

홍삼에서 사포닌 추출과정 중 분리된 홍삼오일의 화학적 특성과 항산화 활성

장선옥 · 김미라 · 홍광원*
동국대학교 식품공학과

Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Red Ginseng Oil Produced in a Process where Saponin is Extracted from Red Ginseng

Sun-Ok Jang, Mi-Ra Kim, and Kwang-Won Hong*

Department of Food Science and Biotechnology, Dongguk University

Abstract

This study investigated the chemical characteristics and cosmetic applicability of the red ginseng oil produced in a process where saponin is extracted from red ginseng. The acid, peroxide and iodine values of 1% red ginseng oil diluted with Tween 80 were 0.265, 0.387 and 0.64, respectively. Antioxidant activity of 1% red ginseng oil evaluated according to the DPPH free radical scavenging assay exhibited 70% inhibition relative to α -tocopherol. The total polyphenol content, determined according to the Folin-Ciocalteu method, was 243 mg/100 g. Tyrosinase inhibitory activity of 1% red ginseng oil was about 14% inhibition relative to L-ascorbic acid. On the other hand, red ginseng oil was not effective in inhibiting the activity of elastase as well as in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Key words: red ginseng oil, antioxidant activity, total polyphenol content, tyrosinase

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본 류로서 한방에서는 그 뿌리를 인삼(*Ginseng radix*)이라 하여 약용으로 사용한다(Kwak et al., 2003). 인삼은 우리나라를 비롯하여 중국 일본에서도 지난 수천 년간 이용되어 왔고 그 약효를 높이기 위하여 인삼을 불로장생의 영양으로 취급되어왔다(Kim et al., 1990).

홍삼은 인삼 중에서 6년근 이상의 수삼을 찌고 말려서 수분이 13% 정도로 제조한 것으로 붉은색이 감도는 것이 특징이다(Kwak et al., 2003). 홍삼은 수삼을 장기간 저장할 목적으로 증숙하고 인삼의 전분을 호화시켜 건조한 것으로 이러한 수처리과정을 거치면서 수삼 또는 백삼과는 다른 유효성분인 ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등이 생성된다고 알려져 있다(Lee et al., 2008). 홍삼의 효능에는 중추신경에 대해서 진정작용이 있으며, 혈압조절 작용, 항

염 및 항종양 작용이 있고 간 기능 항진효능도 보고되고 있다(Kwak et al., 2003). 홍삼에서 다양한 생리활성을 나타내는 사포닌의 추출과정 중 부산물로 홍삼박(Lee & Do, 2002)과 홍삼오일 등이 생성된다. 홍삼박의 경우 홍삼박으로부터 산성 다당체 추출조건 등의 기능성 연구가 알려져 있고 동물사료 또는 퇴비로 재활용되고 있으나(Lee & Do, 2002; Chae et al., 2009), 홍삼오일의 경우 그 특성이나 활용도에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 따라서 부산물로 버려지고 있는 홍삼오일의 새로운 활용가치를 높일 수 있는 연구가 필요하다.

화장품은 고가이고 대표적인 기술집약형 상품으로서 사용 인구가 전세계적으로 점차 증가하고 있다(Park et al., 2009). 최근에는 화장품산업에 약품의 기능이 첨가된 기능성화장품 또는 약용화장품의 개념이 도입되어 세계적으로 폭넓게 이용되고 있다(Kligman, 2000). 기능성 화장품은 피부의 미백에 도움을 주는 제품, 피부의 주름개선에 도움을 주는 제품, 자외선으로부터 피부를 보호하는데 도움을 주는 제품 등으로 분류된다(Park et al., 2009). 미백제품은 주로 멜라닌 생성억제와 tyrosinase 저해, 피부각질 제거, 피부색소침착 방지 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있고 주름개선 제품은 피부탄력강화, 콜라겐합성 촉진 등의 효능이 알려져 있다(Park, 1997). 이러한 효과를 보유한 물질을 천연소재에서 찾으려는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 따라

*Corresponding author: Kwang-Won Hong, Department of Food Science and Biotechnology, Dongguk University, College of Life Science and Biotechnology, Dongguk University, 26, 3 Pil-dong, Chung-gu, Seoul 100-715, Korea

