

홍삼에 함유된 갈변물질 및 산성다당체에 대한 연구현황과 건강기능 식품 개발

도 재 호

KT&G 중앙연구원 인삼연구소

서 론

인삼의 효능 및 효과에 대한 연구는 Brekman 등이 인삼의 사포닌이 인체의 비특이적인 저항성을 증가시키며 이러한 효능을 Adaptogen설이라고 보고한 후 Shibata가 *Panax ginseng* C. A. Meyer, *Panax quinquefolium* L., *Panax pseudoginseng* var. *notoginseng* (Burk.) Hoo et Tseng과 일본삼을 대상으로 TLC에 의해서 saponin의 이동 pattern과 각 ginsenosides의 이름을 붙인 결과를 발표한 것이 계기가 되어 인삼 사포닌에 대한 연구가 활발히 진행되었다.

지금까지 알려진 사포닌의 효능 및 효과는 중추신경계에 대한 작용, 뇌기능 향진효과, 항발암 작용과 항암활성, 면역기능 조절작용, 항당뇨 작용, 간기능 향진효능, 심혈관 장애개선 및 항동맥경화 작

용, 혈압조절 작용, 갱년기 장애 개선 및 골다공증에 미치는 효과, 항스트레스 및 항피로작용, 항위궤양 및 항염증 작용, 마약해독 작용, 신장기능 장애에 대한 효과, 항산화활성 및 노화억제 효능, 방사선 장애 방어 효능 등이 알려져 있다. 이러한 효능들은 주로 ginsenoside 수준이나 PD, PT 및 total saponin 수준 또는 추출물 수준에서 수행된 결과이며, 일부이지만 비사포닌계 분획 및 물질수준에서의 연구결과이다.

따라서 본인은 홍삼 성분 중에서 많은 부분을 차지하고 있는 갈변물질의 이용 가능성 특히 식품학적인 측면에서 항산화성에 대한 약간의 연구 결과와 면역계에 영향을 미치는 산성다당체의 분석조건 확립 및 이의 활용 가능성에 대해서 수행한 연구 결과를 보고 드리고자 한다.

1. 갈변물질과 항산화 효과

홍삼은 증삼 후 건조하는 제조과정의 특이성 때문에 일어나는 비효소적 갈색화 반응이라고 추정되며 이 중에서도 Kim은 amino-carbonyl 반응과 polyphenol의 자동산화가 주원인이라고 추측하였다. 일반적인 갈변반응에 관한 연구는 주로 당과 아미노화합물을 대상으로 한 model system에 의한 연구가 많이 수행되었다. 이러한 model system에 의한 갈변반응 생성물이나 분획물을 이용한 항돌연변이원성, 아질산염 소거능, 특히 항산화성에 관한 연구가 많이 이루어졌다.

항산화제는 합성 항산화제와 천연 항산화제로 구분할 수 있으며 합성 항산화제는 다량 섭취하면 유해하다는 이유로 그 수요가 급격히 감소되고 있다. 천연 항산화제로서 tocopherol, sesamol, phenol

유도체, 단백질과 이의 가수분해물, 아미노산, flavonoids와 이의 유도체들, 향신료 및 페놀 화합물 등이 있는데, Yamaguchi 등이 식품의 가공, 저장 중에 식품성분들 간에 쉽게 일어나는 갈변반응 물질이 지질에 대한 항산화성에 있다고 보고한 이후로 이를 천연 항산화제로 이용하려는 연구가 많이 진행되고 있으며, 일본에서는 천연 항산화제로서 melanoidins을 사용하고 있다.

Melanoidins은 pH가 중성영역에서 강한 항산화력을 가지는 환원작용이 있는데 다음과 같은 작용에 기인한다고 하였다. 즉, melanoidins의 환원성 성분에 의한 radical scavenger 작용, Maillard 반응물에 의한 과산화물의 분해작용, Maillard 반응에 의한 중합물의 금속봉쇄작용과 시너지 효과, 함질소화합물에 의한 질소원자의 유리전자대로부터 proton 이동작용 등에 의한다.

