韓資植誌 19(1) : 133~138(2006)
Korean J. Plant Res.

고려인삼(*Panax ginseng* C.A.Meyer)의 간이법에 의한 홍삼제조 및 사포닌 성분분석

인준교, 김은정, 이범수, 박명한, 양덕춘[1]*
(주)바이오피아 생명공학연구소, [1]경희대학교 한방재료가공학과

Saponin Analysis and Red Ginseng Production using the Simplified Method of Korean Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

Jun-Gyo In, Eun-Jeong Kim, Bum-Soo Lee, Myung-Han Park and Deok-Chun Yang[1]*
Research Institute of Biotechnology, BioPia Co., Ltd, Yongin 449-598, Korea
[1]Dept. of Oriental Medicine Material and processing, Kyung Hee Univ., Suwon 449-701, Korea

Abstract - In order to enhance the components of bioactive ginsenosides and the manufacturing process of red ginseng, we developed the simplified method for red ginseng production. The red ginseng extract was prepared from red ginseng produced with the simplified method, and the production rate of extract (62° brix) was more than 60%. The ginsenosides of red ginseng were purified and analyzed by HPLC using ELSD. Ginsenoside-Rg3, Rh2 and Rh1, specific artifacts found only in red ginseng, were detected by HPLC. Especially, contents of ginsenoside-Rg3 and Rh1 were detected high than two times in red ginseng produced the simplified method compared to commercial products.

Key words - HPLC, Red ginseng, Saponin, Simplified method, *Panax ginseng*

서 론

고려인삼(Panax ginseng C.A. meyer)은 보통 4-6년간 재배하는데, 채굴된 자연 상태의 인삼인 수삼은 약 75%의 수분을 함유하고 있다(목 등, 1996). 인삼은 본포에서 채취하여 세척한 후 수삼의 상태로 출하되거나 장기 저장이 가능하도록 건조시켜 유통되기도 한다. 그러나 대부분은 증숙을 거쳐 홍삼(red ginseng)으로 가공하거나 표피를 벗겨낸 후 건조시킨 백삼(white ginseng)의 형태로 가공하여 유통되고 있다.

인삼은 전분 등의 탄수화물이 60-70% 차지하고 있으며, 인삼의 주요 약리 성분인 인삼사포닌(ginsenoside)이 다량으로 들어있다. 사포닌 성분은 주로 식물에 광범위하게 분포되어 있는데, 인삼에 함유되어 있는 것은 triterpenoid계의 담마란(dammarane)계 사포닌으로서 인삼(Panax)속 식물에만 특이적으로 존재한다(Shibata et al., 1966). 이외에도 polyacetylene, 방향족 화합물, 산성펩타이드(acidic peptide) 등의 성분을 함유하고 있다(남, 1996).

* 교신저자(E-mail) : dcyang@khu.ac.kr

현대 의학적으로 밝혀진 인삼의 약리 · 효능은 뇌기능항진 효능(Sato *et al.*, 1980), 항발암작용과 항암활성(Kumar, 1993), 면역기능 조절작용 (Kenarova *et al.*, 1990; Singh *et al.*, 1984), 항당뇨작용(Okuda and Lee, 1990; Zhang *et al.*, 1990), 간기능 항진효능(Joo, 1990; Song *et al.*, 1990), 혈압조절기능(Kang *et al.*, 1995), 항산화활성 및 노화억제(Chung *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1994) 효능 등이 보고되었다. 이처럼 과학적으로 인삼의 효능이 밝혀지면서 전 세계적으로 인삼의 소비가 증가하고 있으며, 여전히 중요한 농가의 수입원으로 자리잡고 있다.