Tel: +82-2-2260-3369; Fax: +82-2-2285-3988

E-mail: hkwon@dongguk.edu

Received October 21, 2012; revised November 10, 2012; accepted November 12, 2012

서 본 연구에서는 홍삼의 사포닌 추출과정 중 부산물로 생성되는 홍삼오일의 새로운 활용가능성을 조사하기 위해 유지의 기본적인 특성인 산가, 과산화물가, 요오드가 측정하였다. 또한 DPPH 라디칼 소거능, 총 폴리페놀 함량, tyrosinase 저해활성, elastase 저해활성 및 항균활성을 측정하여 화장품 원료 소재로서 홍삼오일의 활용가치를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 홍삼오일은 (주)바산고려홍삼(Seoul, Korea)에서 주정으로 홍삼의 사포닌을 추출하는 과정에서 부산물로 얻어진 것이며, 홍삼오일은 유화제 Tween 80으로 희석하여 사용하였다. 실험에 사용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), α -tocopherol, tannic acid, tyrosinase(from mushroom, $\geq 2,000$ units/mg solid), elastase(from porcine pancreas, 3-6 units/mg protein) 및 L-DOPA(3,4-dihydroxyphenylalanine)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

산가, 과산화물가 및 요오드가 측정

1% 홍삼오일의 산가 및 요오드가 측정은 A.O.A.C (1990)방법에 의하여 측정하였다. 과산화물가 측정은 1% 홍삼오일 0.5 g을 삼각플라스크에 넣고 glacial acetic acid 7.5 mL, 포화 KI용액 0.5 mL 를 가한다. 암실에서 10분간 방치한 후 전분지시약(1%)을 넣고 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 무색이 되는 점을 종말점으로 하였다. 같은 방법으로 공시험을 하였다(Paquot & Hautfenne, 1987).

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능을 측정하기 위해 홍삼오일을 0.1%에서 1.0%까지 농도 별로 희석한 1 mL를 시료로 취하여 5×10^{-4} M DPPH 용액 1 mL을 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응 시킨 다음, 이 반응액을 분광광도계(6705 UV/Vis spectrophotometer, Jenway, UK)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구는 시료대신 증류수를 첨가하여 수행하였고, 양성대조구로 α -tocopherol을 홍삼오일과 같은 농도를 사용하여 활성과 비교하였다. Free radical 소거 활성은 시료 첨가구와 무 첨가구의 흡광도를 구하여 다음과 같이 계산하였다(Blois, 1997).

$$\text{scavenging(\%)} = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료 처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 1% 홍삼오일 1 mL에 2 배로 희석한 Folin 시약 1 mL을 첨가하고 잘 혼합한 다음 3분간 방치한 후 1 mL의 10% Na_2CO_3 를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 1 시간 동안 방치한 후 분광광도계를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다(Lee et al., 2008).

Elastase 저해활성

Elastase 저해활성은 0.2 M Tris-HCl buffer 용액(pH 8.0) 0.2 mL, 5 mM L-DOPA 용액 0.2 mL과 0.6%에서 1%까지 단계별로 희석한 홍삼오일 0.1 mL을 혼합하여 25°C에서 5분간 반응시킨 다음, elastase 0.1 mL(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)을 가하여 다시 25°C에서 20분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군인 ursolic acid를 실험군과 동일한 농도로 사용하였다(Park, 1997).

$$\text{Elastase inhibition activity(\%)} = 1 - \frac{(\text{Elastase activity-Blank})}{\text{Control}} \times 100$$

Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해활성 측정은 0.175 M phosphate buffer 용액(pH 6.8) 0.2 mL, 5 mM L-DOPA용액 0.2 mL과 0.6%에서 1%까지 단계별로 희석한 홍삼오일 0.5 mL의 혼합물에 mushroom tyrosinase 0.1 mL(110 units/mL)를 첨가하여 37°C에서 3분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다(Yagi, 1986). 대조구로는 L-ascorbic acid를 실험군과 동일한 농도로 사용하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition activity(\%)} = 1 - \frac{S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}}{C_{\text{Abs}}} \times 100$$

(S_{Abs} : 시료의 흡광도, B_{Abs} : 효소대신에 증류수를 넣었을 때 흡광도, C_{Abs} : 시료 추출액 대신에 증류수 넣었을 때 흡광도)

항균성 검사

홍삼오일의 항균성 실험은 그람양성균인 *Staphylococcus aureus* ATCC 12598와 그람음성균인 *Escherichia coli* KCCM 11234균주를 대상으로 각 균주를 LB 액체배지에서 37°C, 12 시간 배양한 후 사용하였다. *S. aureus*균과 *E. coli* 균을 각각 LB한천배지에 100 μL 씩 도말한 후, 멸균된 paper disk를 배지 표면 위에 놓는다. Paper disk에 홍삼오일 농도 별로(0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1%) 30 μL 씩 점적한 후 37°C에 배양하였다. 항균활성은 각 배지를 24 시간 배양하

Table 1. Chemical characteristics of 1% red ginseng oil.

