

홍삼박을 이용한 다당체 추출조건 최적화

탁근만¹ · 조경래¹ · 박근형^{1,2} · 손석민^{1,2} · 채희정^{1,2,*}

¹호서대학교 식품생물공학과, ²내추럴초이스(주)

(2009년 10월 13일 접수; 2009년 11월 26일 수정; 2009년 12월 3일 수리)

Optimization of Extraction Conditions for Polysaccharide using Red Ginseng Marc

Keunman Tark¹, Kyunglae Cho¹, Keun Hyoung Park^{1,2}, Seok Min Son^{1,2} and Hee Jeong Chae^{1,2,*}

¹Department of Food Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

²Natural Choice Co., Ltd., Hoseo University, Asan 336-795, Korea

(Received October 13, 2009; Revised November 26, 2009; Accepted December 3, 2009)

Abstract : The extraction conditions for the production of red ginseng polysaccharide were proposed. The crude fiber content of red ginseng marc (RGM) (15.3%) was much higher than that of white ginseng (WG) (2.1%) and red ginseng (RG) (0.5%). Thus, RGM was selected as the raw material for polysaccharide production. The correlation between the particle size of RGM and the polysaccharide extraction was investigated with a correlation analysis using the SPSS package. The two parameters were found to have a significant correlation ($p < 0.01$). The polysaccharide extraction increased as the particle size of RGM decreased. The optimal concentration of RGM was 6.66% (w/v). The extraction yield increased as both the extraction temperature and the extraction time increased. Finally, the extraction temperature and time were selected as 85°C and 5 hrs, respectively. Consequently, the extraction conditions for polysaccharide production were optimized and statistically confirmed.

Key words : red ginseng, polysaccharide, extraction conditions, optimization

서 론

인삼 (*Panax ginseng*)은 오가과 (五加科)에 속하는 다년생 초본류로 2,000년 전의 동양최고 본초서인 신농본초경 (神農本草經)에 소개된 이래로 여러 질병을 예방하고 치료하여 건강을 유지, 증진시키는 효과가 크다고 인정되어 영약으로 각광을 받아왔다.¹⁾ 고려인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)에 관한 과학적 연구는 Brekhman이 adaptogen설을 발표하면서 활발히 진행되기 시작하였다.²⁾ 그 이후 인삼의 주요 생리활성 물질로는 인삼 사포닌인 ginsenoside와, polyacetylene, 다당체 (polysaccharide), 인삼 단백질, 페놀성 물질 등의 성분들이 밝혀졌다.³⁻⁵⁾

인삼의 열수추출물로부터 분리된 각종 다당체 성분 중 약 20~30%를 차지하는 전분 성분 외에 혈당강하 성분인 Panaxan

A~U 등 21 종과 생체방어 기능 활성화 물질로 분리·정제된 PG 5~1 (단백질 함유 다당체), 항보체 활성 다당체 등이 알려져 있다.⁶⁻¹⁰⁾ 인삼의 다당체 성분은 방사선 유발 골수장애방어, 조혈과정, 항암면역증강작용, 항종양활성, 혈당강하활성, 항괴양 작용 등의 약리활성이 보고되어 있다.¹¹⁻¹³⁾ Okuda 등¹³⁾의 연구에 의하면 간암, 난소암 또는 임파선 중앙환자의 늑막액이 toxohormone-L이라는 인자는 지방분해를 촉진하는 작용과 식욕감퇴와 같은 증상을 야기해 암 상태를 더욱 악화시키는 물질로 알려져 있다. 이와 같은 증상을 완화시키는 물질을 홍삼성분으로부터 찾은 결과 ginsenoside-Rb₂와 산성다당체였으며, ginsenoside-Rb₂보다 산성다당체의 활성이 훨씬 우수한 것으로 보고되었다.¹³⁻¹⁵⁾ 최근에는 인삼의 산성다당체가 항암작용을 지닌 면역조절물질로서 macrophage 및 natural killer cell을 활성화시켜 항암작용을 나타내는 등 항암효과가 있다고 보고된 바 있다.¹⁶⁾ 산성다당체는 분자량이 15,000~34,600 Da의 pectin과 유사한 물질로서 주성분은 galacturonic acid (α-1, 4 linkage), glucuronic acid, mannuronic