인삼은 산출지역, 재배기간, 수확시기, 가공공정에 따라 특이성분의 함유량이나 작용범위 등에 차이를 보이는데, 특히 대표적으로 시중에서 유통되고 있는 백삼과 홍삼의 경우 가공공정에 따라 성분에 변화가 발생한다. 지금까지 밝혀진 인삼의 약효 중 대부분이 백삼보다는 쪄서 익혀 건조한 홍삼이 더 효과적인 것으로 알려져 있다(Jung *et al.*, 2000; Nam, 2005). 홍삼에는 백삼에 없는 새로운 사포닌을 함유하고 있으며, 폴리아세틸렌, 페놀성 성분 등의 비극성 성분의 함량이 백삼에 비해 높게 존재한다는 것이 밝혀졌다

(Kitagawa, 1987, 1992; Li, 1992). 백삼과 홍삼의 효능 차이는 바로 이러한 홍삼에 미량 함유되어있는 특이성분의 차이에서 오는 것으로 여겨진다.

따라서 본 연구에서는 백삼보다 우수한 약리효과를 나타내는 홍삼을 보다 간편하고 신속하게 제조하고 이로부터 홍삼엑스를 제조하여 제품개발에 사용하고자 홍삼제조를 위한 간이법 개발과 사포닌 성분분석을 통한 표준화 가능성에 대한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

홍삼의 제조

경기도 안성 농협으로부터 4년근 수삼을 구입하여 흐르는 수돗물로 깨끗이 수세한 후 30분간 방치하여 물기를 제거하였다. 홍삼제조를 위한 열처리는 autoclave를 사용하여 96-98℃에서 3시간 정도 수증기로 증삼하였고, 열풍건조기를 이용하여 75℃에서 20 시간 1차 건조한 후 65℃에서 10 시간 동안 2차 건조를 실시하여 홍삼을 제조하였다.

홍삼 엑스(extract) 제조

홍삼 동체와 홍미삼을 각각 분리 또는 관행적인 홍삼 엑기스 추출물 비율(미삼 70%, 주근 30%)에 따라서 10배액의 물을 넣고 80-85℃에서 3시간씩 3차에 걸쳐서 물추출을 실시하였다. 추출물은 혼합한 후 진공 · 농축기를 사용하여 brix 60이상으로 농축한 후 4℃ 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

비교분석을 위한 홍삼엑스 재료

홍삼의 사포닌 성분비교와 함량분석을 하기위해서 시중에 유통되고 있는 대표적인 4개사의 홍삼 엑스(brix 60이상) 제품을 각각 구입하여 4℃ 냉장고에 보관하여 사용하였다.

사포닌의 분리 및 정량

시중에 유통되고 있는 홍삼 엑스와 간이법으로 제조된 홍삼으로부터 추출한 엑스로부터 ginsenosides의 함량분석을 하기 위해서 일정량씩 취하여 Ando 등(1971)의 방법에 준한 수포화 n-butanol 추출법으로 시료를 준비하였다. 각각의 홍삼엑스 5g을 취한 후 감압 · 농축하여 수분을 제거하고 에테르로 추출하여 탈지시킨 후 수포화 n-butanol로 3회 추출하였다. 이들을 모두 합하여 증류수로 1회 세척한 후 수층은 버리고 n-butanol층만 rotavapor(Büchi, Germany)를 이용하여 감압 · 농축시킨 후 HPLC용 메탄올 500ul에 용해한 후 0.45um millipore syringe filter(Satorius, Germany)로 여과하여 냉장고에 보관하였다. 정제된 시료들은 10ul를 HPLC(Waters)기에 주입하여 ELSD detector를 사용하여 ginsenosides를 분리 · 정량하였다. 사포닌 화합물의 확인 및 정량은 KT&G에서 분양받은 11종의 ginsenosides 표준품(Rg1, Rf, Re, Rd, Rc, Rb_2, Rb_1, Rg_2, Rg_3, Rh_1, Rh_2)을 사용하였다. Chromatogram의 각 peak는 표준품 사포닌의 chromatography에 의하여 동정하였고, 각 ginsenosides의 함량은 표준품과 peak 높이를 비교하여 계산 · 정량하였다.

