

전탕 방법 및 전탕 시간에 따른 육미지황탕 전탕액 비교 연구

김정훈, 서창섭, 전우영, 신현규

한국한의학연구원 표준화연구본부 한약EBM연구센터

ABSTRACT

The Comparative Study on Decoctions of *Yukmijihwang-tang* (*Liuweidihuang-tang*) Extracted by Different Extraction Method and Extraction Time

Jung-Hoon Kim, Chang-Seob Seo, Woo-Young Jeon, Hyeun-Kyoo Shin

Herbal Medicine EBM Research Center, Standard Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives : This study was performed to compare the differences between decoctions extracted by different extraction method and extraction time.

Methods : Decoctions were prepared with pressed or non-pressed extraction conditions for 60, 120 and 180min. The yields of extracts, sugar contents, hydrogen ion concentrations(pH), the contents of reference compounds in *Yukmijihwang-tang*(*Liuweidihuang-tang*) were investigated.

Results : The yields and the dissolved solid content containing sugar content of decoctions were more in pressed extraction method than unpressed extraction method, and they tended to be increased as extraction time increased. The pH values of decoctions methods did not show significant differences between pressed and unpressed extraction methods or extraction times. Most of reference compounds showed higher contents in pressed extraction method than unpressed extraction

-
- 교신저자 : 신현규
 - 대전시 유성구 전민동 461-24번지 한국한의학연구원
 - Tel : 042-868-9464 Fax : 042-864-2120 E-mail : hkshin@kiom.re.kr
 - 접수 : 2011/ 05/ 12 수정 : 2011/ 05/ 27 채택 : 2011/ 06/ 13

method and their contents were augmented according to increase of extraction time. The content of paeonol was decreased when extracted in more than 120min with pressed extraction method and tended to be decreased as extraction time increased in unpressed extraction method.

Conclusions : The pressed extraction with long extraction time could be useful for decoction of *Yukmijihwang-tang*(*Liuweidihuang-tang*). However, another ingredients possible to decrease in such condition need to be considered to determine suitable extraction condition.

Key word : Comparative Study, *Yukmijihwang-tang*(*Liuweidihuang-tang*), Extraction Methods, Extraction Time

I. 서 론

전탕에 필요한 인력을 최소화할 수 있고, 전탕 방법이 비교적 편리하며 대용량 전탕이 가능한 장점으로 인해 최근 고온고압 전기 전탕기가 한방의료기관에 널리 사용되고 있다. 이러한 전기 전탕기는 압력 벨브 개폐를 통해 전탕 시 수증기 배출을 하지 않고 압력을 유지하는 가압식 전탕과 수증기 배출을 통해 압력을 가하지 않는 무압식 전탕 방법으로 한약을 전탕할 수 있는데, 압력 증가로 인해 물의 끓는점이 상승하여 약재 내 유효물질 추출률을 높일 수 있는 가능성과 전탕 시 사용되는 물의 양을 일정하게 유지하기 편리한 장점으로 인해 가압식 전탕방법이 널리 이용되고 있다. 그리고 전탕에 소요되는 시간도 전탕시간이 증가 할수록 유효성분 추출률이 높을 것으로 보고 120분을 초과하여 전탕하는 경우가 많은 것으로 보고 되었다¹⁾. 하지만 최근 가압식 전탕 방법을 통한 한약 전탕 시 약재 내 섬유질 파괴나 전탕액 향미의 변화 또는 효능상의 변화가 발생할 가능성이 높아짐에 따라 전통적인 전탕방법인 무압식 전탕 방법으로 복귀하는 움직임이 증가하고 있고 이에

따라 가압식 전탕과 무압식 전탕을 비교하는 데에 대한 관심이 증가하고 있다^{2,3)}.