*Corresponding author. E-mail: hjchae@hoseo.edu
Phone: +82-41-540-5642, Fax: +82-41-532-5640

acid이며 그 외 arabinose, rhamnose, glucose 및 galactose 등으로 구성된 hetero-polysaccharide로 알려져 있다.¹⁷⁾

일반 인삼추출물 제조업체에서는 홍삼제품을 제조하기 위해 물 또는 알코올로 가열 추출하여 추출물을 제조한 후 배출되는 부산물인 홍삼제품 제조 부산물, 즉 홍삼박을 동물 사료와 퇴비로 이용되거나 대부분은 폐기하고 있는 실정이다. 이들 홍삼박에는 상당량의 다당체가 용출되지 않고 함유되어¹⁸⁾ 있기에 이를 이용하여 고부가가치의 식품소재를 생산할 수 있으며 친환경적인 공정 개발이 가능할 것으로 전망된다.

인삼 다당체를 제조하기 위한 방법에는 인삼박을 열수추출하여 원심분리 후 얻은 상등액에 에탄올을 가하여 침전시킨 다당체를 투석하고, 얻은 침전물을 원심분리 후 건조시켜 다당체를 얻는 방법,⁹⁾ 열수추출할 때 α -amylase 및 cellulase 효소를 처리하여 다당체를 얻는 방법,¹⁹⁾ 인삼을 열수추출 후 에탄올을 가하여 침전시킨 침전물에 대하여 DEAE-Toyopeal, Sephacryl S-200 및 S-500 크로마토그래피에 의해 panaxan I, J, K, L의 4종 성분을 분리하는 방법⁷⁾ 등이 있다.

본 연구에서는 홍삼제품 제조 부산물인 홍삼박을 이용하여 다당체를 제조하기 위하여 원료의 입자 크기, 원료 농도, pH, 추출 온도, 추출시간, 용매 침전 조건 등의 다양한 제조방법을 검토하였다. 이를 토대로 홍삼박으로부터 홍삼다당체의 추출조건을 최적화하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

5년근 건조 백삼 (white ginseng, WG), 건조 홍삼 (red ginseng, RG), 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)은 알콜추출 홍삼박으로 개성인삼농협조합 (경기도 포천 소재)에서 구입하여 사용하였다. 다당체 함량 측정에 사용한 시약으로서 pectin (Yakuri Co., Ltd, Osaka, Japan), carbazole (Sigma Chemical Co., Louis, MO, USA)을 사용하였다. 기타 실험에 사용된 시약은 모두 특급시약을 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분 시험법은 시료 중에 일반적으로 함유되어 있는 성분에 관한 시험법으로 수분, 회분, 조지방, 조단백, 조섬유, 탄수화물을 조사하였다. 분석은 식품공전²⁰⁾에 따라 수분 함량은 상압가열 건조법, 회분은 직접 회화법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 측정하였으며, 질소계수 6.25를 사용하여 환산하였다. 조섬유는 Henneberg-Stohmann 개량법²¹⁾에 따라 분석하였고, 탄수화물은 100에서 수분, 조단백질, 조지방 및 회분을 뺀 값을 사용하였다.

다당체 추출 조건

분쇄기 (RT-34, 한국메디칼산업, Korea)를 이용하여 분쇄된 홍삼박 원료의 입자 크기를 0.15 mm이하, 0.15-0.425 mm, 0.425-1.0 mm, 9.5 mm이하로 분쇄하여 1-20%(w/v)의 농도로 증류수에 현탁하고 NaOH와 HCl을 이용하여 pH를 3.0-9.0로 조정한 후 60-90°C에서 0-6시간 추출하였다. 추출물을 원심분리기 (Union 55R, Hanil Co., Korea)를 이용하여 3,200 rpm (1969×g)에서 15분 동안 원심분리한 후 얻은 상등액에 주정을 4배까지 첨가하여 3,200 rpm (1969×g)에서 15분 동안 원심분리하였다.^{9,22)} 원심분리하여 얻은 침전물을 산성다당체 함량, 구성당 및 조다당체 분석용 시료로 사용하였다.

