나트륨鹽의 形態로 轉換시켰다(Kim et al., 1995). 또한 反應 後 炭酸基는 열수추출온도가 높기 때문에 抽出液에 용해하여 탄산(H_2CO_3)으로 되지 않고 이산화탄소로 쉽게 揮發하게 된다($RCOOH + Na_2CO_3 \rightarrow RCOONa + H_2O + CO_2 \uparrow$).

Table 1. Contents of organic acids in ginseng.

Organic acids	Fresh ginseng(Humidity:72%)		White ginseng(Humidity:8.13%)	
	Contents (mg/g) ¹⁾	Concentrations (N) ²⁾	Contents (mg/g)	Concentrations (N)
Oxalic acid	1.13	2.50×10^{-5}	3.68	8.18×10^{-5}
Malonic acid	0.68	1.31×10^{-5}	2.18	4.18×10^{-5}
Succinic acid	0.13	2.20×10^{-5}	0.46	7.80×10^{-6}
Malic acid	2.68	4.00×10^{-5}	8.62	1.29×10^{-4}
Citric acid	4.12	4.28×10^{-5}	13.05	1.36×10^{-4}
Total	8.74	1.23×10^{-4}	27.99	3.96×10^{-4}

¹⁾Organic acid contents were determined by GC with Supelcowax 10 fused silica capillary column (60 m, 0.32 mm I. D.) and flame ionization detector.

²⁾Normal concentrations were calculated with organic acid contents per 1g of ginseng.

人蔘 固有의 맛과 香을 9段階 嗜好尺度法(Tanino et al., 1982 ; Jerry, 1977)으로 比較한 結果(Table 2), 炭酸鹽의 添加 후 물 抽出物과 물만 의 抽出物에서는 差異點이 나타나지 않았다. 特히 물 抽出物에 대하여 中和시킨 抽出物의 褐色度를 比較하면 炭酸水素나트륨 첨가시험구가 1.72, 1.76배, 炭酸나트륨 첨가시험구는 1.67, 1.69배로 현저한 增加를 보였다. 從來의 물추출방법에 의하면 抽出物의 pH가 4.5인데 비하여, 炭酸나트륨 및 炭酸水素나트륨 처리구의 pH는 6.18와 6.21로 중성에 가까웠다.

Table 2. The comparison of extract yield, taste, flavor, brown color intensity, and pH in ginseng extract preparations.

Extraction method	Fresh ginseng					White ginseng				
	Extract yield (%)	Taste ²⁾	Flavor ²⁾	Absorbance ³⁾	pH	Extract yield (%)	Taste	Flavor	Absorbance	pH
Water extract	12.9	6.2	6.2	0.43	4.45	41.7	6.1	6.1	0.45	4.46
Na ₂ CO ₃ added water extract ¹⁾	13.6	6.1	6.2	0.72	6.18	43.8	6.1	6.2	0.76	6.19
NaHCO ₃ added water extract ¹⁾	13.3	6.2	6.1	0.74	6.21	42.9	6.1	6.1	0.79	6.20

¹⁾Sodium carbonate or sodium bicarbonate was added by the equivalent amount corresponding to the total amount of organic acids in ginseng, and then extracted with water at $85 \pm 2^\circ C$ for 40 hrs.

²⁾Taste and flavor were evaluated by quantitative descriptive analysis.

³⁾The absorbance (browning color intensity) of ginseng was measured at 470 nm.

人蔘 抽出物 中 主從 사포닌 含量(Takagi, 1974 ; Shibata et al., 1982 ; Kasai et al., 1983 ; Kitagawa, 1984) 分析 結果는 Table 3과 같이, 7種 사포닌 中의 比率이 從來의 水 抽出方法에 比하여 炭酸나트륨 첨가구에서는 5.2, 3.5배, 炭酸水素나트륨 첨가구에서는 6.7, 3.9배로써 含量이 높아 炭酸나트륨과 炭酸水素나트륨 添加로 사포닌 成分의 分解가 顯著하게 抑制됨을 알 수 있었다(Kim et al., 1995 ; Matsuura, 1985 ; Kim et al., 1995 ; Soldati, 1980). 人蔘엑스 抽出 및 製造過程 中 사포닌 成分의 主된 分解位置는 C₂₀ 位置이며, glucoside 結合이 加水分解되면서 prosapogenin으로 變化되는 것이 主된 사포닌 分解要因이다(Fig. 1).

