

# 흑인삼엽의 제조 및 항산화 활성 평가

김상겸 · 김의겸 · 이지현 · 조수현 · 신귀남 · 김룡국 · 오정민 · 명창선 · 오한진<sup>1</sup> · 김동희<sup>2</sup> · 윤미영<sup>2</sup> · 윤재돈<sup>3</sup> · 노성수<sup>4</sup> · 박용진<sup>5</sup> · 서영배<sup>6</sup> · 송규용\*

충남대학교 약학대학, 1: 관동대학교 의과대학, 2: 대전대학교 한의과대학 병리학교실,  
3: 충청남도미래전략팀, 4: 대구한의대 한의과대학 본초학교실, 5: 백남한의원, 6: 대전대학교 한의과대학 본초학교실

## Preparation of Black *Panax ginseng* Leaf and Evaluation of its Antioxidative Effect

Sang Kyum Kim, Eui Keom Kim, Jee Hyun Lee, Soo Hyun Cho, Gui Nan Shen, Jin Long Guo, Jung Min Oh, Chang Seon Myung, Han Jin Oh<sup>1</sup>, Dong Hee Kim<sup>2</sup>, Mi Young Yun<sup>2</sup>, Jae Don Yun<sup>3</sup>, Seong Soo Roh<sup>4</sup>, Yong Jin Park<sup>5</sup>, Young Bae Seo<sup>6</sup>, Gyu Yong Song\*

College of Pharmacy, Chungnam National University,  
1: Cheil General & Women's Health Care Center, College of Medicine, Kwandong University,  
2: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University,  
3: Chungcheongnam-Do Provincial Government, Future Strategy Team,  
4: Department of Herbalogy, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University,  
5: Baeknam Oriental Medical Hospital, 6: Department of Herbalogy, College of Oriental Medicine, Daejeon University

The purpose of this study is to prepare black *Panax ginseng* leaf (PGL) and evaluate its antioxidative effect. In order to make black PGL, the raw PGL was successively steamed at 95°C for 3 hr nine times. The antioxidant activities of total saponins (Sa) from PGL and black PGL against peroxy radicals and peroxy nitrates were determined by the total oxy-radical scavenging capacity (TOSC) assay. Specific TOSC values for black PGL-Sa against peroxy radicals and peroxy nitrates were 2.3-fold and 2.1-fold of PGL-Sa, respectively, and 2.2-fold and 5.2-fold of glutathione, a positive control antioxidant, respectively. The black PGL-Sa exhibited stronger antioxidative effect than PGL-Sa. The main ginsenosides of black PGL were Rg<sub>3</sub>, Rk<sub>1</sub> and Rg<sub>5</sub>. Among the saponins in black PGL, the amount of ginsenoside Rg<sub>3</sub> was examined by HPLC. 22.12 mg of ginsenoside Rg<sub>3</sub> was obtained from 1g of dried black PGL.

Key words : *Panax ginseng* leaf, Black *Panax ginseng* leaf, Antioxidative effect, TOSC assay, Ginsenoside Rg<sub>3</sub>

### 서 론

Well-Being 이라는 단어가 많은 사람들의 관심인 요즘, 현재를 살고 있는 대다수의 사람들의 초미의 관심사는 건강일 것이다. 이렇게 건강에 대한 관심이 증가되면서 질병이 발생했을 때 그것을 치료하는 것에 대한 관심뿐만 아니라 질병의 원인을 밝히고 그것들을 없애기 위한 다양한 연구와 노력이 진행되고 있다.

다양한 질병의 원인으로 밝혀지고 있는 자유라디칼(free radical)은 특히 성인병, 노화의 원인물질이다. 자유라디칼은 적

어도 한 쌍의 짝을 짓지 않는 전자를 포함하는 것을 말한다. 원자 및 분자는 기본적으로 어떤 물질과 전자를 공유하여 안정화 되려고 하고, 생체 내에 수많은 자유라디칼 등 활성산소종을 생성하게 된다<sup>1)</sup>. 천연물질에서 유래되거나 혹은 합성의 방법으로 만들어진 항산화제는 자유라디칼 발생을 억제하고 이러한 질병들을 막기 위해 사용되고 있다. 여러 천연물중 인삼(人蔘)의 단일 진세노사이드의 항산화 효과에 관한 연구가 진행되고 있다<sup>2,3)</sup>.