다당체 분석

산성다당체는 주로 galacturonic acid의 polymer로서 분자 구조상 pectin과 유사한 물질¹⁷⁾이므로 pectin정량에 사용되는 carbazole sulfuric acid방법으로 분석하였다.²³⁾ 표준검량선 표시물질로 pectin을 사용하였다. 시험관에 시료 0.5 ml과 ethanol에 용해한 0.1% carbazole용액 0.2 ml을 혼합한 후 sulfuric acid 3 ml을 첨가하여 vortex한 후 85°C로 예열된 water bath (SWB-10, Jeio Tech, Korea)에서 15분 동안 반응시켰다. 96 well-plate에 반응시킨 시료액 200 μ l을 취하여 microplate reader (VERSAmax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

조다당체 함량분석은 Gao 등⁹⁾의 방법에 준하여 분석하였다. 시료 1 ml를 취해 5배에 해당하는 부피의 주정을 혼합한 후 4°C에서 2시간 이상 방치하여 수용성 다당체의 침전을 유도하였으며, 3200 rpm에서 15분간 원심분리하여 침전물을 획득하였다. 3차 정제수 1 ml로 침전물을 용해시킨 후 105°C 건조법으로 조다당체 함량을 산출하였다.

통계처리

홍삼박으로부터 다당체 추출조건을 최적화하기 위해 추출시간, 추출온도, 주정 첨가량에 대해 반응표면분석법의 하나인 중심합성계획법 (response surface-central composite method)을 이용하여 추출 조건을 최적화하였다. 실험 결과에 대한 통계처리는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., IL, USA) 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석법의 Duncan's multiple range test ($p=0.05$)를 실시하여 통계적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

다당체 추출 원료의 일반성분 분석

다당체 추출원료를 선정하기 위해 건조 백삼 (white

Table 1. Proximate compositions of white ginseng, red ginseng and red ginseng marc (% , w/w)

Component	White ginseng (WG)	Red ginseng (RG)	Red ginseng marc ¹⁾ (RGM)
Carbohydrate	75.0	72.4	72.1
Crude fiber	2.1	0.4	15.3
Crude protein	14.6	13.6	18.1
Crude lipid	2.7	2.3	1.8
Crude ash	4.6	4.2	6.5
Moisture	5.8	8.3	5.8

¹⁾Red ginseng marc is a byproduct of alcohol extraction process of red ginseng.

ginseng, WG), 건조 홍삼 (red ginseng, RG), 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)을 실험 원료로 사용하여 일반성분을 조사하였다. 분석 결과, Table 1에서와 같이 홍삼박의 탄수화물 함량 (72.1%)은 건조백삼 (75.0%)이나 건조 홍삼 (72.4%)과 큰 차이가 없었다. Ko 등²⁴⁾의 연구에 의하면 건조 백삼과 건조 홍삼의 조섬유 함량은 각각 5.56%, 5.70%임에 비해 본 연구에서 사용한 건조 백삼과 건조 홍삼은 각각 2.10%와 0.40%로서 비교적 낮은 함량임을 확인하였다. 반면 홍삼박이 15.3%의 가장 높은 조섬유를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 따라서 홍삼박이 다당체 추출 원료로의 타당성을 갖고 있다고 판단하였고 추후의 실험에서 홍삼박을 다당체 추출원료로 사용하였다.

원료 분쇄 조건의 영향

일반식품의 분말에 대한 연구는 모형 식품분말의 흡습특성 등 지난 20여 년 동안 국·내외에서 활발하게 진행되어 왔다.²⁵⁾ 일반적으로 두 물질간의 반응이 일어날 때 상대적인 표면적이 클수록 반응의 효과가 증가되는데 홍삼박을 이용하여 다당체를 추출함에 있어 홍삼박의 분쇄정도를 달리하여 다당체 추출수율에 미치는 영향을 검토하였다. 분쇄기를 이용하여 홍삼박을 분쇄한 후 0.15 mm이하, 0.15-0.425 mm, 0.425-1.0 mm, 9.5 mm이하의 크기로 분쇄하였다. 증류수에 분류된 홍삼박 (RGM)을 각각 6.66% (w/v)의 농도로 첨가하고 85°C에서 4시간 동안 추출한 후 침전처리, 원심분리처리 후 상등액과 침전물로 나누어 산성다당체와 조다당체 함량을 측정하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 원료 홍삼박의 입자 크기가 0.15 mm 일 때 산성다당체와 조다당체 함량은 각각 7.8%와 18.1%로 나타났으며, 입자 크기가 가장 큰 9.5 mm 일 때 산성다당체와 조다당체 함량은 각각 1.8%와 5.2%이었다. 원료의 입자 크기와 다당체 추출량과의 상관관계를 SPSS 12.0 프로그램의 이변량 상관관계수 분석법으로 검증해 본 결과 원료의 입자 크기와 다당체 추출량은 유의적인 상관관계가 있었으며($p < 0.01$). 홍삼박 입자의 크기가 작을수록 다당체 추출량이 증가하는 것을 알 수 있었다.