인삼의 항산화성에 대한 연구는 maltol이 ferric ion과 의 chelating에 의한 항산화 효과와 oxygen radical에 의해서 유도된 조직손상에 미치는 maltol의 효과, 홍삼, 백삼, 사포닌 및 사포닌 산가수분해물의 항산화관련 효소활동에 미치는 영향, 인삼 물 추출물을 장기간 (24개월) 동물에 투여했을 때의 항산화 작용은 인삼에 함유되

어 있는 여러가지 성분들의 조화에 의한 정상화 효과라는 가설, 장기 저장된 홍삼의 항산화 효과, 홍미삼 60% ethanol 추출물의 항산화 효과, 홍삼 분획물 또는 사포닌의 항산화 효과 등이 보고되었다.

따라서 우리들은 홍삼의 가장 특징적인 것이 색상의 변화라는 것에 초점을 맞추어 몇 가지 실험을 수행하였다. 백삼분말을 정제수로 70°C에서 추출한 뒤 100°C에서 갈색화 반응을 시키면서 경시적으로 갈변의 정도와 항산화능을 조사한 결과, 갈색도와 항산화능이 거의 비례하면서 증가하였고 증삼 시간 별로 홍삼을 제조하고 나서 갈색도와 항산화능을 조사한 결과도 model system과 거의 유사한 결과를 나타내었다. 갈변물질을 투석하여 투석 내액과 외액의 갈색도와 항산화능을 조사한 결과 투석 외액이 내액보다 갈색도는 낮았지만 더 강한 항산화능을 나타내었다. 갈변반응 생성물과 백삼 및 홍삼의 75% ethanol 추출물을 DPPH에 대한 수소공여능을 조사한 결과, 백삼 추출물은 DPPH에 대한 수소공여능이 거의 없었으나 홍삼추출물과 갈변반응 생성물은 매우 강하였다. 특히 갈변반응 생성물은 5mg/ml의 농도에서 BHA(2x10⁻⁴ M)와 유사한 수준의 수소공여능을 나타내었다.

홍삼갈변을 촉진하는 조건을 조

사하기 위하여 수삼에 여러 가지 당류, 아미노산류 및 무기 질소원을 처리하여 증삼한 후 갈색도를 조사한 결과 당류 중에서는 maltose와 glucose가 강한 갈변촉진작용을 나타내었고, 아미노산류 중에서는 염기성 아미노산인 histidine, lysine 및 arginine이 강하게 촉진하였다. 무기질소 화합물 중에서는 urea 및 ammonium bicarbonate가 비교적 강하게 촉진하였다.

백삼 물 추출물을 100°C에서 120시간까지 열처리하여도 갈색화 반응은 계속되었고 갈변에 대한 활성화 에너지는 약 16kcal/mole, Q10값은 70~80°C에서는 1.90, 80~90°C에서는 1.67, 90~100°C에서는 1.46이었다. 인삼사포닌중에는 ginsenoside-Re가 열에 불안정하였으며, diol계 사포닌은 비교적 열에 안정하였다. Choi등은 홍삼분말에 증류수를 가한 뒤 여기에 여러 가지 당류와 아미노산을 첨가하여 갈색화 반응을 시킨 결과, 당류보다는 아미노산을 첨가했을 때 갈변촉진 효과가 뚜렷하였고 최종 농축물의 경우 아미노산류의 촉진 효과는 arginine, histidine, glycine, alanine, lysine등의 순이었고, 당류의 촉진 효과는 glucose, fructose 등의 순으로 나타났다고 보고하였다. 그리고 홍삼의 갈색화 반응은 약알칼리

성 상태에서 갈변이 촉진되는 경향이었고, citric 및 succinic acid와 같은 유기산류는 유기산 단독보다는 glucose 또는 glutamic acid와 혼합상태에서 갈변반응을 더 촉진하였다. 자외선 조사도 홍삼건조 초기에 갈변을 촉진하였다.