기존에 보고된 전탕 방법 및 전탕 시간별 비교 연구로는 압력식과 무압력식 전탕방법으로 추출한 五積散 물추출액이 관절염에 미치는 효과⁴⁾, 전탕 시간에 따른 대황의 어혈병태모형에 대한 효과 연구⁵⁾, GC를 이용하여 은교산 전탕시간에 관해 연구⁶⁾, 압력식 약탕기와 옹기 약탕기를 이용한 가미조경탕의 항혈전 및 염증에 대한 연구⁷⁾ 등이 있는데, 대부분 전탕 방법별로 효능을 비교한 논문이 대부분이었다. 전탕 방법 및 시간에 따른 처방 내 성분의 변화는 전탕 조건에 따른 쌍화탕 전탕액 비교 연구⁸⁾에서 확인할 수 있었다.

이에 본 연구에서는 한방의료기관 다빈도 처방 1위⁹⁾, 한방의료기관 내 비급여 제약회사 제제 구비 6위 및 예비 조제 비급여 제제 8위¹⁰⁾인 육미지탕을 이용하여 동일 시간 조건에서의 가압조건과 무압조건 전탕액에 대한 전탕액의 수득률, 당을 포함한 용액 내 고체물질 함량, pH, 지표물질 함량 변화 분석 등을 실시하여 가압과 무압 방법 및 전탕 시간에 따른 전탕액의 차이를 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 조제

1) 육미지황탕 구성 약재

Table 1. The Composition of Medicinal Herbs of Yukmijihwang-tang(*Liuweidihuang-tang*)

Herbal medicine	Pharm	Original location	Amount (g)
Rehmanniae Radix Preparata	Daekyoung	Euisseong, Gyeongbuk	15
Corni Fructus	Kwangmyoungdang	Namwon, Jeonbuk	7.5
Dioscoreae Rhizoma	Kwangmyoungdang	Andong, Gyeongbuk	7.5
Moutan Cortex	Kwangmyoungdang	Jecheon, Chungbuk	5.625
Alismatis Rhizoma	Kwangmyoungdang	Yeongcheon, Gyeongbuk	5.625
Poria Sclerotium	Kwangmyoungdang	Pyeongchang, Gangwon	5.625
Net Amount (g)	-	-	46.875

2) 육미지황탕 조제

전탕 및 포장에는 초고속 진공 저온 농축 추출기 (Cosmos 660, Kyungseo machine, Korea)와 자유조절 롤 포장기(MH 205 Tower, Kyungseo machine, Korea)를 사용하였다.

실제 한방의료기관에서의 전탕 조건과 비슷하게 하기 위한 전탕의 공통조건으로 약재 무게는 1제 분량(937.5g), 1파우치 당 포장되는 전탕액의 양은 $120\pm10\text{mL}$, 전탕 온도는 100°C 으로 하였고, 포장되는 총 파우치의 개수는 최종 전탕액의 추출농도를 일정하게 유지하기 위해 $30\pm3\text{개}$ 로 설정하여 각각 60분, 120분, 180분 동안 가압 또는 무압 방식으로 3회 반복하여 전탕하였다.

2. 이화학적 실험 방법

1) 전탕액 수율 측정

전탕액을 100mL 씩 취한 뒤 동결건조하여 건조물 무게를 측정하였고, 이를 전체 약재 무게에 대해 환산하여 수율을 측정하였다.

2) 당을 포함한 용액 내 고체물질 및 pH 분석

Refractometer(Pal-a, ATAGO, Japan)를 사용하여 당을 포함한 용액 내 고체물질 함량을 측정하였으며, pH는 pH meter(672 pH/Ion meter,

실험에 사용된 육미지황탕의 개별 약재는 광명당제약과 대경생약에서 구입하였으며, 1첨 구성은 의학심오¹¹⁾에 기재된 양을 기준으로 하였다(Table 1).

Metrohm, Switzerland)를 사용하여 측정하였다

3) HPLC를 통한 지표 물질 정량 분석

(1) 지표물질 조제

분석에는 gallic acid, 5-hydroxymethyl-furaldehyde (5-HMF)(이상 99.0%, Aldrich, USA), moroniside, loganin, paeoniflorin, paeonol(이상 99.0%, Wako, Japan) 등을 지표물질로 사용하였다(Fig. 1). 각 지표성분을 methanol(HPLC grade, J.T.Baker, USA)에 녹여 stock solution을 만든 후 각 성분별로 일정 범위의 농도로 희석하여 검량선을 작성하였다.