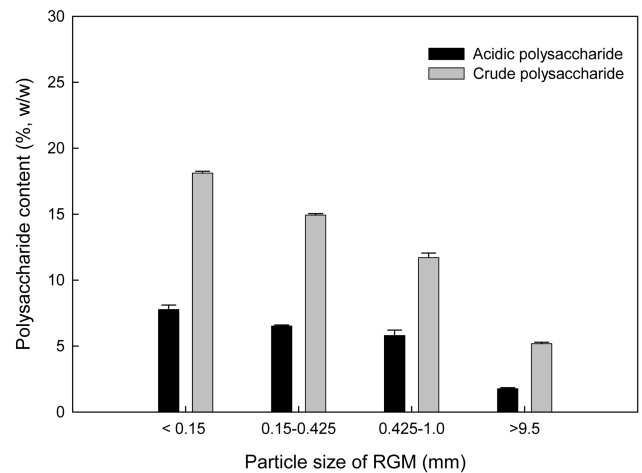


Fig. 1. The effect of particle size of raw material RGM on polysaccharide extraction.

원료 농도의 영향

모든 용매에는 용질이 용해될 때 포화농도가 존재하게 되는데, 다당체 추출의 최적 원료농도를 선정하기 위하여 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)의 농도 차이에 따른 추출물의 다당체 함량을 측정하였다. 증류수에 0.15 mm의 입자 크기로 분쇄한 RGM를 1-20% (w/v)의 농도로 첨가하고 85°C에서 4시간 동안 추출한 후 침전처리, 원심분리처리 후 상등액과 침전물로 나누어 산성다당체와 조다당체 함량을 측정하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 추출용매 대비 원료 RGM의 양이 많을수록 다당체의 추출량이 증가하는 경향이 나타났다. 그러나 건조분말 상태의 원료가 열수 추출과정에서 팽윤 (swelling) 현상으로 인해 원료 농도가 높을수록 추출물의 양이 감소하여 추출물 획득 수율이 3% 수준으로 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 10% (w/v) 이상의 농도로 홍삼박을 첨가하고 추출했을 시에도 동일한 추출물 용량기준으로 상대적으로 많은 양의 다당체가 존재하지만, 원료 대비 다당체 추출물의 회수율이 현저히 감소되므로 Do 등²⁶⁾의 연구결과에 따라 6.66% (w/v) 수준이 바람직할 것이라 판단하였다.

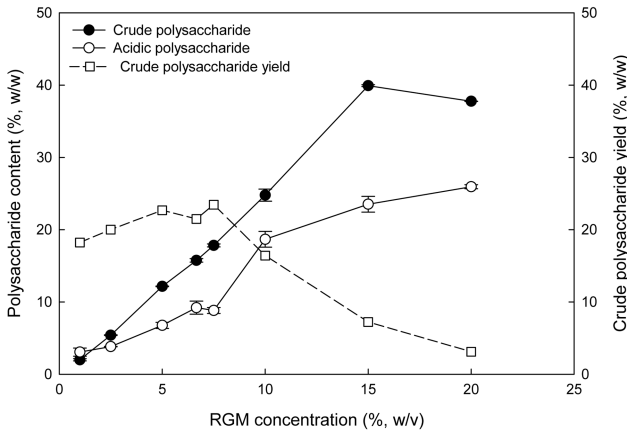


Fig. 2. The effect of RGM concentration on polysaccharide extraction.