결과 및 고찰

홍삼은 예로부터 인삼의 부패를 방지하거나 장기보존을 위한 목적으로 제조된 것으로 그 과정이 복잡하고 시간이 오래 걸린다. 본 연구에서는 홍삼 제조시의 방법을 단순화하면서 효율적으로 유효성분을 증대시키기 위해서 4년근 수삼을 구입하여 깨끗이 수세한 후 96-98℃ 3시간 정도 수증기로 증삼한 후 30시간 정도의 열풍 건조를 통하여 비교적 단시간에 홍삼제조를 위한 간이법을 개발하였다. 제조한 홍삼 동체와 홍미삼을 관행적인 홍삼 엑기스 추출물 비율(미삼 70%, 주근 30%)로 하여 홍삼엑스(60° brix 이상)를 제조하였으며 홍삼엑스의 추출수율은 60% 이상이었다. 추출한 홍삼엑스로부터 관행적인 방법으로 사포닌을 분리하였으며, HPLC용 메탄올에 용해한 후 멤브레인 필터(0.45 um)로 여과한 후 HPLC 분석하여 ginsenoside 함량을 분석하였다(Fig. 1).

기능성제품을 생산하는데 있어서 유효성분 함량이 일정한 원료를 사용하여야 하는데 특히 기능성 제품의 원료로서 사용되기 위해서는 지표물질의 분석이 재현성있게 검출되어야 한다. 홍삼사포닌의 발기부전에 미치는 작용은 수년간 임상시험을 실시하여 홍삼이 발기부전에 유효하다고 결과가 제시되었는데(Choi *et al.*, 1999), 혈관이완효과가 있는 ginsenoside-Rg3를 지표물질로서 사용할 경우 미량으로 존재하는 성분이기 때문에 기존의 UV나 RI detector로는 재현성있는 분석결과를 얻는데 많은 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서는 미량의 시료분석에도 효과적인 ELSD (Evaporativie Light Scattering Detector)를 도입하여 인삼 사포닌 성분을 분석한 결과 기존의 UV나 RI 분석법보다 매우 재현성 있고 향상된 결과를 얻을 수 있었다.

ELSD를 이용한 인삼 사포닌의 분석 조건을 확립하기 위해서 KT&G 중앙연구원으로부터 11종의 인삼 표준품을 분양받아 최적 분석조건을 확립한 후 홍삼가공추출물로부터 정제된 인삼 사포닌을 분석을 반복 실시하여 사포닌 분석을 실시한 결과 재현성있는 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 2).

