J. Ginseng Res.
Vol. 33, No. 3, 194-198 (2009)

Ascorbic acid 및 citric acid 처리에 따른 홍삼추출물의 페놀성 성분 및 ginsenoside 함량 변화

공연희[1] · 노정해[1] · 조장원[1] · 김미현[1] · 이영철[1] · 김성수[1] · 이평재[2] · 최상윤[1]*
[1]한국식품연구원, [2]세명대학교 천연약재과학과
(2009년 7월 20일 접수; 2009년 9월 10일 수정; 2009년 9월 15일 수리)

Variation of Phenolic Ingredient and Ginsenoside Content in Red ginseng Extract by Acid Treatment

Yeon Hee Kong[1], Jeonghae Rho[1], Chang-Won Cho[1], Mi Hyun Kim[1], Young Chul Lee[1], Sung Soo Kim[1], Pyeongjae Lee[2] and Sang Yoon Choi[1]*
[1]*Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea*
[2]*Department of Natural Medicine Resources, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea*
(Received July 20, 2009; Revised September 10, 2009; Accepted September 15, 2009)

Abstract : The changes that would occur in a content of five phenolic ingredients and eight ginsenosides in acid-treated-red ginseng extracts were measured in this study. Acid-treated-red ginseng was prepared by treating with 1 M ascorbic acid or citric acid for 20 min. As a result, the contents of esculetin and quercetin in citric acid-treated-red ginseng increased by 3.5 times and 2.0 times, respectively, compared with control red ginseng. However, all phenolic ingredients decreased after treatment with ascorbic acid. In addition, the contents of ginsenoside Rg_3, Rh_2, Rd increased but those of Rb_1, Rc, Re, Rf, Rg_1 decreased after acid treatment. Although these tendency of results are similar, the rate of change of ginsenosides in citric acid-treated-red ginseng was higher than in ascorbic acid-treated-red ginseng. These results indicated that citric acid is more effective in the conversion of ginseng ingredients than ascorbic acid.

Key words : red ginseng, ascorbic acid, citric acid, phenolic compound, ginsenoside

서 론

홍삼은 수삼을 증기 등으로 쪄서 건조시켜 제조하며 장기 보관이 가능한 가열처리 가공제품으로, 수삼을 증숙, 건조하므로 갈색화 반응이 촉진되어 외관은 담갈색 내지 적갈색을 띤다. 홍삼은 수삼의 증숙 과정을 거치는 동안 조직 중의 전분 입자가 호화되어 백삼보다 소화율이 높으며, 각종 효소들이 불활성화 되어 저장시 백삼보다 안정하고, 제조과정 중 일부 화학적 변환이 일어나 수삼이나 백삼에 존재하지 않는 새로운 생리활성 성분의 생성과 함량 증가가 일어난다.[1)] 인삼의 주요 유효성분인 ginsenoside는 triterpenoid 배당체로 처음 알려진 뒤 최근까지 70 여종의 사포닌 성분이 분리되어 그 구조가 구명되어 있는데,[2-5)] 홍삼을 제조하면 백삼에 존재하는 malonyl-ginsenoside-Rb_1, Rb_2, Rc, Rd의 malonyl 그룹이 떨어져서 ginsenoside-Rb_1, Rb_2, Rc, Rd가 생성되며 진세노사이드의 C-20 위치에서 glycosyl 잔기가 이탈된 후 수산기가 이성화되어 20(R)-ginsenoside-Rg_2, 20(R)-ginsenoside-Rg_3, 20(R)-ginsenoside-Rh_1, 20(R)-ginsenoside-Rh_2, 으로 전환된다.[6)] 또한 인삼에는 ginsenoside 이외에도 비사포닌계인 폴리아세틸렌, 산성 다당체, 아미노산, 폴리페놀 등이 존재한다고 알려져 있다.[7,8)] 인삼 성분의 생리활성으로는 ginsenoside의 암예방 효과,[9)] 암세포 성장억제 효과,[10)] 혈압 강하 작용,[11)] 뇌신경 세포 보호 및 학습능력 개선 작용,[12)] 항혈전 효과,[13)] 항산화 효과[14)] 등이 알려져 있으며, 비사포닌 계열 중에는 폴리아세틸렌 계열의 항암활성, 유리아미노산의 항당뇨와 혈압 강하 작용이 보고된 바 있고 특히, 페놀성 화합물은 항산화활성뿐만 아니라 고혈압 억제, 항암, 항염증, 미백활성 등의 다