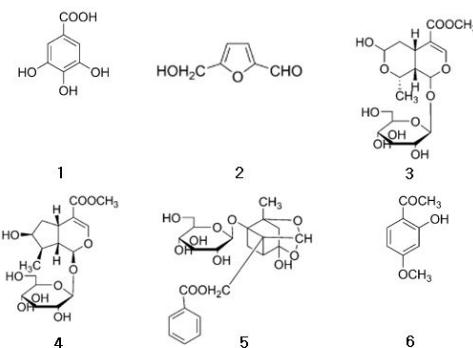


Fig. 1. Chemical structures of standard compounds.

1 : Gallic acid; 2 : 5-HMF; 3 : Moroniside; 4 : Loganin; 5 : Paeoniflorin; 6 : Paeonol

(2) 시료의 조제

각 전탕시간 및 전탕방법별 육미지황탕 전탕액을 $0.2\mu\text{m}$ syringe filter(SmartPor[®], Woongki science, Korea)로 여과하여 10배 희석한 후 검액으로 사용하였다.

(3) 분석조건 설정

처방 내 지표성분을 정량하기 위해서 solvent delivery unit(LC-20AT), auto sampler(SIL-20AC), column oven(CTO-20A), photo-diode array detector (SPD-M20A), degasser(DGU-20A₃) 등으로 구성된 HPLC system(LC-20A, Shimadzu, Japan)을 사용하였다. 분석에 사용한 컬럼은 Gemini C₁₈(4.6 ×250mm, 5μm, Phenomenex, USA)이었고, 컬럼 온도는 40°C, 유속은 1.0mL/min, 시료 주입량은 10μL이었다. 이동상 조성은 water(1.0% acetic acid 포함, A)와 acetonitrile(1.0% acetic acid 포함, B)로 gradient elution으로 0-30분(B, 5-40%), 30-40분(B, 40-100%), 40-45분(B, 100%), 45-50분(B, 100-5%), 50-60분(B, 5%)의 조성으로 용리를 진행하였고, 검출파장은 각 분석 성분의 최대 흡수파장을 적용하여 230, 280nm로 설정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 전탕 방법에 따른 육미지황탕의 평균 추출 수율

전탕 시간이 증가함에 따라 가압 전탕이나 무압 전탕에서 모두 수율이 증가하는 경향을 보였다. 180분 동안 전탕한 경우 60분 전탕에 비해 가압에서는 약 61%, 무압에서는 약 69%의 수율 증가를 보였다. 그리고 모든 전탕 시간에서 가압 전탕이 무압 전탕보다 약 0.8-2.8% 정도 증가된 수율을 보여 가압 조건에서 전탕 시간이 증가할수록 처방의 추출 수율이 증가하는 것을 확인하였다 (Table 2).

Table 2. The Yields of *Yukmijjhwang-tang*(*Liuweidihuang-tang*) Extracts by Extraction Methods ($n=3$)

	Extraction yields (%)		
	60 min	120 min	180 min
Pressure	16.95±2.30	22.86±0.34	26.28±0.71
Non-pressure	16.01±0.73	22.01±0.09	23.40±0.67

2. 전탕 방법에 따른 육미지황탕의 평균 당도 변화

액체 속에 녹아있는 당이나 고체의 양을 측정하는 방법인 당도측정을 통해 육미지황탕 내 당을 포함한 용액 내 고체물질 함량을 분석한 결과, 추출 수율과 마찬가지로 가압 전탕이나 무압 전탕 모두 전탕 시간이 증가할수록 °Bx가 증가하는 경향을 보였고, 60분과 180분 전탕에서 가압 전탕에서 무압 전탕보다 0.6°Bx정도 높은 수치를 보여, 가압 조건에서 전탕 시간이 증가할수록 당을 비롯한 고체물질의 추출률이 높아지는 것을 확인할 수 있었다(Table 3).