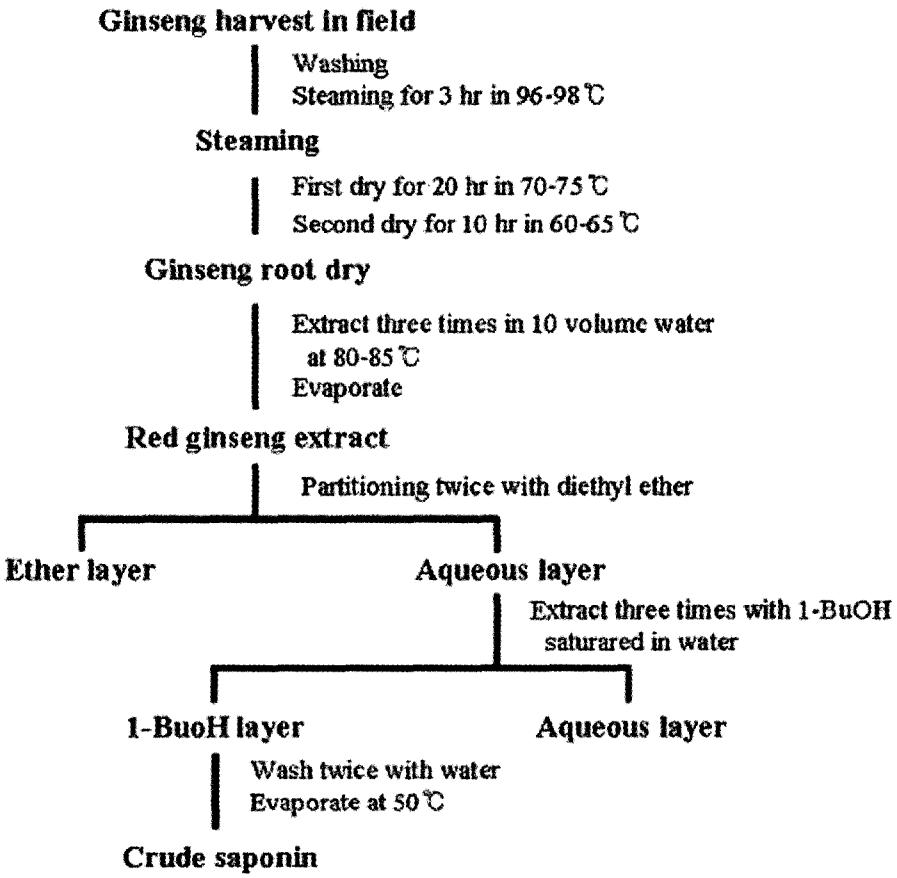

Fig 1. Procedure of the red ginseng production using the simplified method and the extraction of saponin in ginseng extract.

본 연구에서는 우선 시중에 유통되고 있는 홍삼엑스의 현황을 파악하기 위해서 대표적인 4개 회사의 홍삼액스를 구입한 후 이들로부터 총 사포닌(total saponin)을 추출 · 정제한 후 ELSD를 사용하여 HPLC 분석을 실시하였다. 그 결과 총 사포닌은 적게는 6 mg에서 많게는 42 mg 정도로 검출되어 제조사에 따라서 총 사포닌의 함량에 큰 차이가 있는 것으로 조사되었다(Table 1). 따라서 이들 홍삼엑스원료를 구매하여 홍삼제품을 개발할 경우 개발사에 따라서 효능에 큰 차이를 나타낼 수 있는 위험이 있다.

홍삼제품의 품질을 균일하게 유지하기 위해서는 표준화(standardization)된 원료를 사용하는 것이 필수적이다. 따라서 좋은 제품을 개발하기 위해서는 원료의 표준화와 규격화가 우선적으로 확립되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 직접 안성 농협으로부터 수삼을 구입한 후 홍삼 및 백삼을 제조하여 실험에 사용하였다. 홍삼은 여러 번의 증숙과 건조 등의 가공공정을 거쳐 제조되는데 기존의 방법은 시간이 많이 소요되는 단점이 있다. 본 연구에서는 홍삼 제조시의 방법을 단순화하면서 효율적으로 유효성분을 증대시키기 위해서 4년근 수삼을 구입하여 수돗물로 깨끗이 수세한 후 96-98℃ 3시간 정도 수증기로 증삼한 후 30시간 정도의 열풍건조를 통하여 비교적 단시간에 홍삼을 제조하였다(Fig. 1). 제조된 홍삼은 연한 붉은 색을 나타내었으며, 외관상으로는 기존의 홍삼과 큰 차이를 보이지 않았다.

제조한 홍삼 동체와 홍미삼을 각각 분리 또는 관행적인 홍삼 엑기스 추출물 비율(미삼 70%, 주근 30%)로 나눈 후 10배액의 증류수를 넣고 80-85℃에서 3시간씩 3차에 걸쳐서 물로 추출한 후 감압농축을 하여 홍삼엑스(60° brix 이상)를 제조하였다. 그 결과 홍삼엑스의 추출수율은 60% 이상이었다. 간이법으로 제조한 홍삼을 재료로 하여 농축한 홍삼엑스이 사포닌 함량을 조사하기 위해서 HPLC를 이용하여 총 사포닌(total saponin)을 분석하였다. 그 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 총 사포닌 함량은 시중에 유통되고 있는 홍삼엑스 중 가장 높은 사포닌 함량을 나타낸 H사와 거의 동등한 사포닌 함량이 검출되었다.