pH의 영향

홍삼박을 이용하여 다당체를 추출함에 있어 pH의 조절이 다당체 수율에 미치는 영향을 알아보았다. 증류수에 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)을 6.66% (w/v)의 농도로 첨가하고 NaOH와 HCl 용액을 가하여 pH를 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 9.0로 조정 한 후 85°C에서 각각 0~6시간 동안 추출한 후 침전처리, 원심분리처리 후 상등액과 침전물로 나누어 산성다당체와 조다당체 함량을 측정하였다. 추출 초기의 pH는 5-6의 수준으로서 추출하는 동안 원료의 산성다당체가 추출되면서 산도의 미미한 증가를 나타내었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 산성다당체 함량은 pH 6.5일 때 13.3% (w/w)로 약간 높았으며 조다당체 함량은 pH 7.0일 때 25.2% (w/w)로 다소 높은 값을 나타내었다. 이를 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 이변량 상관계수 분석법으로 통계분석한 결과 pH의 조건에 따른 조다당체 함량은 유의적인 상관관계 ($p < 0.05$)를 나타내었으나 pH의 조건에 따라 산성다당체 함량은 상관관계

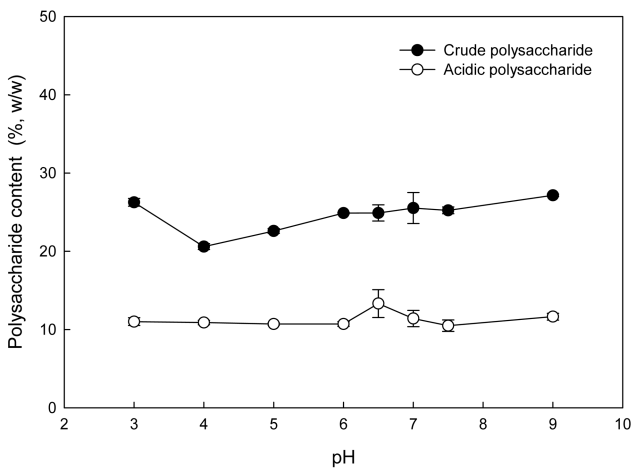


Fig. 3. The effect of pH on polysaccharide extraction.

가 없는 것을 알 수 있었다.

추출온도의 영향

홍삼박으로부터 다당체 성분을 추출하기 위한 최적의 추출 온도를 검토하였다. 우선 문헌적으로 보고된 바에 따르면 대부분의 생리활성 다당체가 수용성으로 알려져 있어²³⁾ 증류수를 추출용매로 선정하였으며, 증류수에 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)을 6.66% (w/v)의 농도로 첨가하고 60, 70, 80 및 90°C에서 4시간 동안 추출한 후 침전처리, 원심분리처리 후 상등액과 침전물로 나누어 산성다당체와 조다당체 함량을 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 70~90°C에서 다당체 추출함량이 약 3% 정도 증가하였으나 SPSS 12.0 프로그램을 이용하여 이변량 상관계수 분석법으로 추출온도와 다당체 추출함량의 상관관계를 검증한 결과 유의적인 상관관계를 보이지 않았다. 그러나 Jang 등²⁷⁾의 연구에 의하면 저온에서 장시간 추출하는 것보다 고온에서 단시간 추출했을 경우에 추출되는 다당체 함량이 높다는 기존 연구의 실험결과와 더불어 본 연구에서 85°C를 최적의 추출온도로 설정하였다.

추출시간의 영향

홍삼박을 이용하여 다당체를 제조하기 위해 추출시간에 따른 다당체 함량 및 pH의 변화에 대하여 조사하였다. 증류수에 홍삼박 (red ginseng marc, RGM)을 6.66% (w/v)의 농도로 첨가하고 85°C에서 각각 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6시간 동안 추출한 후 침전처리, 원심분리처리 후 상등액과 침전물로 나누어 산성다당체와 조다당체 함량을 측정하였고 pH의 변화를 관찰하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 추출 초기에 산성다당체와 조다당체 함량이 각각 3.5% 및 6.6%이었다가 6시간 후에는 각각 8.8%와 14.5%로 2배 이상 증가하였다.

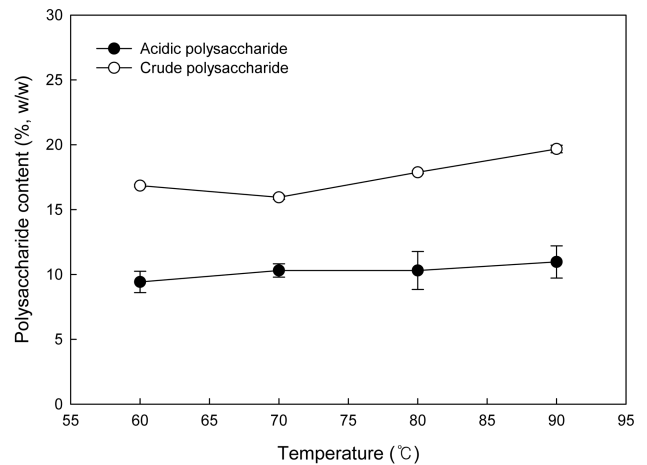


Fig. 4. The effect of temperature on polysaccharide extraction.