Table 3. The Degrees Brix of *Yukmijjhwang-tang* (*Liuweidihuang-tang*) Extracts by Extraction Methods ($n=3$)

	Degree brix (°Bx)		
	60 min	120 min	180 min
Pressure	5.00±0.44	5.75±0.13	6.94±0.23
Non-pressure	4.35±0.20	5.75±0.27	6.31±0.28

3. 전탕 방법에 따른 육미지황탕의 평균 pH 변화

가압 전탕과 무압 전탕에서 모두 전탕 시간이 증가함에 따라 pH가 감소하였고, 무압 전탕이 가압 전탕보다 0.04-0.07정도 높게 나타났다. 하지만 그 증감폭이 크지 않아서 pH 변화는 크게 없는 것으로 볼 수 있었다(Table 4).

Table 4. The Potential of Hydrogen (pH) of Yukmijihwang-tang (*Liuweidihuang-tang*) Extracts by Extraction Methods (n=3)

	potential of hydrogen (pH)		
	60 min	120 min	180 min
Pressure	3.96±0.05	3.92±0.03	3.90±0.02
Non-pressure	4.00±0.03	3.99±0.02	3.96±0.02

4. 전탕 방법에 따른 육미지황탕 구성 성분 함량 변화

1) Linear regression, correlation coefficient(r^2),

Table 5. Linear Range, Regression Equation, Correlation Coefficient(r^2), LOD and LOQ of Standard Compounds in Yukmijihwang-tang (*Liuweidihuang-tang*)

Compound	Linear range (μg/mL)	Regression equation	r^2	LOD ^a (μg/mL)	LOQ ^b (μg/mL)
Gallic acid	0.78-50	y = 26606x-8860.8	0.9998	0.02	0.06
5-HMF	3.13-200	y = 82889x-2300	0.9999	0.006	0.02
Moroniside	3.13-200	y = 18597x-9630.2	1.0000	0.044	0.14
Loganin	0.78-50	y = 16411x-1454.1	1.0000	0.05	0.17
Paeoniflorin	2.5-40	y = 10462x-4859	0.9997	0.08	0.27
Paeonol	0.16-10	y = 48319x+86.818	0.9999	0.05	0.16

^a LOD : limit of detection

^b LOQ : limit of quantification

2) 육미지황탕 내 지표성분 함량 분석

HPLC를 이용하여 육미지황탕 내 6가지 지표성분을 분석한 결과, 각각 성분은 서로 간섭없이 분

LOD, LOQ

검량선에 사용된 지표물질의 농도 범위는 gallic acid 0.78-50μg/mL, 5-HMF와 moroniside 각각 3.13-200μg/mL, loganin 0.78-50μg/mL, paeoniflorin 2.5-40μg/mL, paeonol 0.16-10μg/mL으로 정하였고, 각 성분의 상관계수(r^2)는 0.9999이상으로 직선성이 확보되었다. 각 성분의 검출한계(LOD)와 검량한계(LOQ)는 각각 0.006-0.08μg/mL, 0.02-0.27μg/mL 으로 나타났다(Table 5).

리되었고, 인접 peak간에 분리도 2이상의 좋은 분리능을 보였다(Fig. 2).

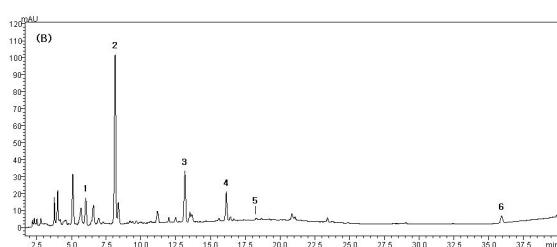
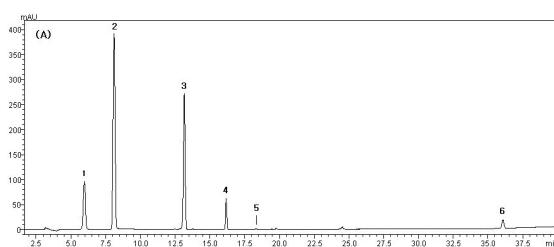


Fig. 2. Chromatograms of standard mixture(A) and Yukmijihwang-tang (*Liuweidihuang-tang*) extract(B).

