

미삼의 추출 조건에 따른 인삼 프로사포게닌 성분 변화

이선아¹ · 조희경¹ · 성민창¹ · 조순현² · 송유찬³ · 임병옥⁴ · 고성권^{1*}

¹세명대학교 한방식품영양학부, ²대원대학교 제약식품계열,
³(주) 자미원 바이오텍 중앙연구소, ⁴세명대학교 자연약재과학과

Changes in the Contents of Prosapogenin in Ginseng Radix Palva (*Panax ginseng*) Depending on the Extracting Conditions

Sun A Lee¹, Hee Kyung Jo¹, Min Chang Sung¹, Soon Hyun Cho², You Chan Song³,
Byung Ok Im⁴ and Sung Kwon Ko^{1*}

¹Department of Oriental Medical Food & nutrition, Semyung University, Jecheon, Chungbuk 390-711, Korea

²Department of Pharmacy & Food, Daewon University College, Jecheon, Chungbuk 390-702, Korea

³Central Research Institute, Jamiwon biotech. Co. Ltd., Eumseong, Chungbuk 369-906, Korea

⁴The Department of Natural Medicine Resources, Jecheon, Chungbuk 390-711, Semyung University, Korea

Abstract – This study compared the contents of ginseng prosapogenin depending on the extracting conditions of Ginseng Radix palva (*Panax ginseng*) to provide basic information for developing Ginseng Radix palva-based functional foods. Our findings show that the content of crude saponin peaked at 18 hours of extraction and when extracted twice at 100°C (GRP-18). However, the content of total saponin reached its height at 6 hours of extraction at 100°C (GRP-6) and when extracted twice. On the other hand, the content of ginsenoside Rg₃, Rg₅ and Rk₁ from Red and Black ginseng reached their heights at 18 hours of extraction, followed by 72 hours and 15 hours of extraction at 100°C. And at 100°C the main prosapogenin of the content of Black ginseng ginsenoside Rg₅ and Rk₁ reached their heights at 18 hours of extraction, followed by 72 hours and 15 hours of extraction.

Keywords: Ginseng Radix palva, prosapogenin, ginsenoside Rg₃, ginsenoside Rg₅, ginsenoside Rk₁

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 동북아시아의 한반도가 원산인 한국의 특산 약용식물로 2000여년 전부터 보원 기제로 사용되어온 중요한 한방약 중의 하나이다. 동양에서 가장 오래된 본초서인 신농본초경에 인삼은 오장을 보하고, 원기를 보충한다고 기록되어 있다.¹⁾ 인삼의 생리활성은 체계적인 약리학적 접근으로 심혈관계,²⁾ 면역계,³⁾ 신경계⁴⁾에 대한 효능과 해독작용,⁵⁾ 항암작용⁶⁾ 그리고 항당뇨작용⁷⁾ 등이 보고되었으며, 최근에는 AIDS에 대한 억제작용,⁸⁾ 방사선 방어작용 등이 보고되고 있다.⁹⁻¹¹⁾

인삼의 주요한 생리활성물질은 인삼사포닌(ginsenosides), polyacetylenes, 산성다당체, 인삼단백질, 페놀성 물질 등이 알려져 있다.¹²⁻¹⁴⁾ 그 중에서 인삼사포닌은 Shibata 등¹³⁾의 연구에 의해서 그 화학구조가 명확히 확인되었고, 항당뇨 활성¹¹⁾을 비롯하여 항암작용, 항산화작용, 동맥경화 및 고혈

압의 예방, 간 기능 촉진 및 숙취제거효과, 항 피로 및 항 스트레스 작용, 노화방지 작용, 두뇌활동 촉진작용, 항염활성, 알레르기성 질환치료, 단백질합성능력의 촉진 등이 보고¹²⁾되었다.

특히, 수삼을 찌서 건조한 홍삼은 열에 의해서 생성되는 홍삼 특유 성분인 ginsenoside Rg₂, Rg₃, Rh₁, Rh₂ 등이 암 예방작용, 암세포성장 억제작용,^{15,16)} 혈압강하 작용,¹⁷⁾ 뇌신경 세포 보호작용,¹⁸⁾ 항혈전작용,¹⁹⁾ 항산화작용¹⁵⁾이 있다고 하여 홍삼만의 특·장점으로 주목받고 있다.

또한, 홍삼 특유 성분은 인삼사포닌 배당체가 열에 의해서 가수 분해 되어 생성되는 prosapogenin 형태의 인공물인데, 열이나 압력과 같은 물리적인 방법²⁰⁾과 효소를 이용한 생화학적인 방법^{21,22)}에 의해서 고농도 인삼 prosapogenin 제제가 개발되고 있다.