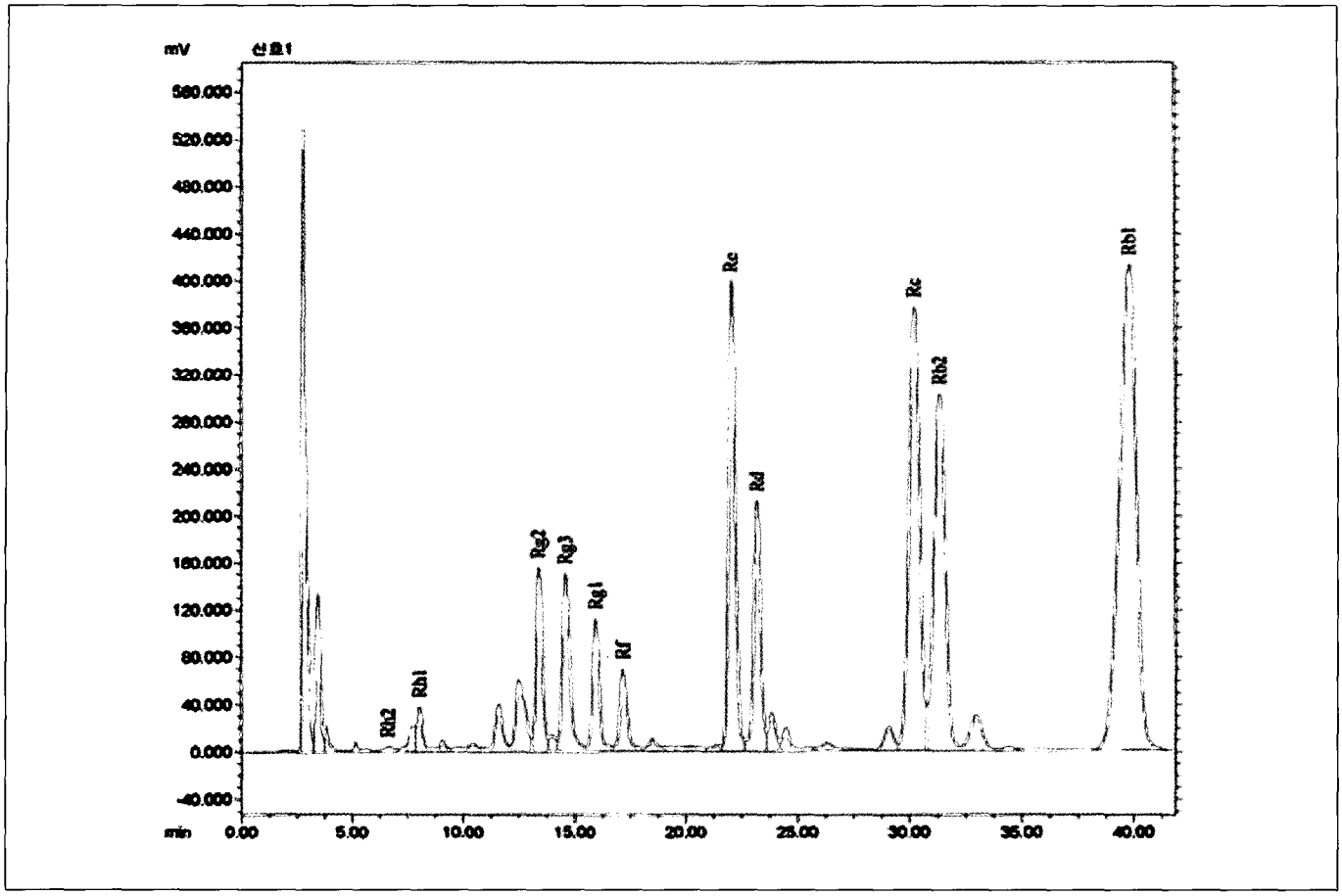

Fig. 2. HPLC chromatogram for 11 standard ginsenosides using ELSD detector.