인삼(人蔘)은 오가피과(Araliaceae) 인삼속에 속하는 다년생 초본류로서 한반도를 비롯하여 동아시아로부터 시베리아 동부, 북아메리카 지역에 걸쳐 분포되고 있다<sup>4)</sup>. 특히 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 중국 본초학의 원전인 ‘神農本草經’에 불로장생의 약효를 지닌 上藥으로 등재된 이래 수천년 간 민간과

\* 교신저자 : 송규용, 대전시 유성구 궁동 220, 충남대학교 약학대학

· E-mail : gysong@cnu.ac.kr, · Tel : 042-821-5926

· 접수 : 2008/03/08 · 채택 : 2008/03/27

한방의학에서 사용되고 있다<sup>5)</sup>. 특히 고려인삼은 타국의 인삼보다 탁월한 효능을 나타낸다고 알려져 있어 각국의 소비자들에게 많은 사랑을 받아왔다. 전통 약재로 오랜 시간 사용되어온 고려인삼에 대한 과학적이고 합리적인 연구방법을 통하여 우수한 효능적인 측면들이 밝혀지고 있다. 그러한 인삼의 약리학적 효과로는 자양·강장효과, 성기능 및 생식기능 부진 개선 효과, 항고혈압 및 항동맥경화 효과, 조혈기능 항진 및 빈혈치료 효과, 혈당대사 및 당뇨병 개선 효과, 항암효과, 간장기능 부진 개선 효과, 숙취해소 효과, 기생충 감염 방지 효과, 진통·소염 작용 등이 있다<sup>6)</sup>.

이러한 인삼의 약효를 나타내는 주요한 성분은 dammarane계 triterpene인 aglycone에 당류가 결합된 배당체인 saponin으로 알려져 있다. 인삼근에는 대략 3-5% 정도의 조사포닌이 함유되어 있으며 인삼에 대한 연구는 대부분 인삼근에 국한되어 있다. 하지만 근래 들어 인삼근 뿐만 아니라 인삼엽 및 인삼꽃봉오리에 대한 관심이 증가되고 있고 이에 대한 연구가 진행되고 있다<sup>7,8)</sup>. 특히 인삼엽의 조사포닌 함량은 13-18%로써 인삼근보다 조사포닌의 양이 3-5배나 되고, 화학구조도 인삼근과 동일할 뿐만 아니라 인삼근에는 존재하지 않는 성분들도 존재한다고 보고되어 있다<sup>9)</sup>.

이와 같이 인삼의 활성을 나타내는 사포닌 함량이 인삼근보다 월등히 높아 인삼엽은 기능성식품 및 의약적 자원으로서 경제적 가치가 있음에도 불구하고 대부분 사료로 사용되거나 폐기되고 있는 실정이다.

최근 인삼의 연구동향은 성분을 바탕으로 한 활성위주의 연구가 수행되고 있다. 이에 본 연구자는 최근에 많은 관심을 보이고 있는 흑삼을 개발한 바 있다<sup>10)</sup>. 흑삼의 가장 큰 특징은 백삼이나 홍삼에 비해서 항암효과 등 다양한 약리학적 효과를 나타내는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>를 다량 함유하고 있다는 것이다. Ginsenoside Rg<sub>3</sub>는 백삼에는 거의 존재하지 않고 홍삼에는 미량 존재하지만 인삼을 증숙하여 흑삼을 제조하는 과정 중에 ginsenoside Rb<sub>1</sub>등과 같은 사포닌이 열에 의해서 가수분해 되어 ginsenoside Rg<sub>3</sub>가 생성되는 것이다.

이에 본 연구는 사포닌 함량이 높은 인삼엽의 특징을 바탕으로 하여 흑삼의 제조 방법을 인삼엽에 적용하여 흑인삼엽을 제조하여 활성이 뛰어난 유효 사포닌인 ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 함량을 증숙하지 않은 인삼엽과 비교 분석하고자 하였다. 또한 인삼엽 및 증숙인삼엽 각각의 조사포닌을 얻어 그들의 항산화 효과를 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 인삼엽의 전처리

충남 금산 일대에서 채집한 신선한 인삼엽을 흐르는 물에서 3회 세척하고 초음파 세척기에서 2회 세척하였다. 통풍이 잘되는 곳에서 직사광선을 피하여 완전히 건조시켰다. 완전 건조시킨 인삼엽을 분쇄기를 이용하여 균일하게 잘게 부수었다.

#### 2) 인삼엽의 증숙방법

인삼엽의 증숙은 위의 잘게 부순 인삼엽을 흑삼의 제조방법<sup>10)</sup>과 동일한 방법으로 증숙하여 흑인삼엽을 제조하였다.