본 연구는 백미삼의 추출 시간 및 온도에 따른 인삼 사포닌의 함량을 비교분석함으로써 생리활성성분(ginsenoside

*교신저자(E-mail): skko@semyung.ac.kr
(Tel): +82-43-649-1433

Rg₃, Rg₅, Rk₁, Rg₂, Rh₁) 고농도 함유제제와 전문화된 백미삼 기능성 식품의 개발에 필요한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 연구에 사용한 백미삼(*Panax ginseng*)은 2009년 5월 한국 금산인삼유통센터(대표 : 김상수)에서 구입하였고, 제품표본은 세명대학교 한방식품연구실에 보관하고 있다(Fig. 1).



Fig. 1. Figure of Ginseng Radix palva.

엑스의 조제 - 미삼을 세말하고, 시료 각각 100 g 씩에 증류수 1 l를 넣고, 100°C에서 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 48 그리고 72시간씩 2회 추출하여 여과 후, 여액을 합하여 감압 농축하여 미삼 엑스를 얻었다.

조 사포닌(crude saponin) 조제(Shibata 법)²³⁾ - 미삼 엑스 각 10 g을 취하여 Diethylether로 3회 처리하여 지용성 물질을 제거한 후 다시 수포화 n-butanol로 3회 처리하여 얻은 n-BuOH 층을 합하여 감압농축 하였다. 이때 모든 조작은 정량적으로 하였다. 감압농축물의 함량을 조 사포닌(crude saponin) 양으로 하였다.

HPLC-ginsenoside의 분석 - 위에서 얻은 엑스를 고 등²⁴⁾의 조건을 응용하여 HPLC를 실시하고, 상법에 따라 표품과 직접 비교하여 인삼사포닌의 함량 및 조성을 각 시료당 3회 반복 실험하여 결과의 재현성을 확인하여 분석하였다. 표품은 Chromadex (미국)와 엠보연구소(한국)로부터 구입한 순도 99% 이상의 ginsenoside를 사용하였다.

사용한 HPLC 장치는 Waters 1525 binary HPLC system (Waters, 미국)이며, 컬럼은 Eurospher 100-5 C18 (250 × 3 mm)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile (HPLC급, B&J, 미국)과 증류수(HPLC급, B&J, 미국)이며, acetonitrile의 비율을 17% (0 min)에서 30% (25 min), 40% (50 min), 60% (90 min) 그리고 80% (100 min)로 순차적으로 늘려주고 마지막으로 다시 17%로 조절하였다. 전개온도는 실온, 유속

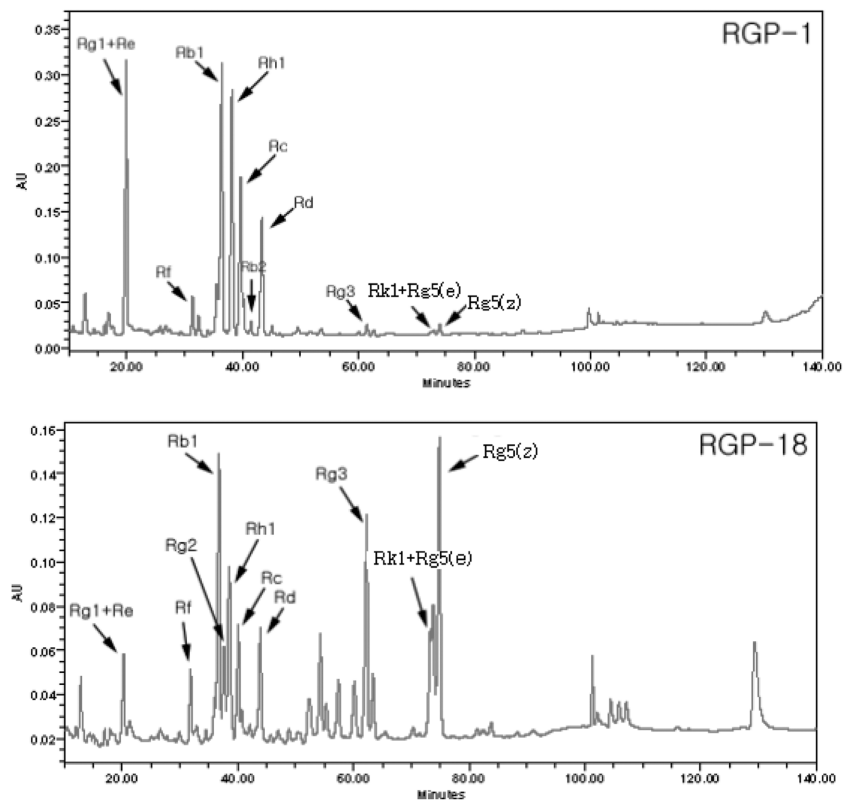


Fig. 2. HPLC profiles of ginsenosides detected from the Ginseng Radix palva.