*Corresponding author. E-mail: sychoi@kfri.re.kr
Phone: 031-780-9307, Fax: 031-709-9876

양한 생리활성이 보고 되었다.[15-18]

인삼은 약용으로 뿐만 아니라 식품으로도 사용되어 건강기능성 홍삼추출물 혹은 환, 타블렛, 액상 파우치 및 홍삼차와 같은 기호성이 강조된 건강기능식품/일반식품 등으로 제조되고 있다. 특히, 최근 인삼의 포제 방법에 따라서 새로운 가공방법이 많이 개발되었는데 홍삼을 단순히 증숙, 건조 처리한 형태에서 벗어나 인삼의 기호성 증진 및 특정성분 강화를 위하여 볶음처리, 팽화, 발효, 식초 침지, 고온처리, 고압처리 등 다양한 가공공정을 적용한 새로운 형태의 원형삼 및 이를 이용한 가공제품들이 시도되고 있다.[19] 따라서 품질의 안전성 및 관능적 성질 등의 식품학적 측면에서 홍삼의 특정유효성분을 강화하여 차별화 시킬 수 있는 가공방법에 대한 연구의 필요성이 증대되고 있다.

Ascorbic acid와 citirc acid는 산화 및 갈변방지의 목적으로 많은 식품에 첨가되어 사용되어져 왔다. 본 연구에서는 수삼에 ascorbic acid와 citric acid를 처리하여 홍삼을 제조한 후 식품가공에 사용가능한 용매인 에탄올과 물 혼합용매로 추출물을 제조하고 활성성분인 페놀성 성분 및 ginsenoside의 함량변화를 비교하여 특정성분을 강화할 수 있는 인삼가공방법으로써의 가능성을 확인해 보고자 하였다.

재료 및 방법

실험시료

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 2008 년 경기도 안성 인삼농협에서 5 년근 수삼을 구매하여 사용하였다. Esculetin, *p*-coumaric acid, quercetin, maltol, cinnamic acid, ascorbic acid, citric acid는 Sigma-Aldrich Co. (USA)에서 구입하였고, ginsenoside Rb_1, Rc, Rd, Re, Rg_1, Rg_3, Rh_2는 Wako Ltd. (Japan)에서 Rf는 Canfo Co. (China)에서 구입하였다.

산처리 홍삼 제조 및 성분 추출

무처리 홍삼은 전처리 되지 않은 수삼을 사용하여 홍삼을 제조하였고, 산처리 홍삼은 상온에서 1 M의 ascorbic acid와 citric acid로 20 분간 수삼을 침지하여 감압한 후 홍삼을 제조하였다.[20] 홍삼 제조 방법은 97°C에서 2.5 시간 동안 증숙하고 열풍 건조기를 이용하여 70°C에서 24 시간, 다시 50°C에서 72 시간동안 건조하여 홍삼을 제조하였다. 제조한 홍삼은 마쇄한 후 시료 부피 5 배의 80% 에탄올을 가하고 2 시간씩 총 3 회 교반하여 얻어진 상등액을 50°C에서 감압완전농축하여 추출물을 제조하였다.