홍삼에 함유되어 있는 주된 수용성 갈변물질은 2종류의 저분자 물질과 2종류의 고분자 갈변물질로 구분되어 적어도 4종류의 갈변물질이 존재함을 밝혔고, 홍삼의 갈색화 반응은 낮은 온도 (50~80°C)에서 증삼할 때에는 효소적 갈변반응이 관여하고 그 이상의 온도에서는 비효소적 갈색화 반응이 일어나며 100°C에서 60~90분 정도 증삼했을 때 가장 크게 촉진되었으며 홍삼의 갈변물질은 대부분 수용성 물질이며 비극성 갈변 물질은 1~2%에 불과하였다. 홍삼 물 추출물에 n-butanol을 가하여 지용성 물질을 포함한 사포닌류를 제거하고 농축하여 얻은 수용성 갈변물질을 진공상태에서 밀봉한 다음 100°C에서 20일간 열처리한 후 Bio-Gel P-30 column chromatogram 패턴을 조사한 결과, 20일이 경과할 때까지 고분자 및 저분자성 갈변물질의 양은 계속 증가하였고 고분자성 갈변물질의 갈색도는 약 4배, 저분자성 갈변물질의 갈색도는 약 1.6배 정도 증가하였다.

고려홍삼의 수용성 갈변물질을 투석하여 투석내액 (L)과 외액으로 분리하고 외액은 다시 column chromatography를 행하여 S-1, S-2로 구분하여 부분적인 구조분석을 행한 결과, L과 S-1에서 glucose와 xylose가 확인되었고 S-2에서는 fructose가 추가적으로 확인되었다. 그리고 L은 13종의 아미노산, S-1에서는 10종 및 S-2에서는 7종의 아미노산이 확인되었다. 또한 Sephadex G-25 column chromatography에 의한 이들 수용성 갈변물질의 분자량을 조사한 결과, S-2는 약 2,000정도, S-1는 약 3,800 그리고 L은 약 4,600정도인 것으로 밝혀졌다.

홍삼에서 분리한 수용성 갈변물질인 L, S-1 및 S-2의 항산화 활성에 대해서 조사하였는데 최종농도가 0.05%의 농도에서 DPPH 수소공여능은 L, S-2, S-1의 순으로 강하였고, hydrogen peroxide 소거능은 L, S-1, S-2의 순으로 나타났다. 실제로 linoleic acid를 이용하여 ox-brain이 자동산화에 의해 생성되는 MDA 생성 억제능 실험에서도 S-2, S-1, L의 순으로 나타났다. 그리고 흰쥐의 간 microsome 분획을 사용하여 효소적인 과산화지질 생성

system인 Fe²⁺ ADP/NADP system과 비효소적인 과산화지질 생성 system인 cumene hydroperoxide system에서 S-2가 가장 강한 항산화활성을 보였으며 S-1과 L은 비슷한 활성을 나타내었다. 그리고 흰쥐의 미토콘드리아 분획을 이용하여 항산화 활성을 조사한 결과 L, S-1, S-2의 순으로 나타났으며 산소 소모율과 단백질 산화에 있어서는 L이 가장 적게 일어났고 그 다음이 S-1, S-2의 순으로 나타났다.

최근에 갈변물질 (L, S-1, S-2)은 항산화활성 이외에 항암활성과 관계된 면역기능 물질중의 하나이며 multifunctional cytokine인 tumor necrosis factor- α (TNF- α , monocyte/macrophage-derived serum protein)의 생성을 촉진한다고 보고하였는데, L, S-1 및 S-2 모두 LPS 부재하에서 ratperitoneal macrophages로부터 TNF- α 의 생성을 농도 의존적 (1~100 μ g/ml)으로 증가시켰으며 여러 가지 ginsenosides들은 LPS 부재하에서는 TNF- α 생성에 영향을 미치지 않음), 그 효과는 S-1 \geq S-2 \gg L의 순이었다. LPS (1 μ g/ml) 존재하에서는 total saponin과 ginsenoside-Rc는 10-100 μ g/ml의 농도에서 TNF- α 의 생성을 촉진하였으며, 갈변물질 L을 제외한 S-1과 S-2에 의해 유도된



TNF- α 생성을 total saponin과 ginsenoside-Rc는 상당히 촉진하였다고 보고하였다.