人蔘中의 有機酸은 抽出液의 酸度를 增加시켜, 結果的으로 人蔘 사포닌은 弱酸性溶液(pH=4.5) 中에서 加열되어 사포닌의 構造 中 C₂₀-O-結合의 加水分解가 일어나며 C₃-O-結合과 C₆-O-結合의 境遇에는 結合이 끊어지는 現象은 發見되지 않는다 고 보고되었다. 人蔘 사포닌의 酵素에 의한 加水分解 特性을 살펴보면 사포닌의 C₃-(C₁)glc, C₆-(C₁)glc, C₂₀-(C₁)glc 結合과 glc(C₆)-(C₁)glc, glc(C₃)-(C₁)glc, glc(C₆)-(C₁)ara(p), glc(C₆)-(C₁)ara(f) 및 glc(C₆)-(C₁)rha 結合에 대하여 加水分解 酵素類에 의한 分解結果 C₂₀-(C₁)glc은 加水分解가 없었다. 이러한 結果는 C₂₀位置는 3次元 構造에서 立體 障蔽가 클것이 豫想되므로 酵素의 接近이 어려운 것

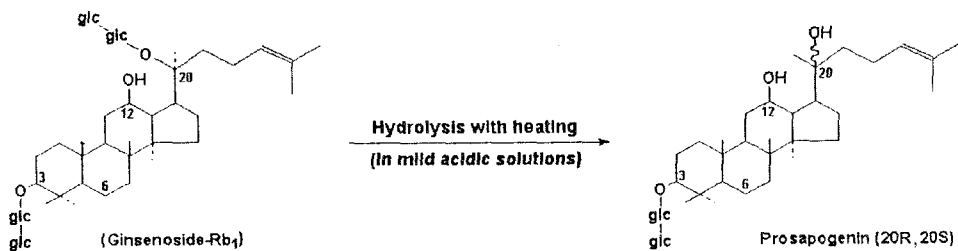


Fig. 1. The hydrolysis properties of glucoside bond on saponin(pH 4.5).

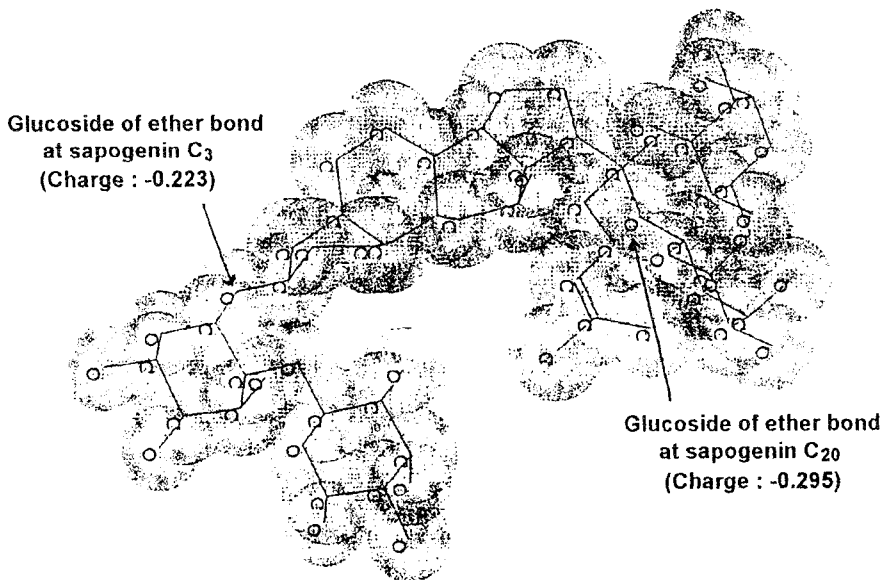


Fig. 2. Three dimensional structure and electron density of the ether bonds at C₃ and C₂₀ of ginsenoside-Rb

Table 3. The comparison of saponin contents in ginseng extract preparations.