페놀성 성분 정량

페놀성 성분의 HPLC (Jasco Co., Japan) 정량분석 조건은 μ-Bondapack C_{18} column (Waters, USA, 4 μm, 300 × 3.9 mm)을 사용하여 이동상은 2% 초산이 함유된 물 (용매 A)과 0.5% 초산이 함유된 50% acetonitrile (용매 B)를 초기 용매 B 0% 에서 70 분 후 55%로 기울기용리 하였다. 용출속도는 0.8 mL/min, column의 온도는 40°C로 유지 하였으며 시료의 검출은 280 nm에서 측정하였다. 분석용 시료는 농축된 추출물을 10 mg/mL로 메탄올에 녹인 후 0.45 μm 막여과기 (Millipore, USA)로 여과하여 사용하였고 모든 시료는 표준물질과의 동시주입을 실시하여 피크를 동정하였다.

Ginsenoside 정량 분석

8 종의 ginsenoside(Rb_1, Rc, Rd, Re, Rf, Rg_1, Rg_3, Rh_2) 함량을 HPLC를 이용하여 정량하였다. 분석 조건은 μ-Bondapack C_{18} column (Waters, USA, 10 μm, 300 × 3.9 mm)을 사용하여 이동상은 water (용매 A)와 acetonitrile (용매 B)를 초기에 용매 A 80%에서 70분 후 0%로 기울기용리 하였다. 용출속도는 1.0 mL/min, column의 온도는 25°C로 유지 하였으며 시료의 검출은 203 nm에서 측정하였다. 분석용 시료는 완전 농축된 추출물을 10 mg/mL로 메탄올에 녹인 후 0.45 μm 막여과기 (Millipore, USA)로 여과하여 사용하였다.

결과 및 고찰

페놀성 화합물의 함량

무처리 홍삼과 산처리 홍삼을 마쇄하고 80% 에탄올을 사용하여 추출한 후 완전 감압농축한 각각의 시료의 추출수율은 Table 1과 같으며 ascorbic acid처리 홍삼은 29.5%, citric aid 처리 홍삼은 29.8%로 나타나 무처리 홍삼의 28.0% 와 큰 차이가 없었다.

인삼에 함유되어 있다고 알려진 페놀성 성분중 maltol, esculetin, *p*-coumaric acid, cinnamic acid, quercetin을 재료 및 방법에 기술된 방법으로 HPLC를 이용하여 용출시킨 결과 각각 15.7, 27.3, 35.3, 53.8, 65.9 분에서 검출되었으며 인삼시료내 함량을 정량분석한 결과 citric acid처리 홍삼에서 특이적으로 esculetin과 quercetin 함량이 무처리 홍삼 (control)에 비하여 각각 3.5 배, 2.0 배 증가하는 경향을 나

Table 1. Yields of red ginseng 80% ethanol extracts

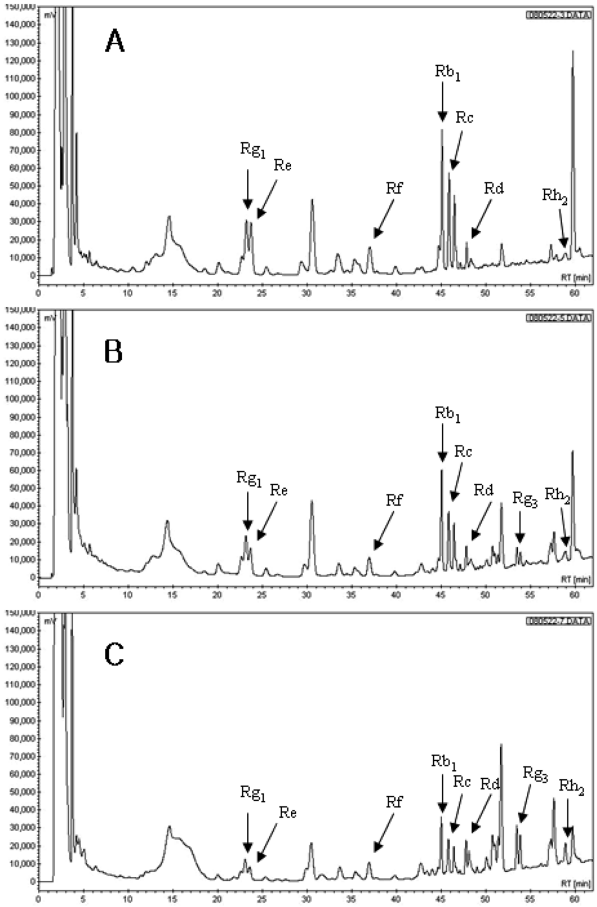
Samples	Yields (%)
Control red ginseng	28.0
Ascorbic acid treated red ginseng	29.5
Citric acid treated red ginseng	29.8