지금까지의 결과를 종합해 보면 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변 물질은 반응 system에 따라 항산화능의 차이는 있지만 기존의 천연 항산화제나 합성 항산화제와 비교해도 손색이 없을 만큼 그 활성이 크다고 생각되며, 항산화활성 이외의 여러 가지 생리활성에 대해서도 지속적으로 연구되어야 할 것으로 판단된다.

2. 산성다당체와 면역조절 기능

인삼에 함유되어 있는 성분 중에서 가장 많은 비율을 차지하고 있는 물질은 당류이며 채굴 시기나 연근별 그리고 분석조건에 따라 차

이가 나겠지만 Min 등은 6년근 인삼에 약 51%가 함유되어 있다고 보고하였으며, pectin질의 함량은 계절에 따라 차이가 많은데 6년근의 경우 4.46~6.11% 정도가 함유되어 있고 인삼잎에도 채취시기와 연근에 따라 크게 차이가 나며 약 5~17% 정도 존재한다고 보고하였다. Pectin을 구성하고 있는 구성 성분으로는 galacturonic acid가 96~98% 정도를 차지하고 있으며, 그 외 glucose, galactose, arabinose, rhamnose 및 xylose 등으로 구성되어 있다고 보고하였다. 한편 Gao등은 인삼 뿌리 또는 잎으로부터 다당체를 분리하였는데 뿌리에는 주로 pectins과 glucans이 함유되어 있고, 잎에는 주로 pectin과 heteroglycans이

함유되어 있으며 이들 다당체가 anti-complementary activity가 있다고 보고하였다.

홍삼 산성다당체의 약리효능에 대한 연구는 Okuda교수로부터 시작되었다고 할 수 있는데, Okuda 교수팀은 간 또는 난소종양 환자의 복수나 악성 임파종 환자의 늑막액에서 in vitro 실험으로 쥐의 adipose tissue slices로부터 지방산 유리를 이끌어내는 물질을 간암 환자의 복수액으로부터 분리? 정제하여 “Toxohormone-L”이라고 명명하였으며 SDS 전기영동상에서 분자량이 약 70,000정도이며 N 말단에 aspartic acid를 가지고 있는 단백질이라고 하였다. 이 lipolytic factor를 외측내실 (제3 뇌실)에 주사하면 사료와 물의 섭

취가 현격히 줄어든다고 보고하였으며, toxohormone-L의 지방동원에 의한 지방산 유리를 저해하는 물질이 홍삼성분 중에 있으며 그것이 ginsenoside-Rb2와 산성다당체라고 하였다. 즉 홍삼에 함유되어 있는 산성다당체는 toxohormone-L에 의해서 유도된 지방분해를 억제하고 또 식욕증추 등에 작용해서 식욕억제 등과 같은 anorexia 증상을 개선하는 2가지 효능을 가지고 있다는 것이다. 이 산성다당체 성분의 구조를 동정한 결과 pectin-like α -1, 4-polygalacturonan 골격을 갖는 물질이며, 분자량은 약 34,600, 구성당 성분으로는 arabinose가 2.1%, rhamnose 11.6%, glucose 13.9%, galactose 12.2% 그리고 galacturonic acid가 60.3%를 함유하고 있으며, 이 물질과 관련하여 소화기관에 악성 tumor를 가진 환자 113명을 대상으로 홍삼분말을 복용시킨 결과 68명(60.2%)이 개선되었고, 38명(33.6%)이 변화가 없으며 7명(6.2%)만이 더 악화되었다고 보고하였다.