Table I. Ginsenoside contents in Ginseng Radix palva extracted under various conditions

	RGP-1	RGP-3	RGP-6	RGP-9	RGP-12	RGP-15	RGP-18	RGP-21	RGP-24	RGP-48	RGP-72	
T. S(%) ¹⁾	19.527	19.021	15.236	16.731	12.536	16.762	14.545	8.881	8.038	6.425	7.905	
C. S(%) ²⁾	37.350	35.250	36.050	38.200	31.400	38.500	44.000	27.100	27.500	18.950	23.700	
Ginsenosides	Rg ₁ +Re	4.011± 0.493	3.552± 0.160	2.194± 0.118	1.937± 0.023	1.120± 0.033	1.080± 0.075	0.974± 0.024	0.536± 0.129	0.376± 0.090	0.189± 0.085	0.322± 0.153
	Rf	0.685± 0.139	0.683± 0.026	0.536± 0.043	0.480± 0.016	0.313± 0.030	0.430± 0.017	0.322± 0.003	0.285± 0.036	0.251± 0.013	0.135± 0.004	0.131± 0.001
	Rb ₁	5.631± 0.705	4.950± 0.160	3.937± 0.113	4.051± 0.066	2.826± 0.117	3.822± 0.167	2.702± 0.034	1.637± 0.031	1.426± 0.069	0.494± 0.006	0.364± 0.004
	Rg ₂	0.058± 0.004	0.171± 0.004	0.213± 0.009	0.367± 0.007	0.410± 0.041	0.516± 0.025	0.715± 0.022	0.391± 0.004	0.399± 0.017	0.290± 0.006	0.329± 0.011
	Rh ₁	3.928± 0.476	3.399± 0.101	2.612± 0.079	2.566± 0.049	1.791± 0.126	2.274± 0.100	1.691± 0.069	0.907± 0.015	0.798± 0.045	0.123± 0.007	0.023± 0.008
	Rc	2.512± 0.302	2.104± 0.059	1.700± 0.053	1.678± 0.035	1.181± 0.100	1.455± 0.072	0.963± 0.039	0.540± 0.007	0.456± 0.024	0.095± 0.004	0.147± 0.010
	Rb ₂	0.429± 0.023	0.384± 0.035	0.335± 0.006	0.329± 0.005	0.245± 0.045	0.313± 0.015	0.255± 0.012	0.120± 0.006	0.093± 0.009	0.129± 0.013	0.054± 0.026
	Rd	1.797± 1.299	2.534± 0.078	2.127± 0.060	2.388± 0.046	1.491± 0.057	2.138± 0.090	1.348± 0.008	0.855± 0.013	0.762± 0.060	0.310± 0.005	0.164± 0.006
	Rg ₃	0.298± 0.039	0.746± 0.023	0.897± 0.028	1.674± 0.033	1.885± 0.060	2.736± 0.114	3.258± 0.006	2.063± 0.029	2.007± 0.094	2.714± 0.072	3.207± 0.268
	Rk ₁ +Rg ₅ (e)	0.074± 0.014	0.184± 0.054	0.274± 0.009	0.484± 0.014	0.499± 0.023	0.768± 0.037	0.860± 0.025	0.591± 0.025	0.560± 0.029	0.753± 0.057	1.230± 0.016
	Rg ₅ (z)	0.104± 0.016	0.314± 0.005	0.411± 0.017	0.777± 0.003	0.775± 0.018	1.230± 0.023	1.457± 0.015	0.956± 0.021	0.910± 0.033	1.193± 0.066	1.934± 0.025

1) Rg₁+Re+Rf+Rb₁+Rg₂+Rh₁+Rc+Rb₂+Rd+Rg₃+Rk₁+Rg₅

2) crude saponin

은 분당 0.8 ml, 크로마토그램은 uv/vis Waters 2487 Dual Absorbance Detector (Waters, U.S.A.) 검출기를 이용하여 203 nm에서 검출하였다.

결과 및 고찰

인삼을 가공하는 데는 추출농축을 통하여 진행되고, 열에 의한 가수분해에 의해서 홍삼 제조시 생성되는 Prosapogenin 생리활성성분(ginsenoside Rg₃, Rg₅, Rk₁)이 산생²⁵⁾된다고 하는 점에 착안하여, 본 연구는 백미삼의 추출 시간에 따른 인삼 사포닌의 함량을 HPLC 법으로 비교분석하였다.