Extraction method	Fresh ginseng								White ginseng							
	Major ginsenosides (mg/g) ²⁾								Major ginsenosides (mg/g)							
	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Total	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Total
Water	0.55	0.25	0.08	0.07	0.09	0.07	0.23	1.34	1.78	0.66	0.57	0.51	0.62	0.45	1.82	6.41
Na ₂ CO ₃ added ¹⁾	2.45	0.93	0.87	0.53	1.10	0.27	0.80	6.95	8.00	3.09	2.82	1.71	3.61	0.84	2.56	22.63
NaHCO ₃ added ¹⁾	2.56	2.56	0.96	0.60	1.13	0.27	0.84	8.92	8.54	3.50	3.14	1.96	3.78	0.94	2.84	24.70

¹⁾ Sodium carbonate or sodium bicarbonate were added by the equivalent amount corresponding to the total amount of organic acids in ginseng, and then extracted with water by the same method at 85 ± 2°C for 40 hrs.

²⁾ Major ginsenoside contents were determined by HPLC with LiChrosorb NH₂ column and solvent system of acetonitrile/water/n-butanol (80/20/10, v/v).

이 原因으로 생각된다 (Hughes, 1948 ; Swain & Lupton, 1968).

이러한加水分解反應의選擇性(Fig. 2)은 C₂₀에結合되어 있는 酸素原子(電荷: -0.3)가 C₃에結合되어 있는 酸素原子(電荷: -0.2)보다 電荷密度가 크기 때문에 弱酸性條件에서는 더 빨리 陽性化가 일어날 뿐 아니라, 속도 결정 단계에서 陽性化된 酸素原子가 C₂₀으로부터 離脫된 後 물이 攻擊하여 加水分解가 일어날 경우 中間體로써 生成된 C₂₀의 炭素 陽이온은 3次 炭素 陽이온으로써, 2次 炭素인 C₃ 과 C₆ 炭素에結合된 酸素原子의 加水分解時 中間體로써 얻어질 수 있는 2次 炭素 陽이온보다 安定하므로 C₂₀의 炭素에結合된 酸素의 에테르結合이 C₃ 과 C₆의 에스테르結合보다 加水分解反應이 커진 原因으로 豫想된다. (Jerry, 1977). 이러한 結果로 人蔘중의 有機酸은 열수추출過程중 抽出液의 酸度를 增加시켜 C₂₀ 위치 glucoside의 에테르結合을 分解시키므로 물엑스 製造過程중 사포닌 分解의 주된 要因으로 생각된다. 이러한 酸加水分解 原因을 除去하기 위하여 有機酸 濃도에 해당하는 當量의 炭酸나트륨이나 炭酸水素나트륨을 添加하여 中和後, 가열할 경우에는 抽出液 酸도가 減少되어 Table 3에 나타난 바와 같이 사포닌의 分解가 거의 없이 抽出·濃縮할 수 있었다.