그리고 Lee 등은 Toxohormone-L이 유도된 지방분해 억제활성을 홍삼에서 분리, 정제한 PG₄ fraction과 pectin 관련물질들과 비교, 조사한 결과 pectic acid가 가장 강하였고 그 다음이 PG₄ fraction, apple pectin,

citrus pectin이며 산성다당체의 구성 unit인 galacturonic acid와 glucouronic acid는 PG₄ fraction의 약 1/4 정도의 활성을 나타내었다고 밝혔다. 또 4, 5, 6년근 홍삼과 백삼 물 추출물이 toxohormone-L이 유도된 지방분해 억제활성이 백삼 추출물보다 홍삼 추출물이 더 강하였다고 보고하였고, toxohormone-L이 유도하는 체지방분해에 미치는 백삼 및 홍삼 산성다당체 성분의 영향과 혈압 상승과 밀접한 관계가 있는 angiotensin converting enzyme 활성에 미치는 영향 등이 보고되었다.

한편 Kim 등은 홍삼을 pH 9.0 정도에서 추출한 추출액으로부터 antithrombin active polysaccharide를 분리하였는데 분자량이 약 177kDa 정도이며, 40% 정도의 uronic acid를 함유하는 산성다당체이며 thrombin에 의한 fibrinogen의 응고를 저해하였다고 보고하였다. 또 Song 등은 산성다당체라고 밝히지는 않았지만 분획물에 상당량의 산성다당체가 존재할 것으로 예상되는 다당체 분획물이 생쥐의 조혈촉진 활성이 우수하다고 보고하였는데, 75% 에탄올에 침전되는 분획에서 가장 높은 임파구 증식활성을 보였고, 생쥐를 이용한 생체실험에서 다당체 분획물이 골수세포, 비장세포 및 GM-

GFU (granulocyte macrophage-colony forming unit)가 증가되는 결과를 얻어 화학요법제나 방사선 치료시 보조요법제로 사용할 수 있는 가능성이 있다고 하였다.

홍삼 산성다당체의 또 다른 생리활성에 대한 연구는 Lee 등에 의해서 수행되었는데 알코올 증독 동물의 간장 알코올 해독계에 미치는 영향, 알코올성 고지혈에 미치는 영향, 아세트아미노펜 처리 흰쥐의 대사기능에 미치는 영향 등이 있다. 최근에는 버섯 등에서 분리한 다당체가 면역증강 또는 항암활성이 있다는 연구보문들과 마찬가지로 홍삼 산성다당체가 항암 또는 면역기능 조절작용이 우수하다는 연구내용이 많이 발표되어 고려삼의 효능을 알리는데 매우 큰 역할을 하고 있다고 판단된다.

1990년에 Lee 등이 보고한 바에 따르면 산성다당체 함량은 백삼이 약 5~6%, 홍삼은 동체가 약 15%, 미삼이 13% 정도 함유되어 있다고 밝혔는데 여기에서 사용된 방법은 인삼분말을 methanol로 추출하고 나서 잔사에 물을 가하여 추출하여 동결건조하고 이 동결건조물에 ethanol을 가하여 ethanol 가용성 성분을 제거하고, 투석과정을 거쳐 동결건조한 후 무게를 측정하여 얻은 결과이다.

따라서 우리들은 간단히 측정할 수 있는 비색측정 방법인 H₂SO₄-

carbazole 방법을 도입하여 산성다당체의 정량방법, 추출조건 및 안정성 등을 조사하였다. 홍삼에 함유되어 있는 산성다당체가 pectin 유사물질이며 그리고 또 홍삼에는 전분질이 pectin질의 양보다 훨씬 많기 때문에 전분질이 산성다당체 정량에 영향을 미치는지를 조사한 결과, pectin과 동량의 전분질이 존재할 때에도 별 영향을 미치지 않았다. pectin과 여러 가지 다당체, 단백질, DNA 및 saponin 등이 동량으로 존재할 경우 xylan, inulin 및 DNA를 첨가했을 때에는 35%, 45% 및 43%가 더 많이 detect되었고, albumin은 19%, saponin은 12% 정도가 적게 detect되었다.