백미삼 증류수 추출(100°C) 시간별 인삼사포닌 함량 비교 분석을 실시한 결과, Protopanaxadiol group prosapogenin의 경우는 1시간 2회 추출시 ginsenoside Rg₃의 함량이 0.298%을 나타내었으나, 추출 시간이 늘어날수록 함량이 증가하다가, 18시간 2회 추출했을때, 3.258% (RGP-18)의 가장 높은 함량을 나타내었고, 72시간 2회 추출시 3.207% (RGP-72)의 순이었다. 이와 같은 RGP-18의 ginsenoside Rg₃의 함량

은 고 등²⁶⁾이 보고한 홍삼 엑스보다 약 5.6배 높은 함량을 나타내었다.

또한, ginsenoside Rg₅, Rk₁의 함량에 있어서는 72시간 2회 추출했을때, 3.164% (RGP-72)의 가장 높은 함량을 나타내었고, 18시간 2회 추출시 2.317% (RGP-18)의 순이었다. 특히, RGP-72의 ginsenoside Rg₅, Rk₁의 함량에 있어서는 이 등²⁷⁾이 보고한 구증구포한 홍삼(흑삼) 엑스보다도 약 7.2배 높은 함량을 나타내었다.

따라서, Protopanaxadiol group 홍삼특유성분으로 알려진 ginsenoside Rg₃는 18시간 2회 추출했을때, Protopanaxadiol group 흑삼특유성분으로 알려진 ginsenoside Rg₅ 과 Rk₁은 72시간 2회 추출했을때 가장 고농도 인삼 prosapogenin 성분 함유 추출 엑스를 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

한편, Protopanaxatriol group prosapogenin의 경우는 1시간 2회 추출시 ginsenoside Rg₂의 함량이 0.058%을 나타내었으나, 추출 시간이 늘어날수록 함량이 증가하다가, 18시간 2회 추출했을때, 0.715%의 가장 높은 함량을 나타내었고, 15시간 2회 추출시 0.516%의 순이었다.

또한, ginsenoside Rh₁의 함량에 있어서는 1시간 2회 추출했을때, 3.928%의 가장 높은 함량을 나타내었고, 3시간 2회 추출시 3.399%의 순이었고, 추출시간이 길어질수록 함유량이 적어졌다. 따라서, Protopanaxatriol group 홍삼특유 성분으로 알려진 ginsenoside Rg₂는 18시간 2회 추출했을때, ginsenoside Rh₁은 1시간 2회 추출했을때 가장 고농도 인삼 prosapogenin 성분 함유 추출 엑스를 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2009년도 산학연공 동기술개발사업(No. 00039139)의 연구수행으로 인한 결과 물임을 밝힙니다.

