

## 고려홍삼의 총 페놀성분의 정량 및 그 추출조건

이종원<sup>#</sup> · 도재호 · 이성계 · 양재원

한국인삼연초연구원  
(2000년 5월 8일 접수)

### Determination of Total Phenolic Compounds from Korean Red Ginseng, and Their Extraction Conditions

Jong-Won Lee<sup>#</sup>, Jae-Ho Do, Sung-Kye Lee and Jae-Won Yang  
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea  
(Received May 8, 2000)

**Abstracts :** This study was carried out to investigate the possible determination of total phenolic compounds by Folin-Denis method from *Panax ginseng* C.A. Meyer and their extraction conditions. It was possible to apply the method for determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng. But 3 kinds of amino acids such as tyrosine, cysteine and tryptophan, and 3 kinds of vitamins such as ascorbic acid, pyridoxin HCl and thiamine HCl affected strongly the colorization by the method. Effective alcoholic solvent for the extraction was 60% ethanol, appropriate extraction temperature, time and times were 40~80°C, 1-2 hours and 3 times, respectively.

**Key words :** Phenolic compounds, red ginseng, Folin-Denis methods, extraction condition.

## 서 론

동양에서는 오래 전부터 건강유지, 질병치료 또는 노화방지 목적으로 인삼을 사용하여 왔다.<sup>1)</sup> 노화방지와 관련된 성분 중의 하나는 항산화물질이며, 인삼에는 phenolic acids에 속하는 caffeic acid, ferulic acids, vanillic acid 등이 항산화물질로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 한 등은 마우스에 과량의 에탄올을 투여하면 지질의 과산화이 일어나고 지방간이 생기는 현상을 이용하여 지질과산화에 대한 인삼추출물의 억제활성 실험 결과, 인삼의 총 추출물과 에테르 가용성 산성물질 분획 및 부탄올 가용성 사포닌 분획물은 지질과산화를 강력히 억제한다고 하였으나 순수하게 정제된 사포닌에는 이러한 활성이 나타나지 않는다고 보고하였다.<sup>3,4)</sup> 이들 비사포닌 분획물에 대한 유효성분을 검색한 결과 maltol, salicylic acid와 vanillic acid 등의 페놀성 물질이 항산화 성분임을 밝혔다.<sup>5-8)</sup> Maltol은 수삼에서는 발견되지 않고, 홍삼의 증숙과정 중 열처리에 의해 생성되는 홍삼의 특유성분으로 보고되고 있다.<sup>9)</sup> 수삼과 홍삼

추출물에 대한 항산화능을 조사한 결과, 수삼은 ether 분획에서 항산화 활성이 인정되었고, 홍삼의 경우 효과적인 항산화 물질이 2-methyl-3,3-hydroxypyrrone(maltol)이라고 보고하였다.<sup>10)</sup> 그러나 maltol의 항산화 활성은 p-phenylenediamine, BHA 및 BHT와 같은 항산화제의 약 1/50정도로 낮은 반면에 심근세포에서 adriamycin 유인 세포막 손상 간세포에서 paraquat 유인독성 및 심장에서 재관류 손상과 같은 생체계에서 산소에 의한 손상을 보호해 줄 수 있다고 하였다.<sup>11-12)</sup> 따라서 본 연구에서는 홍삼에 함유되어 있는 총 phenolic 화합물을 비색방법으로 정량할 때 방해물 줄 수 있는 물질을 조사하였으며, 홍삼분말로부터 총 phenolic 화합물의 추출조건 등을 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시약 및 시료

Caffeic acid, amino acids, organic acids, sugars 및 vitamins는 Sigma사 시약을 구입하여 사용하였다. 홍삼분말은 한국인삼공사에서 제조한 홍삼(양삼 30지)을 분쇄(2 mm sieve 통과)하여 사용하였다.