Table 1. Total saponin contents of red ginseng extracts sold in market.

Manufacturing company	Ginsenoside content (mg/Ex/gr)									
	Rg2	Rg1	Rg3	Rf	Re	Rd	Rc	Rb2	Rb1	total
K	0.82	1.71	0.81	0.67	1.47	0.86	1.33	1.27	2.87	11.81
H	3.19	1.71	1.61	2.36	6.56	5.47	9.26	9.93	8.75	48.84
G	1.49	1.25	0.35	0.29	1.07	0.44	0.33	0.33	0.63	6.18
P	1.37	1.70	1.08	0.87	3.03	2.38	3.12	2.29	4.39	20.23

Table 2. Total saponin content from the extract of red ginseng produced by the simplified method.

Manufacturing company	Ginsenoside content (mg/Ex/gr)											
	Rh2	Rh1	Rg2	Rg1	Rg3	Rf	Re	Rd	Rc	Rb2	Rb1	total
H	0.24	0.81	3.19	1.71	1.61	2.36	6.56	5.47	9.26	9.93	8.75	49.89
Red ginseng *	0.39	2.50	3.96	2.92	3.30	3.23	5.25	4.01	8.23	7.23	7.91	48.93

* Red ginseng : Extract produced in this study.

따라서 본 실험을 통하여 간이법에 의해서 제조된 홍삼의 경우 사포닌 함량에서는 큰 차이를 나타내지 않았지만, PD계 사포닌 중 암세포전이억제효과와 평활근이완작용이 탁월한 ginsenoside-Rg3에는 H사에 비하여 2배 이상 검출되었으며, 간상해 억제작용과 혈소판 응집억제작용이 있는 것으로 알려진 ginsenoside-Rh1종의 경우 3배 이상 검출이 되었다. 그러므로 본 연구를 통하여 개발된 홍삼제조 간이법을 활용하면 효율적으로 홍삼엑스를 제조할 수 있으며, 또한 미량으로 존재하는 생리활성물질의 함량이 높게 나타나므로, 홍삼제품개발시 항암 또는 치료단계에 있는 환자들을 위한 특화제품을 생산하는데 기여할 것이다.

적 요

홍삼 제조공정을 단순화하면서 효율적으로 유효성분을 증대시키기 위해서 4년근 수삼을 구입하여 깨끗이 수세한 후 96-98℃에 3시간 정도 수증기로 증삼한 후 30시간 정도 열풍건조하여 홍삼제조를 위한 간이법을 개발하였다. 제조한 홍삼으로부터 홍삼엑스(60° brix 이상)를 제조하였으며 홍삼엑스의 추출수율은 60% 이상이었다. 간이법으로 제조한 홍삼을 재료로 하여 농축한 홍삼엑스의 사포닌 함량을 조사하기 위해서 HPLC를 이용하여 총 사포닌(total saponin)을 분석하였다. 그 결과 PD계 사포닌 중 암세포전이억제효과와 평활근이완작용이 탁월한 ginsenoside-Rg3에는 H사에 비하여 2배 이상 검출되었으며, 간상해 억제작용과 혈소판 응집억제작용이 있는 것으로 알려진 ginsenoside-Rh1종의 경우 3배 이상 검출이 되었다.

사 사

본 연구는 농림기술개발과제(ARPC)의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 대해 심심한 감사를 표하는 바이다.

인용문헌

Ando, T., O. Tanaka and S. Shibata. 1971. Comparative studies on the saponins and sapogenins of ginseng and related crude drugs. Syoyakugaku Zasshi. 25: 28-32.

Choi, H.K., Y.D. Choi, P. Ganesan Adaikan and Y. Jiang. 1999. Effectiveness of Korea red ginseng in erectile dysfunction-multinational approach. J. Ginseng Res. 23: 247-256.