홍삼 ext에 ethanol을 가하여 산성다당체 성분을 침전시키고 그 침전물을 투석한 후 건조하여 얻은 분획과 순수 분리한 산성다당체(일본 Okuda 교수로부터 분양받은 것)를 각각 25, 50 및 100 μ g/ml의 농도가 다른 용액내의 산성다당체 함량을 비교한 결과, 어느 농도에서든 투석과정을 거친 조산성 다당체 분획은 순수 산성다당체의 약 60%에 해당되는 결과를 얻었기 때문에 비교적 정확하고 재현성이 있는 방법이라고 판단되어 현재까지 이 방법을 이용하고 있다.

추출온도에 따른 산성다당체 함량은 100°C까지 계속 증가하는 경

향이었으며, 산성다당체를 침전시키기 위한 ethanol의 최종 농도는 80% 정도가 적당하였고 ethanol 침전횟수를 많이 할수록 회수되는 산성다당체의 양은 급격히 감소되므로 침전횟수는 1회가 적당하다. 홍삼 물 추출물을 100°C에서 4시간 열처리하여도 거의 분해가 일어나지 않았으며, pH 5~12까지 80°C에서 1시간 처리하여도 변화가 거의 없었다.

한국홍삼, 백삼, 중국홍삼, 미국삼 및 전칠삼에 함유되어 있는 산성다당체 함량을 비교한 결과 홍삼류는 비슷한 수준이었고 백삼류에 있어서는 미국삼(야생) ≫ 한국백삼 ≫ 전칠삼 ≫ 미국삼(재배)의 순으로 나타났다. 백삼분말을 85°C에서 1~3시간 동안 추출하여도 시간별로 양적인 변화는 없었다. 또 4, 5, 6년근 백삼과 4년근 백삼의 크기별(25지, 30지, 50지)로 산성다당체 함량을 비교한 결과 연근별이나 크기에 따라 그 양은 차이가 없었으며, 정상홍삼과 생내백삼 및 뇌두에는 거의 비슷한 수준의 산성다당체가 함유되어 있었으나 인삼 잎이나 뿌리삼의 표피에는 매우 적게 함유되어 있었다. 이러한 추출조건과 홍미삼 알코올 추출박을 이용하여 산성다당체가 많이 함유된 홍삼엑기스 제조방법과 홍삼박으로부터 산성다당체 추출조건을 검토하였다.

결론

우리나라의 건강기능식품법에서는 인삼 또는 홍삼의 기능이 자양강장, 면역증진 및 원기회복으로 한정되어 있다. 지금까지 홍삼에 함유된 갈변물질과 산성다당체에 대해서 많은 연구가 수행되었는데, 갈변물질은 항산화활성과 면역증진기능, 그리고 산성다당체는 소화기관암의 증상개선, 면역기능증진, 혈압개선, 혈액응고방지, 조혈기능, 알코올해독(간기능 회복, 고지혈 개선 등) 등의 효능이 우수하다고 보고되었다. 이러한 관점에서 현재 인삼과 홍삼의 3가지 기능성 외에 항산화활성이라든지 그 외 더 많은 기능성을 추가할 필요성이 있으며, 또 홍삼에 함유되어 있는 활성성분을 적극적으로 이용하여 기준규격형제품은 물론이고 질병위험감소에 대해서 기능성을 표시할 수 있는 개별인정형 제품이나 나아가서는 일반 또는 전문의약품으로 개발하여 홍삼의 이용 가능성을 극대화시키고 국제적으로 경쟁력이 있는 한국인삼으로 그 위상을 제고시켜야 한다고 생각한다. 🌀