<sup>#</sup> 본 연구에 대한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 042-866-5322; (팩스) 042-862-2522  
(E-mail) jwlee@gtr.kgtri.re.kr

**2. 비색방법에 의한 phenolic 화합물의 정량<sup>13)</sup>**

홍삼분말을 대상으로 하여 phenolic 화합물을 비색정량하고자 Folin-Denis방법을 일부 변경하여 사용하였다. 홍삼분말 약 0.5 g에 추출용매를 25 ml를 가하여 80°C에서 1시간 추출한 뒤 여과하고 5배 희석하여 분석용 시료로 사용하였다. 시료 1 ml와 folin 시약 1 ml를 혼합하여 실온에서 3분간 정치한 뒤 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1 ml를 가하여 혼합하여 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**3. 홍삼분말로부터 phenolic 화합물의 추출조건**

홍삼분말로부터 phenolic 화합물을 추출하기 위한 최적 조건을 조사하기 위하여, 홍삼분말 5 g에 0~100%의 에탄올을 50 ml를 가하여 냉각관을 부착한 뒤 40~80°C에서 0~8시간 그리고 추출횟수는 1~5회까지 phenolic 화합물을 추출하여 그 양을 조사하였다.

**결과 및 고찰**

**1. Folin-Denis 방법에 의한 정량에 방해물 줄 수 있는 물질 조사**

**(1) 아미노산류**

Folin-Denis방법에 의해 phenolic 화합물의 양을 측정할 때 아미노산이 본 발색법에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 21종의 아미노산 중에서 tyrosine, cysteine, tryptophan 등이 강하게 영향을 미쳤으며, 그 외 아미노산은 크게 영향을 미치지 않았다. 일반적으로 인삼에 함유되어 있는 유리 아미노산의 총량은 약 4%이며 그 중에서 가장 많이 함유되어 있는 arginine은 약 2.5%, 그외 아미노산은 0.04~0.4% 정도가 함유되어 있다.<sup>14)</sup> 본 발색법에 가장 영향을 끼치는 tyrosine은 0.018%, cysteine은 0.04%가 함유되어 있는데 실제로 분석할 때에는 이러한 양은 별 문제가 되지 않

**Table 1.** Effect of various amino acids on the determination of phenolic compounds by Folin-Denis method

Amino acids <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm	Amino acids <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm
Distilled water	0.022	Isoleucine	0.024
Alanine	0.021	Leucine	0.025
Arginine	0.021	Lysine	0.024
Asparagine	0.030	Methionine	0.024
Aspartic acid	0.024	Phenylalanine	0.024
Cysteine	1.141	Proline	0.026
Glutamic acid	0.023	Serine	0.026
Glutamine	0.024	Threonine	0.026
Glycine	0.025	Tryptophan	0.825
Histidine	0.024	Tyrosine	1.576
Hydroxy-proline	0.022	Valine	0.026

<sup>1)</sup> The concentration of each amino acid solution was 100 µg/ml.

**Table 2.** Effect of organic acids on the determination of phenolic compounds by Folin-Denis method

Organic acids <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm	Organic acids <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm
Distilled water	0.010	Succinic	0.013
Citric	0.012	Oxalic	0.017
Fumaric	0.013	α-Ketoglutaric	0.014
DL-Malic	0.011	Formic	0.010
Tartaric	0.015	Lactic	0.010

<sup>1)</sup> The concentration of each organic acid solution was 100 µg/ml.

는다고 판단된다. 그러나 tyrosine, tryptophan 및 cysteine 등이 특이적으로 많이 함유된 생약재 등은 아미노산을 제거한 후 측정해야 된다고 생각된다.

**(2) 유기산류**

여러 가지 유기산류가 본 발색법에 영향을 미치는가를 조사하기 위하여 citric acid를 포함한 9종의 유기산을 대상으로 조사한 결과는 Table 2와 같이 유기산류는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 인삼에는 citric acid가 0.43%, malic acid가 0.24%, malonic acid가 0.19%, oxalic acid가 0.19% 그리고 succinic acid는 0.012%가 함유되어 있다고 보고되어 있는데<sup>15)</sup> 분자 구조상 이러한 유기산들은 folin 시약과 거의 반응을 하지 않는다고 판단된다.