인용문헌

- Ko, S. K. and Im, B. O. (2009) The science of Korean ginseng, 47-52, *Yakupsinmunsa*, Seoul.
- Lee, D. C., Lee, M. O., Kim, C. Y. and Clifford, D. H. (1981) Effect of ether, ethanol and aqueous extracts of ginseng on cardiovascular function in dogs. *Can. J. Comp. Med.* **45**: 182-187.
- Jie, Y. H., Cammisuli, S. and Baggolini, M. (1984) Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer in the mouse. *Agents Actions.* **15**: 386-391.
- Kim, Y. C., Kim, S. R., Markelonis, G. J. and Oh, T. H. (1998) Ginsenosides Rb₁ and Rg₃ protect cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurodegeneration. *J. Neurosci. Res.* **53**: 426-432.
- Joo, C. N., Koo, J. D., Kim, D. S. and Lee, S. J. (1977) Biochemical studies of ginseng saponins. XI. The effects of ginseng saponins on alcohol dehydrogenase. *Hanguk Saenghwa Hakhoe Chi* **10**: 109-120.
- Tahara, M., Kono, H., Mune, S. and Odashima, S. (1985) Action of ginsenosides on tumor cells. Growth inhibition and redifferentiation of neoplasia. *Wakan Yaku Gakkaishi* **2**: 170-171.
- Yokozawa, T., Kobayashi, T., Oura, H. and Kawashima, Y. (1985) Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-Rb₂ in streptozotocin-diabetic rats. *Chem. Pharm. Bull.* **33**: 869-872.
- See, D. M., Broumand, N., Sahl, L. and Tilles, J. G. (1997) In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. *Immunopharmacology* **35**: 229-235.
- Kim, H. J., Kim, M. H., Byon, Y. Y., Park, J. W., Jee, Y. and Joo, H. G. (2007) Radioprotective effects of an acidic polysaccharide of *Panax ginseng* on bone marrow cells. *J. Vet. Sci.* **8**: 39-44.
- Lee, T. K., Johnke, R. M., Allison, R. R., O'Brien, K. F. and Dobbs, L. J. Jr. (2005) Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis* **20**: 237-43.
- Lee, H. J., Kim, S. R., Kim, J. C., Kang, C. M., Lee, Y. S., Jo, S. K., Kim, T. H., Jang, J. S., Nah, S. Y. and Kim, S. H. (2006) In Vivo radioprotective effect of *Panax ginseng* C.A. Meyer and identification of active ginsenosides. *Phytother. Res.* **20**: 392-395.
- Park, J. D. (1996) Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**: 389-415.
- Sanata, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S. (1974) Studies on the saponins of ginseng. Structure of ginseng-R₀, Rb₁, Rb₂, Rc and Rd. *Chem. Pharm. Bull.* **22**: 421-428.
- Kitagawa, I., Taniyama, T., Shibuya, H., Nota, T. and Yoshikawa, M. (1987) Chemical studies on crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (2) ; Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. *Yakugaku Zasshi* **107**: 495-505.
- Keum, Y. S., Park, K. K., Lee, J. M., Chun, K. S., Park, J. H., Lee, S. K., Kwon, H. and Surh, Y. J. (2000) Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.* **150**: 41-48.
- Kim, S. E., Lee, Y. H., Park, J. H. and Lee, S. K. (1999) Ginsenoside-Rs₃, a new diol-type ginseng saponin, selectively elevates protein levels of p53 and p21WAF1 leading to induction of apoptosis in SK-HEP-1 cells. *Anticancer Res.* **19**: 487-491.
- Kim, W. Y., Kim, J. M., Han, S. B., Lee, S. K., Kim, N. D., Park, M. K., Kim, C. K. and Park, J. H. (2000) Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J. Nat. Prod.* **63**: 1702-1704.
- Bao, H. Y., Zhang, J., Yeo, S. J., Myung, C. S., Kim, H. M., Kim, J. M., Park, J. H., Cho, J. S. and Kang, J. S. (2005) Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. *Arch. Pharm. Res.* **28**: 335-342.
- Jung, K. Y., Kim, D. S., Oh, S. R., Lee, I. S., Lee, J. J., Park, J. D. Kim, S. I. and Lee, H. K. (1998) Platelet activating factor antagonist activity of ginsenosides. *Biol. Pharm. Bull.* **21**: 79-80.
- Kwon, S. W., Han, S. B., Park, I. H., Kim, J. M., Park, M. K. and Park, J. H. (2001) Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. *J. Chromatogr.* **921**: 335-339.
- Hasegawa, H., Sung, J. H., Matsumiya, S. and Uchiyama, M. (1996) Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.* **62**: 453-457.
- Hasegawa, H., Sung, J. H. and Benno, Y. (1997) Role of human intestinal *Prevotella oris* in hydrolyzing ginseng saponins. *Planta Med.* **63**: 436-440.

23. Shibata, S., Tanaka, T., Ando, T., Sado, M., Tsushima, S. and Ohsawa, T. (1966) Chemical Studies on oriental plant drugs (XIV) Prtopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng saponins. *Chem. Pharm. Bull.* **14**: 595-600.
24. Ko, S. K., Bae, H. M., Cho, O. S., Im, B. O., Chung, S. H. and Lee, B. Y. (2008) Analysis of ginsenoside composition of ginseng berry and seed. *Food Sci. Biotechnol.* **17**: 1379-1382.
25. Ha, Y. W., Lim, S. S., Ha, I. J., Na, Y. C., Seo, J. J., Shin, H. S., Son, S. H. and Kim, Y. S. (2007) Preparative isolation of four ginsenosides from Korean red ginseng (steam-treated *Panax ginseng* C. A. Meyer), by high-speed counter-current chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Journal of Chromatography A* **1151**: 37-44.
26. Ko, S. K., Lee, C. R., Choi, Y. E., Im, B. O., Sung, J. H. and Yoon, K. R. (2003) Analysis of ginsenosides of white and red ginseng concentrates. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**: 536-539.
27. Lee, S. A., Jo, H. K., Im, B. O., Kim, S. G., Whang, W. K. and Ko, S. K. (2012) Changes in the contents of prosapogenin in the Red ginseng (*Panax ginseng*) depending on steaming batches. *J. Ginseng Res.* **36**: 102-106.
- (2012. 2. 24 접수; 2012. 4. 3 심사; 2012. 5. 29 게재확정)