Characteristics	Value
Acid value ¹⁾	0.265±0.003 ⁴⁾
Peroxide value ²⁾ (meq/kg)	0.387±0.02
Iodine value ³⁾	0.64±0.01

¹⁾Acid value (AV) was determined by the A.O.A.C

²⁾Peroxide value (POV) was determined by the Paquot, C. and A. Hautfenne.

³⁾Iodine value was determined by A.O.A.C

⁴⁾Values are means±S.D., n=3

여 paper disk 주위의 clear zone 생성유무로 확인하였다 (Choi et al., 2009).

통계처리

모든 실험은 최소 3 회 이상 반복 수행하였으며 모든 결과 값들은 mean standard deviation(S.D.)으로 표시하였다.

결과 및 고찰

산가, 과산화물가 및 요오드가

산가는 유지에 포함되어 있는 유리지방산의 양을 측정하여 유지의 품질과 신선도를 나타내는 기준으로 일반적으로 신선한 유지는 그 값이 1 이하이다(Kim et al., 2010). Table 1을 보면 1% 홍삼오일의 산가는 0.265 mg KOH/g으로 산패도가 높지 않음을 알 수 있다. 과산화물가는 유지가 산패되는 초기단계를 나타내는 값으로 수치가 클수록 신선하지 못함을 나타낸다. 식품공전에 따르면 가공유지와 팜스테아린유의 과산화물가는 3.0 이하, 팜올레인유는 5.0 이하이어야 하며 유탕이나 유지처리제품은 50 이하로 규정하고 있다(KFDA, 2007). 1% 홍삼오일의 과산화물가를 측정한 결과는 0.387 meq/kg으로 산패도가 높지 않음을 알 수 있었다. 요오드가는 유지의 불포화도를 나타내며 불포화지방산이 많이 포함된 유지일수록 요오드가가 높다. 1% 홍삼오일의 요오드가는 0.64로 홍삼오일에는 불포화지방산의 함량이 비교적 적은 것으로 추정된다.

항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

Free radical은 호기적 대사 상태에서 인체 내에서 발생되며 지질, 단백질 등과 반응하여 생체의 노화를 촉진할 수 있는 물질이다(Choi et al., 2009). 비타민 C, 비타민 E, 플라보노이드류, 폴리페놀류 등이 이러한 free radical을 제거하는 항산화제로 알려져 있다(Masaki et al., 1995; Kim et al., 2006). DPPH는 비교적 안정화된 구조의 free radical로써 항산화 물질의 효과를 측정하는데 많이 쓰이고 있다(Lee & park., 2011).

홍삼오일과 비교물질인 α -tocopherol의 free radical 소거

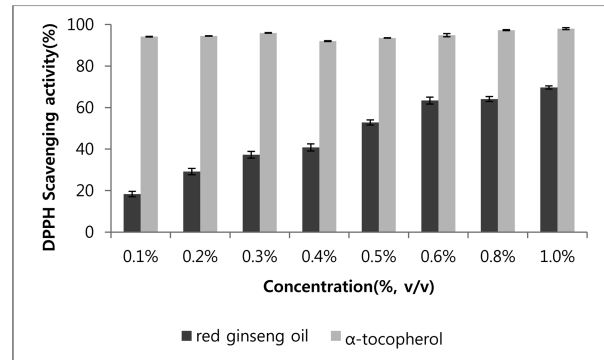


Fig. 1. Effect of red ginseng oil on DPPH radical-scavenging activity. The data were expressed as mean±SD of three determinations.

Table 2. Total polyphenol content of red ginseng oil.

Sample	Total polyphenol content ¹⁾ (mg TAE/100 g)
Red ginseng oil	243±3.2 ²⁾

¹⁾Total polyphenol content expressed as tannic acid equivalents (TAE; mg/100 g material).

²⁾Values are means±S.D., n=3

활성의 측정 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 양성대조군인 α -tocopherol 보다는 낮은 수치지만, 1%의 홍삼오일은 70% 정도의 항산화능을 나타내었다.