**(3) 당류**

Soluble starch를 포함한 20종의 당류가 phenolic 화합물의 정량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3과 같이 거의 모든 당류는 발색에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 홍삼에 가장 많이 함유되어 있는 유리당인 maltose가 8.70%, sucrose가 5.57% 정도 함유되어 있으며, 그외의 당들은 약 0.3~0.5% 정도 함유되어 있는데<sup>16)</sup> 고분자당류 또는 저분자당류 역시 분자 구조상 folin 시약과는 반응을 하지 않는다고 판단된다.

**(4) 비타민류**

**Table 3.** Effect of sugars on the determination of phenolic compounds by Folin-Denis method

Sugars <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm	Sugars <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm
Distilled water	0.007	Sucrose	0.014
Soluble starch	0.017	Rhamnose	0.021
CMC-Na	0.018	Fructose	0.025
Maltotetraose	0.020	Lactose	0.022
Maltotriose	0.012	Ribose	0.029
Maltose	0.017	Mannose	0.024
Isomaltotriose	0.057	Arabinose	0.016
Isomaltose	0.011	Xylose	0.019
β-Gentiobiose	0.022	Galactose	0.017
D(+)-Melezitose	0.014	Glucose	0.027
Cellobiose	0.006		

<sup>1)</sup> The concentration of each sugar solution was 100 µg/ml.

**Table 4.** Effect of vitamins on the determination of phenolic compounds by Folin-Denis method

Vitamines <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm	Vitamines <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm
Distilled water	0.009	PyridoxineHCl	0.744
DL-6,8-Thiotic acid	0.136	Niacinamide	0.011
Pyridoxal · HCl	0.196	ThiamineHCl	0.375
Vitamine B <sub>12</sub>	0.012	Nicotinic acid	0.009
d-Biotin	0.011	DL- $\alpha$ -Tocopherol	0.455
Folic acid	0.138	Vitamine A palmitate	0.011
D-Pantothenic acid	0.010	Vitamine D <sub>3</sub>	0.025
Riboflavin	0.071	L-Ascorbic acid	2.203

<sup>1)</sup> The concentration of each vitamine solution was 100  $\mu$ g/ml.

여러 가지 비타민이 phenolic 화합물 정량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 4와 같다. 15종의 비타민 중에서 vitamin B<sub>12</sub>, d-biotin, D-pantothenic acid, niacinamide, nicotinic acid, vitamine A palmitate, vitamine D<sub>3</sub> 등을 제외한 비타민은 발색에 영향을 미쳤다. 홍삼에 함유되어 있는 비타민의 양은 thiamine이 0.50 mg/100 g, riboflavine이 0.61 mg/100 g, niacin이 1.2 mg/100 g 그리고 비타민 C는 5 mg/100 g 정도 함유되어 있으며, 비타민 A 그룹(비타민 A, retinol,  $\beta$ -carotene)은 거의 함유되어 있지 않다.<sup>17)</sup> 홍삼에 함유되어 있는 비타민의 양을 고려하면 분석에는 별 문제가 되지 않는다고 판단된다.

### (5) 사포닌류

Folin-Denis법에 의해 phenolic 화합물의 양을 측정할 때 사포닌이 본 발색법에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 5와 같이 10종의 ginsenosides는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다. 인삼에는 4.8~6.5% 정도의 사포닌이 함유되어 있으며 가장 많이 함유되어 있는 ginsenoside-Rb<sub>1</sub>, -Rg<sub>1</sub>이 약 0.6% 정도이며 나머지는 0.1~0.2% 정도가 함유되어 있다.<sup>16,18)</sup> 사포닌류 역시 folin 시약과는 반응하지 않는 물질이라고 판단된다.