摘 要

人蔘을 熱水抽出方法으로 抽出, 濃縮하여 엑스를 製造할 때 人體에 無害한 炭酸水素나트륨, 炭酸나트륨 등의 弱鹽基를 水蔘과 白蔘內 有機酸 當量比로 添加한 結果, 有機酸(含量: citric acid 4.12, 13.05 mg/g, malonic acid 0.68, 2.18 mg/g, oxalic acid 1.13, 3.68 mg/g, malic acid 2.68, 8.62 mg/g, succinic acid 0.13, 0.46 mg/g)을 中和하여 주된 有效成分인 사포닌의 分解 없이 抽出할 수 있었으며, 갈색화 反應을 促進하여 抽出物의 褐色度를 높일 수 있었다. 이와 같은 加水分解 現狀은 C₂₀ 位置의 加水分解가 主된 要因이었으며, protopanaxadiol과 protopanaxatriol의 C₃과 C₆에結合된 glucoside結合은 電子密度 計算結果 電氣陰性도가^{*)} -0.223으로 낮은 2次 炭素에結合되어 대체로 安定하였으나 C₂₀ 位置의 glucoside結合은 電氣陰性도가 -0.295로 높은 第3次 炭素에結合되어 弱酸溶液 加熱條件에서도 酸加水分解가 容易하였으며, 사포닌의 3番, 6番과 20番 炭素의 酸과 醇素에 의한 加水分解와 차이는 電氣陰性도와 立體障壁에 의한 差異에 의한 것으로 생각되었다.

LITERATURES CITED

Ando, T., Tanaka, O., and Shibata, S. 1971.

*) 電氣陰性度: 원자가 전자를 끌어 당기는 힘의 척도

- Comparative Studies on the Saponin and Sapogenin of Ginseng and Related Crude drugs. *Syoyakugaku Zasshi* 25 (1) : 28-32.
- Brekhman, I. I. and Dardymov, I. V. 1969. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Ann. Rev. Pharmacol.* 9 : 419.
- Court, W. A. and Hendel, J. G. 1978. *J. Chromatogr. Sci.* 16 : 314.
- Hughes, 1948. *Q. Rev., Chem. Soc.* 2 : 107-131.
- Jerry, M. 1977. *Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanism, and Structure.* 2 : 303~304.
- Kasai, R., Besso, H., Tanaka, O., Saruwatari, Y., and Fuwa, T. 1983. *Chem. Pharm. Bull.* 31 : 2120.
- Kim, S. I., Kim, D. S., Lee, Y. H., Park, J. D. and Baek, N. I. 1995. 고려 인삼 으로부터 새로운 담마린계 배당체 Ginsenoside Ph₄의 분리. *Proc. 95 Korean-Japan Ginseng Symp.* pp. 107~116.
- Kitagawa, I. 1984. *Chemical Studies on Crude Drug Processing Red ginseng and White ginseng. Proc. 4th Intern. Ginseng Symp.* 159~168p.
- Matsuura, H. 1985. *Chemical studies on glycosides of Panax ginseng and its related plants*, Hiroshima Univ., ph. D. thesis 130p.
- Park, J. D. 1996. *Recent Studies on the Chemical Constituents of Korean Ginseng (Panax Ginseng C. A. Meyer).* *Korean J. Ginseng Sci.* 20(4) : 389~415.
- Shibata, S., Itokawa, H., Sankawa, U., Shoji, J. and Takido, M. 1982. *Natural products for medicinal use, Nanzando Company* 386~445p.
- Soldati, F. 1980. *Toxicological studies on ginseng. Proc. 3rd Inter. Ginseng Symp.* 119~126p.
- Swain and Lupton. 1968. *J. Am. Chem. Soc.* 90 : 4328.
- Takagi, K. 1974. *Proc. Int. Ginseng Symp.* 119~127p.
- Tanino, Y., Odani, T., Tanizawa, H., Hayashi, T., 1982. *Chem. Pharm. Bull.* 30 : 2196.
- Tanizawa, H., Karikura, M., Miyase, T. and Takino, Y., 1993. *Studies on the Metabolism and/or Decomposition and Distribution of Ginsenoside Rb₂ in Rats. Proc. 6th Intern. Ginseng Symp.* 187~194p.
- 김천석, 최강주, 고성룡, 김석창, 성현순 : 대한민국 특허 출원 1995. 증가된 사포닌 함량을 갖는 인삼 엑기스(추출물)의 제조방법. 출원번호 95-53549.