식물에 존재하는 많은 phytochemical 중 페놀성 화합물은 그 함량이 높을수록 항산화 활성은 증가하며, 항콜레스테롤 작용, 성장작용, 항암 작용 등의 생리적 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Kang et al., 2011). Tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구한 결과, Table 2와 같이 홍삼오일의 총폴리페놀 함량은 243 mg/100 g 이었다. 현재 홍삼오일에 대한 자료가 거의 없어 정확한 비교는 할 수 없으며, 한국 백삼을 열처리하여 얻은 추출물에서 gallic acid를 기준으로 측정한 총 폴리페놀 함량은 51.3 mg/g 추출물로 보고된 바 있다(Kang et al., 2011).

Elastase 저해활성

피부의 진피조직 속에는 collagen과 피부의 탄력성에 관련된 elastin이 그물망 구조를 형성하고 있는데, elastase가 elastin을 분해하여 피부의 그물망 구조 결함을 끊어지게 하여 주름생성의 원인이 된다(Kligman, 2000). 따라서 일반적으로 elastase 저해제는 피부주름을 개선하는 작용을 나타내고, ursolic acid 등이 elastase 저해제로 이용되고 있다(Tsuji et al., 2001). 홍삼오일의 elastase의 저해활성을 확인하기 위해 대조군으로 ursolic acid를 사용하고 홍삼오일을 0.6, 0.8 및 1.0%의 농도별로 희석하여 저해활성을

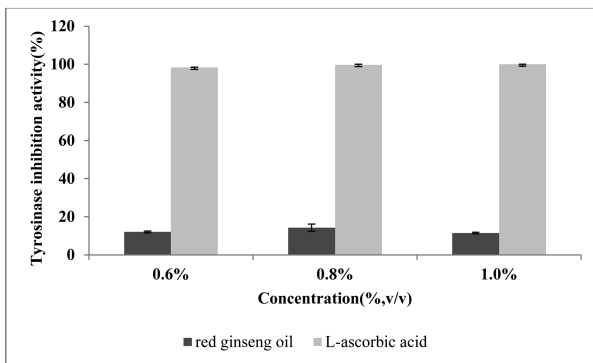


Fig. 2. Effect of red ginseng oil on tyrosinase inhibition activity. The data were expressed as mean \pm SD of three determinations.

측정한 결과 유의적인 효과가 없었다(data not shown).

Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase는 멜라닌 형성에 중요한 역할을 한다. 멜라닌은 자외선에 대해 피부보호를 할 수 있으나 과도하게 생성되었을 경우 피부에 색소 침착 되어 기미나 주근깨가 생긴다(Cabanes et al., 1994; Row et al., 2005). 따라서 일반적으로 피부 미백제 개발에 tyrosinase 활성을 억제하는 실험을 주로 사용한다(Imokawa & Mishima, 1981). 홍삼오일의 tyrosinase 저해활성을 측정하기 위해 홍삼오일을 0.6, 0.8 및 1.0%로 희석하여 사용하고, 대조군으로 L-ascorbic acid를 역시 동일한 농도로 희석하여 실험하였다. L-ascorbic acid는 90% 이상의 높은 tyrosinase 저해활성을 나타냈으나, 0.6%, 0.8% 및 1.0% 홍삼오일의 경우 각각 12.1%, 14.3%, 11.5%로 비교적 약한 tyrosinase 저해활성을 나타냈다(Fig. 2).

항균성 검사

수삼과 홍삼의 추출물은 그람양성균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis* 균주에 대한 항균활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Jeong et al., 2012). 또한 Lee et al.의 연구결과에 따르면 홍삼의 열수추출물은 그람양성균에 대한 항균력이 있으나, 에탄올 추출물의 경우에는 그람양성균과 그람음성균 모두에서 항균효과가 나타나지 않은 것으로 보고되었다(Lee et al., 2012). 본 실험에서 홍삼오일을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1% 농도별로 희석하여 그람양성균인 *S. aureus*와 그람음성균인 *E. coli*에 대한 항균활성을 조사한 결과, 생육억제 효과는 없는 것으로 나타났다(data not shown).

요 약

홍삼에서 사포닌 추출과정 중 부산물로 얻어지는 홍삼오일의 화학적 특성 및 화장품소재로서의 응용가능성을 알아보고자 하였다. Tween 80으로 희석한 1% 홍삼오일의 산가는 0.265, 과산화물가는 0.387, 요오드가는 0.64이었다.