Each value represents the % in drying ginseng materials.

Table 2. Content of phenolic compounds in red ginseng extracts

Samples	Maltol	Esculetin	Coumaric acid	Cinnamic acid	Quercetin
Control red ginseng	0.518	0.150	0.048	0.021	0.039
Ascorbic acid treated red ginseng	0.041	0.010	0.014	<0.003	0.017
Citric acid treated red ginseng	0.023	0.527	0.047	<0.003	0.077

Data present mg/g in 80% ethanol extract. The contents of phenolic ingredient were determined by HPLC analysis as described in materials and methods. Each value is presented as mean value of two experiments (S.D. = less than 0.003).



Samples	Rb_1	Rc	Rd	Re	Rf	Rg_1	Rg_3	Rh_2
Control red ginseng	20.25	13.89	2.43	11.53	5.86	10.29	0.29	0.96
Ascorbic acid treated red ginseng	14.51	8.48	2.71	5.86	3.73	7.49	2.75	1.46
Citric acid treated red ginseng	8.69	5.97	3.79	2.58	3.29	3.76	6.61	2.21

Fig. 1. Ginsenoside contents in red ginseng extracts.
Data present mg/g in 80% ethanol extract. The contents of ginsenoside were determined by HPLC analysis as described in materials and methods. Each value represents the % in drying ginseng materials. Each value is presented as mean value of two experiments (S.D. = less than 0.2).

타냄을 확인할 수 있었고 ascorbic acid 처리 홍삼은 5 종 성분 모두 감소하였다 (Table 2).

Ginsenoside 함량

인삼추출물 내 8 종의 ginsenoside (Rb_1, Rc, Rd, Re, Rf, Rg_1, Rg_3, Rh_2) 함량을 HPLC를 이용하여 정량한 분석 결과는 Fig. 1과 같다. 분석결과 citric acid 처리 홍삼과 ascorbic acid 처리 홍삼에서 ginsenoside Rg_3의 함량이 각각 6.61, 2.75 mg/g 으로 무처리 홍삼 0.29 mg/g 보다 높은 함량을 나타내었고, ginsenoside Rh_2 함량 또한 citric acid 처리 홍

삼과 ascorbic acid 처리 홍삼이 무처리 홍삼에 비해 각각 1.5 배, 2.3 배 정도 높게 나타난 반면 ginsenoside Rb_1, Rc, Re, Rf, Rg_1 등은 산처리에 의해 감소하는 경향을 나타내었다. 대사과정에서 ginsenoside Rb_1은 Rd와 Rg_3를 거쳐 Rh_2로 전환되므로 산처리에 의한 산도증가에 따른 가수분해가 대사체인 ginsenoside Rd, Rg_3, Rh_2의 증가에 기여하는 것으로 사료되며 실제로 인삼에 자연적으로 존재하는 citric acid를 비롯한 유기산에 의해 ginsenoside가 가수분해 된다는 보고가 있었다.[21)]

증가된 ginsenoside Rh_2는 암세포의 증식억제 및 형태적 기능적 정상세포로 분화유도,[22)] 암세포의 apoptosis 유도,[23)] 난소암 발생 억제 및 병용시 항암제 효과 증강,[24)] 항암제의 항암 활성 증대[25)] 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있고, Rg_3는 암세포의 정상세포내로 침윤과 혈관신생 전이억제,[26)] 항암제 내성 억제, 혈관의 평활근 확장 작용,[27)] 혈액순환촉진,[28)] 혈소판 응집억제,[29)] 뇌 신경세포 손상 보호 작용 및 카테콜아민 분비억제 작용 등의 약리활성[30)]을 나타내는 것으로 알려져 있다.