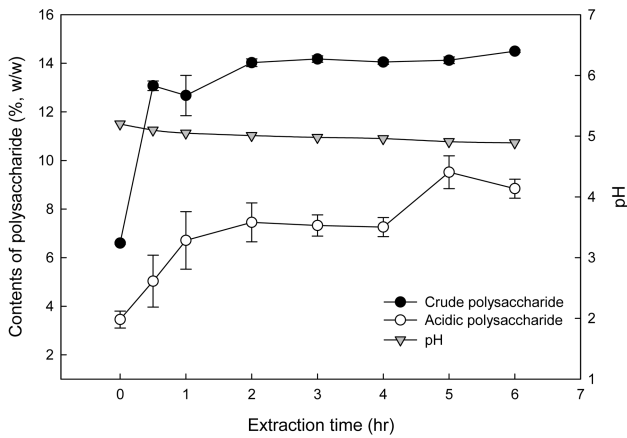


Fig. 5. Effects of extraction time on polysaccharide content and pH.

특히 추출 5시간이 경과하였을 때 산성다당체의 추출함량이 9.5%로 최대로 나타났다. Lee 등¹⁹⁾의 연구에서 추출시간이 길수록 추출효율이 증가되나 경제적, 산업적인 면을 고려할 때 1~2시간, 2~3회 반복 추출이 바람직하다고 보고한 바 있으나, 본 연구에서는 85°C에서 5시간 동안 추출하는 것이 경제적 측면에서 가장 바람직하다고 판단되었다.

이상으로 홍삼 엑기스제품 제조 부산물인 홍삼박을 이용하여 산성다당체 및 조다당체 등의 다당체 성분을 효율적으로 추출하기 위한 조건을 확립하였다. 조섬유 함량이 높은 원료로서 선정된 RGM의 최적 농도는 6.66% (w/v)이었고, 추출 온도가 높고 추출시간이 길수록 추출효율이 증가하여 최종적으로 85°C에서 5시간 추출하는 조건이 바람직하다고 판단하였다. Cho 등²⁸⁾의 연구에 의하면 홍삼의 조다당체 회수율은 3%임에 비하여 본 연구에서의 조다당체 회수율은 12%로서 4배 높은 회수율을 확인하였다. 향후 추출 이후의 회수공정으로서 침전공정과 막분리공정의 도입에 대한 비교론적 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

감사의 말씀

본 연구는 2008년도 농촌진흥청 농업과학기술개발공동연구 사업 지원, 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신 인력양성사업에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Watanabe J, Oh KW, Kim HS, Takahashi M, Kaneto H. A non-opioid mechanism in the inhibitory effect of ginseng saponins on electrically evoked contractions of guinea pig