1 : Gallic acid; 2 : 5-HMF; 3 : Moroniside; 4 : Loganin; 5 : Paeoniflorin; 6 : Paeonol

가압 여부에 따른 전탕 시간별 지표성분 함량 비교에서, 120분과 180분에서 loganin을 제외하면 모든 전탕 시간에서 가압 전탕이 무압 전탕보다 지표성분 함량이 높은 것으로 나타났다. 그리고 각 전탕 시간에서 모두 5-HMF가 가장 높은 함량을 보였고 moroniside, loganin 함량 순으로 나타났다. 60분 가압 전탕에서는 gallic acid와 paeoniflorin, paeonol이 비슷한 함량을 보였으나, 무압 전탕에서는 gallic acid와 paeonol이 paeoniflorin보다 낮은 함량을 보였다. 120분 가압 전탕에서는 gallic acid가 paeoniflorin과 paeonol보다 높은 함량을 보였고

paeoniflorin과 paeonol은 비슷한 함량을 보였으나, 무압 전탕에서는 오히려 paeoniflorin 함량이 gallic acid와 paeonol에 비해 높은 함량을 보였다. 180분 가압 전탕에서는 120분 가압 전탕에서와 마찬가지로 gallic acid가 paeoniflorin과 paeonol보다 높은 함량을 보였고, paeoniflorin 함량이 paeonol 함량보다 높게 나타났으나, 무압 전탕에서는 역시 120분 무압 전탕에서와 마찬가지로 paeoniflorin 함량이 gallic acid와 paeonol 함량보다 높게 나타났다 (Fig. 3).

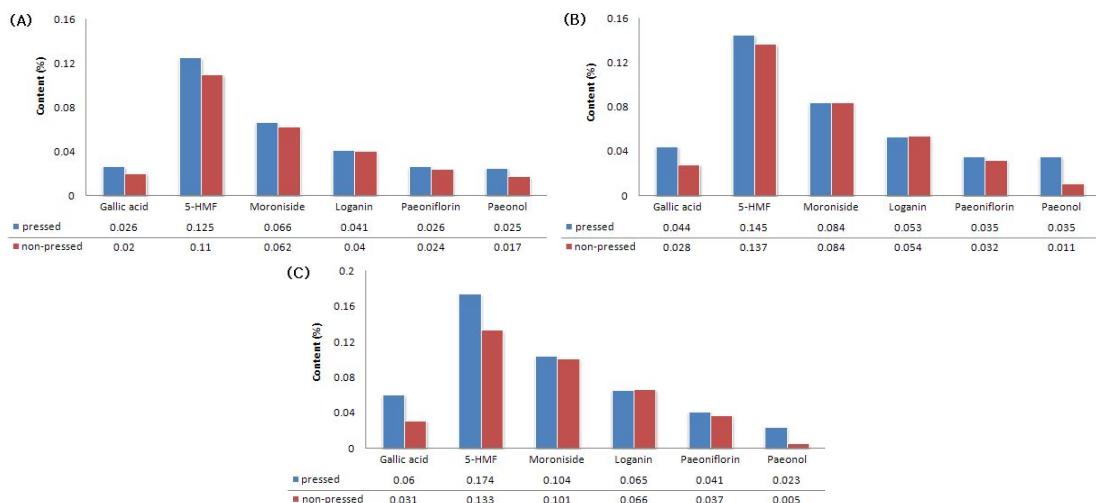


Fig. 3. The contents of reference compounds in *Yukmijihwang-tang* (*Liuweidihuang-tang*) by extraction method(pressed/non-pressed extraction).

(A) 60min; (B) 120min; (C) 180min.