요 약

본 연구에서는 수삼을 식품에 쓰이는 산화 방지제인 ascorbic acid와 citric acid로 처리하여 홍삼을 제조한 후 활성성분인 페놀화합물과 진세노사이드의 추출물내 함량 변화를 HPLC를 이용하여 살펴보았다. 분석결과 citric acid 처리 홍삼에서 esculetin과 quercetin 함량이 무처리 홍삼에 비하여 각각 3.5 배, 2.0 배 증가하였고 ginsenoside 함량 역시 citric acid 처리시의 Rg_3, Rd, Rh_2 증가량이 ascobic acid 처리시에 비하여 높았다. 따라서 인삼추출물의 이들 특정활성성분 강화를 위하여는 citric acid 처리가 효과적인 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 한국한의학연구원의 연구사업지원(K09040)에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

1. Nam KY. Contemporary Korean ginseng (Chemical Constituents and Pharmacological Activity). Korean Ginseng & Tabacco Research Institute, Daejeon, Korea, 1-54 (1996)
2. Shiabta S. Studies on constituents of Japanese and Chinese crude drugs XI. Panaxadol, a sapogenin of ginseng roots(1). Chem Pharm Bull. 11: 59-76 (1973)
3. Horhammer L, Wagner H. Lay B. Zur Kenntnis der Inhartsstoffevon radix *Panax ginseng* C.A. Meyer. Pharm Ztg. 106: 1307-1311 (1961)
4. Kitagawa I, Taniyama T, Yoshikawa M, Ikenishi Y, Nakagawa Y. Chemical studies on crude drug processing VI. Chemical structures of malonyle ginsenosides Rb_1, Rb_2, Rc and Rd isolated from the root of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Chem Pharm Bull. 37: 2961-2970 (1989)
5. Zhang S, Takeda T, Zhu T, Chen Y, Yao X, Tanaka O, Okihara Y. A new minor saponin from the leaves of *Panax ginseng*. Planta Med. 56: 298-300 (1990)
6. Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Korean J Ginseng Sci. 20: 389-396 (1996)
7. Okuda H. Medicinal Korean ginseng 95. Kyoritsu Pub. Co., Tokyo, Japan, P. 233 (1995)
8. Kwak YS, Shin HJ, Song YB, Kyung JS, Wee JJ, Park JD. Effect of oral administration of red ginseng acidic polysaccharide (RG AP) on the tumor growth inhibition. J Ginseng Res. 29: 176-181 (2005)
9. Yun TK, Lee YS, Lee YH, Yun HY. Cancer chemopreventive compounds of red ginseng produced from *Panax ginseng* C.A. Meyer. J Ginseng Res. 25: 107-111 (2001)
10. Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat processed ginseng. Cancer Lett. 150: 41-48 (2000)
11. Jeon BH, Kim HS, Chang SJ. Effect of saponin and non-saponin of *Panax ginseng* on the blood pressure in the renovascular hypertensive rats. J Ginseng Res. 23: 81-87 (1999)
12. Kim DH, Kwak KH, Lee KJ, Kim SJ. Effects of Korea res ginseng total saponin on repeated unpredictable stress induced changes of proliferation of neural progenitor cells and BDNF mRNA expression in adult rat hippocampus. J Ginseng Res. 28: 94-103 (2004)
13. Lee JH, Park HJ. Effects of lipophilic fraction from Korean red ginseng on platelet aggregation and blood co-agulation in rats fed with corn oil and beeftallow diet. Kor J Ginseng Sci. 19: 206-211 (1995)
14. Bae KC, Kim SH. Antioxidant effects of Korea ginseng radix, Korea red ginseng radix and total saponin. Kor J Orient Med Pathol. 12: 72-81 (1998)
15. Choi M, Shin GJ, Choi GP, Do JH, Kim JD. Synergistic effects of extracts from Korean red ginseng, Saururus chinensis Baill. and Rubus coreanus Miq. on antioxidative activities in rats. Korean J Med Crop Sci. 14: 27-30 (2003)