Chung, Y.H., K.W. Kim and H. Oura. 1993. Effects of ginsenoside Rb2 on the anti-oxidants in senescence-accelerated mice (SAM-R/1). Proceeding of the 6th Int'l Symposium Korea Ginseng & Tobacco Research Institute. pp. 30-32.

Joo, C.N. 1990. Some physiological and biochemical aspects of saponin fraction of Panax ginseng C.A. Meyer. Korean. J. Ginseng. Sci. 14: 143-156.

Jung, N.P., S.O. Song and S.U. Choi. 2000. Cytotoxicity of white and red ginseng against cancer cells and their effects on the cell cycle. J. Ginseng Res. 24: 183-187.

Kang, S.Y., S.H. Kim, V.B. Schini and N.D. Kim. 1995. Dietary ginsenosides endothelium dependent relaxation in the thoracic arorta of hypercholesterolemic rabbit. Gen. Pharmac. 26: 83-487.

Kenarova, B., H. Neychev, C. Hadjiivanova and V.D. Petkov. 1990. Immunomodulating activity of ginsenosides Rg1 from Panax ginseng. Japan J. Pharmacol. 54: 447-454.

Kitagawa, I. 1987. Chemical studies on the crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (II): comparison of the constituents of white and red ginseng prepared form the same Panax ginseng root. Yakugaku Zassi 107: 495-505.

Kitagawa, I. 1992. Chemical investigation of naturally occurring drug materials. Elucidation of scientific basis for traditional medicines and exploitation of new naturally occurring drugs. Yakugaku Zassi 112: 1-41.

Kumar, A. 1993. Chemopreventive action of ginseng on DMBA-induced papilloma genesis in the skin of mice. Proc 6th Int'l Ginseng Symp Korea Ginseng Tobacco Research Institute. pp. 66-73.

Li, X.G. 1992. Studies on the transforming mechanism of amino acid components in ginseng in the course of ginseng processing. Korean J. Ginseng Sci. 16: 64-67.

Nam, K.Y. 2005. The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs processed ginsengs (*Panax ginseng* C.A. Meyer). J. Ginseng Res. 29: 1-18.

Okuda, H. and S.D. Lee. 1990. Biological activities of non-saponin sompounds isolated from Korean red ginseng. Proc Int'l Symp on Korean ginseng, The Socoety for Korean Ginseng, Seoul, Korea. pp. 15-19.

Sato, T., S. Kojima, S. Toda and S. Arich. 1980. Effects of ginseng saponin on experimental gastric ulcer (1). Yakuyouyakurizzashi 20(4): 715-722.

Shibata, S., T. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima and T. Ohsawa. 1966. Chemical studies on oriental plant drugs (XIV). Protopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng saponin. Chem. Pharm. Bull. 14: 595-600.

Singh, V.K., S.S. Agarwal and B.M. Gupta. 1984. Immunomodulatory

activity of Panax ginseng extract. Proc 4th Int'l Ginseng Symp, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute. pp. 225-232.

Song, J.H., M.J. Park, E. Kim and Y.C. Kim. 1990. Effects of *Panax ginseng* on galactosamine-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Yakhak Hoeji 34: 341-347.

Wang, X.M., Y. Qi, C.W. Sun, G.G. Zhong, Y. Jiang and Y.H. Qiu. 1994. Single calcium channel analysis and electron spin resonance (ESR) spextral study on the myocardial effects of ginsenoside Rb2. Chung Guo Yao Tsa Chih 19: 621-624.

Zhang, J.T., Z.W. Qu, Y. Liu and H.L. Deng. 1990. Preliminary study on antiamnestic mechanism of ginsenoside Rg1 and Rb1. Clin Med J 103: 932-938.

남기열. 1996. 최신고려인삼(성분 및 효능편). 한국인삼연초연구원, 천일인쇄사, 대전. pp. 13-43.

목성균, 이일호, 천성기. 1996. 최신고려인삼(재배편). 한국인삼연초연구원, 천일인쇄사, 대전. pp. 130-196.

(접수일 2005. 9. 30 ; 수락일 2006. 2. 2)