- ileum and mouse vas deferens. *J Pharmacobiodyn.* 11: 453-458 (1988)
2. Brekhman II. *Panax ginseng.* Gosudarst isdatet Med. 2: 10-24 (1957)
3. Namba T. *The encyclopedia of wakan-yaku(Traditional sino-Japanese medicines) with color pictures.* Hoikusha, Osaka, Japan. 1: 50-51 (1993)
4. Shibata S, Tanaka O, Soma K, Iita Y, Ando Y, Nakamura H. Studies on saponins and sapogenins of ginseng, the structure of panaxatriol. *Tetrahedron Lett.* 3: 207-213 (1965)
5. Shibata, S. Some chemical studies on ginseng. *Proceedings of Intern Ginseng Sympo.* 1: 69-76 (1974)
6. Konno C, Sugiyama K, Kano M, Takahashi M, Hilino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans A, B, C, D and E glycans of *Panax ginseng* roots. *Planta Medica.* 50: 434-436 (1984)
7. Hikino H, Oshima Y, Suzuki Y, Konno C. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans F, G and H glycans of *Panax ginseng* roots. *Korea J Pharm.* 39: 331-333 (1985)
8. Gao QP, Kiyohara H, Jong JC, Yamada H. Characterization of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng* C. A. MEYER. *Carb Res.* 181: 175-187 (1988)
9. Gao QP, Kiyohara H, Cyong JC, Yamada H. Chemical properties and anti-complementary activities of poly saccharide fractions from roots and leaves of *Panax ginseng.* *Planta Medica.* 55: 9-9 (1989)
10. Konno C, Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans M, N, O and P glycans of *Panax ginseng* roots. *J Intl Crude Drug Res.* 25: 53-53 (1987)
11. Youn YS, Song JY, Bae KG, Jung IS. The hematopoietic myeloid protecting, antitumor immune cells generating and radiosensitizing polysaccharide isolated from *Panax ginseng.* *Korea Patent* 1993-028166/0144130 (2002)
12. Srivastava R, Kulshreshtha DK. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry* 28: 2877-2883 (1989)
13. Okuda H, Masuno H, Lee SJ. Effect of red ginseng powder on lipolytic and anorexigenic factor (toxohormone-L) from cancerous ascites fluid. *Proceeding of the 4th Inter. Ginseng Symposium Korea Ginseng Tobacco Res Inst.* p 145-145 (1984)
14. Okuda H, Lee SD, Matsumura Y, Zheng T, Sekiya K, Tanaka O, Sakata T. Biological activities of non-saponin compounds isolated from Korean red ginseng. *Proceedings of Inter Ginseng Symposium Soc. Korea Ginseng* 22: 15-19 (1990)
15. Lee SD, Hwang WI, Okuda H. Effect of acidic polysaccharide components of Korean ginseng on lipolytic action of toxohormone-L and activity of angiotensin converting enzyme. *Korean J Ginseng Sci.* 20: 248-255 (1996)

- 16 Kwak YS, Kim YS, Shin HJ, Song YB, Park JD. Anticancer activities by combined treatment of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) and anticancer agents. *J Korea Ginseng Res.* 27: 47-51 (2003)
17. Lee SD, Lee KS, Okuda H, Hwang WI. Inhibitory effect of crude acidic polysaccharide of Korean ginseng on lipolytic action of toxohormone-L from cancerous ascites fluid. *J Korea Ginseng Res.* 14: 10-13 (1990)
18. Chang EJ, Park TK, Han YN, Hwang KH. Conditioning of the extraction of acidic polysaccharide from red ginseng marc. *Korea J Pharmacogn.* 38: 56-61 (2007)
19. Lee JW, Do JH. Extraction condition of acidic polysaccharide from Korean red ginseng marc. *J Korea Ginseng Res.* 26: 202-205 (2002)
20. Korea Food Industry Association. *Korea Food Code.* p 585-624 (2006)
21. Chae SG, Kang KS, Ma SJ, Bang KU, Oh MH, Oh SH. *Analysis of food.* Jigu Publishing, Seoul. 270-275 (2000)
22. Kwak YS, Kim EM. The physicochemical properties of crude polysaccharide fraction isolated from Korean ginseng (*Panax ginseng C. A. Meyer*). *Korean J Food Sci Technol.* 28: 389-392 (1996)
23. Do JH, Lee HO, Lee SK, Jang JK, Lee SD, Sung HS. Colorimetric determination of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, its extraction condition and stability. *Korean J Ginseng Sci.* 17: 139-144 (1993)
24. Ko S, Choi K, Han K. Comparison of proximate composition, mineral nutrient, amino acid and free sugar contents of several panax species. *Korean J Ginseng Sci.* 20: 36-41 (1996)
25. Seo CH, Lee JH, Do JH, Jang KS. Quality characteristics of Korean red ginseng powder on pulverizing methods. *J Korea Ginseng Res.* 26: 79-24 (2002)
26. Do JH, Lee JW, Lee SK, Sung HS. Preparation of red ginseng extract rich in acidic polysaccharide from red tail ginseng marc produced after extraction with 70% ethyl alcohol. *Korean J Ginseng Sci.* 20: 60-64 (1996)
27. Jang SA, Moon SL. Analysis of total sugar by extraction condition and material to develop the extraction process of ginseng polysaccharide. *J Korea Food Preserv.* 12: 367-371 (2005)
28. Cho CW, Kim SW, Rho J, Rhee YK, Kim K. Extraction characteristics of saponin and acidic polysaccharide based on the red ginseng particle size. *J Ginseng Res.* 32: 179-186 (2008)