시간에 따른 가압 전탕과 무압 전탕에서의 지표성분 변화 추이를 살펴보면, 가압 전탕에서는 paeonol을 제외한 모든 성분들이 시간이 증가함에 따라 함량 또한 증가하는 경향을 보였다. 60분에서보다 180분에서의 함량은 1.4배에서 최대 2.3배까지 증가하는 것으로 나타났고, 가장 함량 증가가 많은 성분은 gallic acid로 확인되었다. 다만 paeonol의 경우 120분까지는 함량이 증가하는 경향을 보

이다가 180분에서는 오히려 60분에서와 비슷한 정도로 감소하는 경향을 보여 일정 시간이 지나면 추출 함량이 오히려 감소하는 것으로 나타났다. 무압 전탕에서도 가압 전탕에서와 마찬가지로 대부분의 성분들이 시간이 지남에 따라 함량이 증가하는 경향으로 나타났으나, 5-HMF의 경우 120분 까지는 증가하는 경향을 보이다가 180분에는 감소하였다. 하지만 감소폭이 크지 않고 60분 전탕시

보다는 증가하여 전체적으로 시간에 따라 증가하는 경향으로 볼 수 있었다. Paeonol의 경우 가압 전탕에서와는 다르게 무압 전탕에서는 시간이 지남에 따라 함량이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 이는 방향족 골격을 가지고 있는 paeonol은 휘발성을 가지고 있어서 일정 온도 이상이 되면 증발되어 공기 중으로 흩어지게 되고, 수용액 상태로 가열하게 되면 수증기와 함께 증발되는 특성을 지니기 때문으로^{12,13)}, 증기를 배출하는 방식인 무압

전탕에서 전탕 시간이 증가함에 따라 함량이 감소하는 경향을 보이는 것으로 보아 paeonol이 증기를 따라 배출되는 것으로 확인할 수 있었다. 그리고 가압 조건에서도 180분에서 120분보다 함량이 감소한 것은 120분까지 전탕액 내에 존재하던 paeonol이 120분 후에 증발되는 양이 급격히 증가하여 증기와 같이 존재하게 된 것으로 볼 수 있었다.

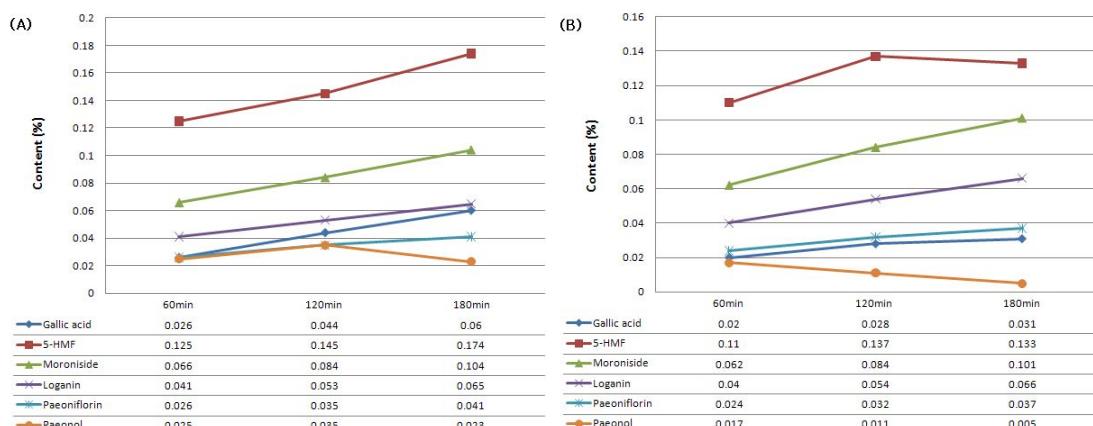


Fig. 4. The contents of reference compounds in *Yukmijihwang-tang* (*Liuweidihuang-tang*) by extraction time(60min, 120min, 180min).

(A) Pressed extraction; (B) Non-pressed extraction.