DPPH free radical scavenging assay 결과, 1% 홍삼오일은 대조군인 동일 농도의 α -tocopherol에 비해 70% 정도의 항산화능을 나타내었다. 홍삼오일의 total polyphenol 함량은 243 mg/100 g이었다. Tyrosinase저해 활성을 측정한 결과, 홍삼오일은 대조군인 L-ascorbic acid에 비해 14% 정도의 활성억제 효과를 나타내었다. 홍삼오일에 의한 elastase 활성억제 효과는 거의 없었으며 홍삼오일의 *Staphylococcus aureus*와 *Escherichia coli*에 대한 생육억제 효과도 없었다.

참고문헌

- AOAC. 1990. Official Method of Analysis of AOAC INTERNATIONAL: AOAC Official Method" (2nd ed). Gaithersburg, MD, USA.
- Blois MS. 1997. determinations by the use of a stable free radical. J. Agric. Food Chem. 25: 103-107.
- Cabanes J, Chazarra S, Garcia-Carmona F. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. J. Pharm. Pharmacol. 46: 982-985.
- Chae HJ, Tark KM, Park KH, Son SM. 2009. Optimization of extraction conditions for polysaccharide using red ginseng Marc. J. Ginseng Res. 33: 337-342.
- Choi YJ, Choi IS, Kim MH, Cho HE, Song HJ, Cho EK. 2009. Inhibitory effect of ethanol extracts from pine buds (*Pinus densiflora*) on angiotensin converting enzyme, xanthine oxidase and nitric oxide synthase. J. Life Sci. 19: 1692-1636.
- Imokawa G, Mishima Y. 1981. Biochemical characterization of tyrosinase inhibitors using tyrosinase binding affinity chromatography. Br. J. Dermatol. 104: 513-539.
- Jeong MR, Choi MR, Park BH, Lim JY, Choi KM. 2012. Screening of antibacterial activities in local native plants and Korean Jinan red ginseng. In: Proceedings of the plant resources society of Korea conference. p. 129.
- Kang KS, Yamabe N, Kim HY, Okamoto T, Sei Y, Yokozawa T. 2007. Increase in the free radical scavenging activities of American ginseng by heat processing and its safety evaluation. J. Ethnopharmacol. 113: 225-232.
- KFDA. 2007. Korean Food Standards Codex. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea
- Kim E, Song JH, Park MJ, Kim YC. 1990. Effects of Panax ginseng on galactosamine-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Kor. J. Pharmacogn. 34: 341-347.
- Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49: 328-333.
- Kim YS, Kim R, Na MS, Choi DB. 2010. Effect of extraction process on the physicochemical characteristics of seed oil of *Camellia sinensis*. Appl. Chem. Eng. 21: 148-153.
- Kligman D. 2000. Cosmeceuticals. Dermatol. Clin. 18: 609-615.
- Kwak YS, Park JD, Yang JW. 2003. Present and its prospect of red ginseng efficacy research. Food Sci. Nutr. 8: 30-37.
- Lee HJ, Park SR. 2011. Antioxidative effect and active component analysis of *Quercus salicina* Blume extracts. J. Soc. Cosmet. Scientists Korea. 37: 143-152.

- Lee IS, Im NK, Jee KH, Yang SA, Kim HJ. 2008. Antioxidant effect of oil containing cellulase-treated red ginseng. *J. Life Sci.* 18: 323-328.
- Lee JW, DO JH. 2002. Extraction condition of acidic polysaccharide from Korean red ginseng Marc. *J. Ginseng Res.* 26: 202-205.
- Lee MJ, Choi YH, Kim SE, Huh J, Han YH. 2012. Antibacterial and antioxidative activity of roasted coffee and red ginseng mixture extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 320-326.
- Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. 1995. Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol. Pharm. Bull.* 18: 162-166.
- Paquot C, Hautfenne A. 1987. Standard method for the analysis of oils, fat and derivatives (7th revised) Blackwell Scientific Publication. London. p. 73.
- Park SK, Hong SK, Kim HJ, Kim BY, Kim TG, Kang JS, Kim DG. 2009. Cosmetic effect of *Angelica gigas* Nakai Root Extracts. *Kor. Chem. Eng. Res.* 47: 553-557.
- Park SN. 1997. Skin aging and antioxidants. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* 23: 75-132.
- Row KH, Kim EK, Li GH, Hong ES, Ahn SY, Jin YZ. 2005. Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 16: 348-353.
- Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takema Y, Imokawa G. 2001. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *J. Photochem. Photobiol.* 74: 283-290.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica.* 3981: 517-519.