## 2. 홍삼으로부터 총 phenolic 화합물의 추출조건 조사

### (1) Ethanol 농도별 추출물 조사

**Table 5.** Effect of ginsenosides on the determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng by Folin-Denis method

Ginsenosides <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm	Ginsenosides <sup>1)</sup>	Absorbance at 700 nm
Rg <sub>3</sub>	0.013	Rc	0.027
Rg <sub>2</sub>	0.012	Rb <sub>2</sub>	0.015
Rg <sub>1</sub>	0.011	Rb <sub>1</sub>	0.013
Rf	0.015	Ro	0.011
Re	0.011	Distilled water	0.011
Rd	0.027		

<sup>1)</sup> The concentration of each ginsenosides solution was 100  $\mu$ g/ml.

**Table 6.** Effect of ethanol concentration on the extraction efficacy of total phenolic compounds from Korean red ginseng powder

Ethanol concentration (%)	Absorbance (700 nm)	Relative extraction efficacy (%)
0	0.434	71.2
10	0.434	71.2
20	0.445	73.9
30	0.444	73.8
40	0.502	83.4
50	0.551	91.5
60	0.602	100.0
70	0.510	84.7
80	0.418	69.5
90	0.260	43.1
100	0.078	13.0

Ethanol의 농도가 홍삼에 함유되어 있는 phenolic 화합물의 추출에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 60% ethanol까지는 알코올의 농도가 증가할수록 추출율이 증가하였으며 80% 이상의 알코올로 추출했을 때에는 그 효율이 급격히 감소되었고, 100% ethanol 추출구는 60% ethanol 추출구에 비하여 13% 정도가 추출되었다.

### (2) 여러 가지 추출조건이 phenolic 화합물의 추출율에 미치는 영향

추출온도가 phenolic 화합물의 추출율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 홍삼분말에 60% ethanol 용액을 가하여 40~80°C에서 1시간 동안 추출한 뒤 phenolic 화합물의 양을

**Table 7.** Effect of extraction temperature on the extraction efficacy of total phenolic compounds from Korean red ginseng powder

Temperature (°C)	Absorbance (700 nm)	Relative extraction efficacy (%)
40	0.434	98.8
50	0.397	97.3
60	0.407	99.8
70	0.396	97.3
80	0.408	100.0

-Extraction solvent : 60% ethanol

**Table 8.** Effect of extraction time on the extraction efficacy of total phenolic compounds from Korean red ginseng powder

Extraction time (hrs)	Absorbance (700 nm)	Relative extraction efficacy (%)
0	0	0
0.25	0.398	83.0
0.5	0.400	83.5
1.0	0.402	83.9
2.0	0.410	85.6
4.0	0.444	92.6
6.0	0.449	93.7
8.0	0.479	100.0

-Extraction solvent : 60% ethanol

-Extraction temperature : 80°C

**Table 9.** Effect of extraction times on the extraction efficacy of total phenolic compounds from Korean red ginseng powder

Extraction times	Amount (%) (as caffeic acid)	Relative extraction efficacy (%)
1	0.432	78.4
2	0.125	11.8
3	0.033	5.9
4	0.008	2.9
5	0.002	1.0