16. Lee SE, Lee SW, Bang JK, Yu YJ, Seong NS. Antioxidant activities of leaf, stem and root of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Kor J Med Crop Sci. 12: 237-242 (2001)
17. Hwang EY, Kong YH, Lee YC, Kim YC, Yoo KM, Jo YO, Choi SY. Comparison of phenolic compounds contents between white and red ginseng and their inhiibitory effect on melanin biosynthesis. J Ginseng Res. 30: 82-87 (2006)
18. Kong YH, Lee YC, Choi SY. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of phenolic compounds in *Panax ginseng* C.A. Meyer. J Ginseng Res. 33: 111-114 (2009)
19. Han BH, Park MH, Han YN. Degradation of ginseng under mild acidic condition. Planta Med. 44: 146-149 (1982)
20. Chang JK , Park CK, Shim KH. Changes in chemical components of red ginseng processed from the fresh ginseng stored at low temperature. Kor J Food Preserv. 10: 158-161 (2003)
21. Jeong SI, Lee TG, Kim CS, Lee S. Property and inhibition of hydrolysis of ginseng saponins by organic acids neutralization in ginseng extract preparations. Kor J Med Corp Sci. 6: 305-310 (1998)
22. Ota T, Mada M, Odashima S. Mechanism of action of ginsenoside Rh_2 uptake and metabolism of ginsenoside Rh_2 by cultured B16 melanoma cells. J Pharm Sci. 80: 1141-1146 (1991)
23. Park JA, Lee KY, Oh YI, Kim KW, Kim SI. Activation of caspase-3 protease via a Bcl-2-insensitive pathway during the process of ginsenoside Rh_2-induced apoptosis. Cancer Lett. 121: 73-81 (1997)
24. Tode T, Kikuchi Y, Kita T, Hirata J, Imaizumi E, Nagata I. Inhibitory effects of oral administration of ginsenoside Rh_2 on growth of human ovarian cancers in nude mice. J Cancer Res Clin Oncol. 120: 24-26 (1993)
25. Kikuchi Y, Sasa H, Kita T, Hirata J, Tode T, Nagata I. Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation *in vitro* by ginsenoside Rh_2 and adjuvant effects to cisplatin *in vivo*. Anticancer Drugs (England). 2: 63-67 (1991)
26. Park JD, Kim DS. Effects of ginseng saponin on modulation of multidrug resistance. Arch Pharm Res. 19: 213-218 (1996)
27. Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, Sata K, Saiki I, Tono-Oka S, Samukawa K, Azuma I. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb_2, 20 (R)-, and 20 (S)-ginsenoside-Rg_3, of red ginseng. Biol Pharm Bull. 18: 1197-1202 (1995)
28. Matsuda H, Kubo T, Kubo M. Chemical changes of ginsenoside -Rb_1 in stomath and improving effects of its product, 20(S)-ginsenoside-Rg_3 on a peripheral circulation disorder. The Ginseng Review 28: 12-15 (2000)
29. Samukawa K, Mattsuda H, Kubo M. Inhibition of thrombocyte aggregation of red ginseng. -Effects of ginsenosides on pulmonary thromboenbolism. The Ginseng Review 14: 57-61 (1992)
30. Tachikawa E, Kudo K, Nunokawa M, Kashimoto T, Takahashi E, Kitagawa S. Characterization of ginseng saponin ginsenoside-Rg_3 inhibition of catecholamine secretion in bovine adrenal chromaffin cells. Biochem Pharmacol. 62: 943-951 (2001)