결과적으로 압력식 전탕이 무압식 전탕보다 추출 수율이나 당을 포함한 용액 내 고체물질 함량, 지표성분 함량 등이 증가하였고, 동일한 전탕 조건에서는 시간이 지남에 따라 역시 증가하는 경향을 보이는 것으로 나타났다. 하지만 paeonol의 경우에서 볼 수 있듯이, 증기를 배출하거나 전탕 시간이 증가하면 오히려 감소하는 성분도 존재할 가능성이 있으므로 적절한 전탕 시간과 조건에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

IV. 결 론

육미지황탕을 가압 조건과 무압 조건별로 시간에 따라 전탕하여 비교한 결과는 다음과 같다.

1. 추출 수율과 당을 포함한 용액 내 고체물질 함량은 가압 전탕이 무압 전탕에서보다, 그리고 동일 전탕 조건에서는 시간이 증가함에 따라 증가하였다.
2. pH는 가압 전탕이 무압 전탕보다 낮았고 동일 전탕 조건에서는 시간이 증가함에 따라 감소하

는 경향을 보였으나, 전체적으로 큰 차이는 확인할 수 없었다.

3. 지표성분 함량은 가압 전탕이 무압 전탕에서보다 높은 함량을 보였고, 동일 전탕 조건에서는 시간이 지남에 따라 함량이 증가하는 경향을 보였다. 모든 조건에서 5-HMF가 가장 높은 함량을 보였고 moroniside, loganin 순으로 함량을 나타내었다. 단, paeonol은 가압 조건에서 180분 전탕 시 120분 전탕보다 함량이 감소하였고, 무압 조건에서는 시간이 지남에 따라 감소하는 추세를 보였다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 표준한방처방 EBM 구축사업(K11030)의 지원으로 진행되었습니다.

참고문헌

1. 한국한의학연구원. 2008년도 한방 의료 이용 실태 조사. 서울:보건복지기부처. 2009:118.
2. 김호철. 압력과 무압력 전탕의 차이. 꼭 알아야 할 한약이야기-6. 한의신문. 2010. Jul 30. Available from:URL:<http://www.mjmedi.com/news/articleView.html?idxno=4182>.
3. 권영민. 한약 전탕방법 변해야 한다(3). 민족의 학신문. 2004. Apr 19. Available from:URL:<http://www.akomnews.co.kr/subpage/detail.php?code=B011&uid=57325&page>
4. 徐富一, 朴芝河, 金美麗. 壓力式과 無壓力式 煎湯方法으로 抽出한 五積散 물추출액이 關節炎에 미치는 效果. 동의경산 한의학 학술대회. 2000:4.
5. 金度完, 朴昌國. 煎湯時間에 따른 生大黃 및 酒大黃이 癥血病態模型에 미치는 影響. 大韓韓方內科學會誌. 1998;19(1):114-33.
6. 李容範, 鞠潤範, 崔成模. Gas-Chromatography를 이용한 은교산 전탕시간에 대한 연구. 大韓韓醫學原典學會誌. 大韓韓醫學原典學會. 2006;19(1):202-6.
7. 안규환, 최창민, 김송백, 조한백. 가미조경탕의 전탕 방법에 따른 항혈전 및 염증에 관한 연구. 대한한방부인과학회지. 2009;22(1):53-78.
8. 김정훈, 서창섭, 신현규. 전탕 조건에 따른 쌍화탕 전탕액 비교 연구. 대한한의학 방제학회지. 2010;18(2):125-34.
9. 이종태. 한국인의 한약재 복용실태 조사 연구. 서울:식품의약품안전청. 2006:91-4.
10. 박요한, 황대선, 신현규. 한방의료기관 한약제제 구비 현황 조사 연구. 대한한의학방제학회지. 2010;18(1):43-56.
11. 程國彭. 醫學心悟. 文淵閣四庫全書. 서울:여강 출판사. 1988:197.
12. 吳壽金, 趙泰, 秦永祺 主編. 現代中草藥成分化學. 北京:中國醫藥科技出版社. 2002:635-6.
13. 盧艷花. 中藥有效成分提取分離實例. 北京:化學工業出版社. 2007:138.