비교한 결과는 Table 7과 같다. 추출온도에 따른 phenolic 화합물의 추출율은 97~100%로 나타나 추출 온도는 거의 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 그리고 80°C에서 0~8시간 동안 추출하여 phenolic 화합물의 양을 비교한 결과는 Table 8과 같이 8시간 추출할 경우의 phenolic 화합물 양을 100%로 나타냈을 때 15분 추출했을 때 83%, 2시간 추출했을 때 84%로 나타났으며, 추출시간이 길수록 약간씩 증가하는 경향이였다. 따라서 분석에 소요되는 시간, 경제적인 면 등을 고려하면 phenolic 화합물 추출을 위한 추출시간은 80°C에서 1~2시간이 적당하다고 판단된다. 한편, 추출횟수에 따른 phenolic 화합물 양을 조사한 결과는 Table 9와 같다. 80°C에서 1시간씩 5회까지 추출했을 때, 1회에는 78.4% 정도가 추출되었으며, 2회에는 11.8%, 3회에는 5.9%, 4회에는 2.9%, 그리고 5회에는 1.0%가 추출되었다. 3회 추출구까지 약 96% 정도가 추출되었기 때문에 홍삼분말로부터 phenolic 화합물을 추출하려면 3회 정도가 적당하다고 판단된다.

## 요 약

본 연구에서는 홍삼에 함유되어 있는 총 phenolic 화합물을 정량하기 위하여 Folin-Denis 방법을 사용하였으며, 이 때 정량에 방해될 수 있는 물질에 대해서 조사하였고 홍삼분말로부터 phenolic 화합물 추출조건을 조사하였다. 아미노산 중에서는 tyrosine, cystein 및 tryptophan이 영향을 미쳤고, 여러 가지 유기산, 당류 및 ginsenosides는 거의 영향을 미치지 않았다. 비타민 중에서는 vitamin B<sub>12</sub>, d-biotin, D-pantothenic acid, niacinamide, nicotinic acid, vitamine A palmitate, vitamine D<sub>3</sub> 등을 제외한 비타민은 발색에 영향

을 미쳤다. 홍삼으로부터 phenolic 화합물을 추출하기 위한 추출조건은 60% ethanol을 사용해서 80°C에서 1~2시간씩 3회 정도 추출이 적당하다고 판단된다.

## 인용문헌

- Liu, C. H. and Xiao, P. G. : *J. Ethnopharmacology* **36**, 27 (1992).
- 위재준 : 서울대학교 박사학위 논문 (1989).
- Han, B. H., Han, Y. N. and Suh, D. Y. : *J. Ginseng Sci.* **16**(3), 228 (1992).
- Han, B. H., Han, Y. N. and Park, M. H. : *Advances in Chinese Medicinal Materials Research*, World Scientific Co., Philadelphia, 485-498 (1985).
- Han, B. H., Park, M. H., Han, Y. N. and Woo, L. K. : *Arch. Pharm. Res.* **9**, 21 (1986).
- Han, B. H., Park, M. H., Woo, L. K., Woo, W. S. and Han, Y. N. : *Korean Biochem. J.* **12**, 33 (1979).
- Han, B. H. : *Proc. 2nd Int'l Ginseng Sym.* Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea, p. 13-17 (1978).
- Han, B. H. and Huh, B. H. : *Korean J. Ginseng Sci.* **15**, 117 (1991).
- Matsuura, H. : *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 4674 (1984).
- Han, B. H., Park, M. H., and Han, Y. N. : *Arch. Pharm. Res.* **4**, 53 (1981).
- Shim, S. C., Koh, H. Y. and Han, B. H. : *Bulletin of Korean Chemical Society* **4**, 183 (1983).
- Shin, J. G., Park, J. W., Pyo, J. K., Kim, M. S. and Chung, M. H. : *Korean J. Ginseng Sci.* **14**, 187 (1990).
- Nakabayashi, T. : *Japan J. Food Tech. Sci.* **15**, 73 (1968).
- Lee, M. K. and Park, H. : *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 32 (1987).
- Kwak, Y. S., Choi, K. J. and Kim, N. M. : *J. Fd Hyg. Safety*, **11**, 51 (1996).
- 고성룡 : 전북대학교 박사학위 논문집 (1994).
- 농촌진흥청 농촌생활연구소 : 식품성분표, 제5 개정판, 354-355, 상록사 (1996).
- Kim, M. W., Ko, S. R., Choi, K. J. and Kim, S. C. : *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 10 (1987).