#### 3) 인삼엽 및 흑인삼엽의 조사포닌 추출

인삼엽 및 흑인삼엽 각각 50 g을 취하여 80% 메탄올에 넣고 실온에서 하룻밤 방치한 뒤 6시간 환류 추출하여 얻은 용액을 실온까지 냉각시킨 후 용액을 여과하여 감압 농축 시켰다. 동일한 방법으로 총 3회 추출하여 인삼엽 추출물과 흑인삼엽 추출물을 얻었다. 이렇게 얻은 인삼엽 및 흑인삼엽 메탄올 추출물을 500 ml의 물에 현탁시키고, 500 ml의 에테르로 2회 추출하여 비극성 물질을 제거하였다. 여기에서 얻은 물층을 물로 포화된 부탄올을 사용하여 3회 추출하여 이로부터 얻어진 수포화된 부탄올 층을 감압건조하여 인삼엽 추출물 및 흑인삼엽 추출물을 각각 얻었다. 이렇게 얻은 각각의 인삼엽 및 흑인삼엽 조사포닌 추출물을 항산화 효과 측정 및 ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 함량을 확인하기 위한 시료로 사용하였다.

### 2. 항산화 활성 측정

항산화 활성의 측정은 Winston<sup>11)</sup> 등에 의해 제안되고 같은 저자들에게 의해 수정된<sup>12)</sup> TOSC(Total Oxidant Scavenging Capacity)방법에 준해서 실시하였다.

#### 1) 사용시약

Ascorbic acid, KMBA, reduced glutathione (GSH), uric acid, diethylenetriaminepenta acetic acid (DTPA), ABAP, 3-morpholinolysidnonimine-N-ethylcarbamide (SIN-1)은 Sigma 제품을 사용하였다.

#### 2) 산소라디칼(Oxyradical) 발생 방법

Peroxyl radical 은 ABAP(2,2'-azobisamidinopropane) 을 3 5°C에서 thermal homolysis 시켜 발생시켰다<sup>11)</sup>. Peroxynitrite 는 SIN-1 의 자발적인 분해 현상을 통해 발생시켰다. 발생한 각각의 활성 산소 종은 KMBA ( $\alpha$ -keto- $\gamma$ -methiolbutyric acid)와 반응하여 에틸렌 가스를 발생하며 이 반응은 일정 범위 내에서는 온도에 따른 차이를 나타내지 않는 것으로 보고된 바 있다.

#### 3) 가스 크로마토그래피를 통한 실험

반응은 최종 부피 1 ml 의 반응액을 고무마개로 밀폐된 10 ml 용기에 넣어 진행시켰다. 에틸렌 가스 생성의 측정은 가스 크로마토그래피로 분석하여 실시하였다. Propack N 칼럼 과 불꽃이온화 검출기(FID : Flame Ionization Detector) 를 장착한 가스 크로마토그래피를 사용하였다. 또한 에틸렌의 검출을 위해 오븐 온도는 60°C, 주입부는 180°C, 검출기는 180°C로 고정하였다. 이 동상으로는 헬륨을 30 ml/min 의 속도로 칼럼으로 주입하였다. 반응용기의 에틸렌 가스를 정량하기 위해 head-space technique 으로 150  $\mu$ l 를 gas-tight 주사기로 취하여 주입부에 넣었다.

#### 4) 실험 결과 데이터 처리 방법

실험 측정치로부터 구한 그래프를 적분하여 곡선하면적(AUC : Area Under the kinetic Curve)을 얻고 TOSC는 아래의 식으로부터 산출하였다.

$$TOSC = 100 - (\int SA / \int CA \times 100)$$

$$\int SA = \text{시료의 측정 곡선의 적분 면적}$$

$\int CA$  = 대조군의 측정 곡선의 적분 면적

따라서, TOSC 를 전혀 갖지 못하는 시료의 경우에는  $\int SA / \int CA = 1$  이 되며 TOSC = 0 의 값을 갖는다. 반대로  $\int SA \rightarrow 0$  일때는, TOSC 값이 100 에 근접하게 된다. Specific TOSC 값은 얻어진 TOSC 값을 시험물질에 농도에 따라 좌표화하고 SigmaPlot 2000 프로그램의 선형회귀분석(linear regression analysis)을 통해 기울기를 얻은 후 이 값을 시험물질의 농도로 나누어 구하였다. Specific TOSC 값은 평균  $\pm$  표준편차로 표시하였다. 시료의 TOSC 값은 대조군의 값과 비교하게 되므로 이론적으로 기기의 감도나 사용시약, 기타 반응조건에 영향을 받지 않는다.

3. 흑인삼엽의 Ginsenoside Rg<sub>3</sub> 성분 분석

인삼엽 및 흑인삼엽에 존재하는 인삼사포닌의 성분을 분석하기 위하여 제조한 인삼엽 및 흑인삼엽 조사포닌 20 mg을 메탄올 1 ml에 녹인 후 0.45  $\mu$ m 필터로 여과한 여액을 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. 사용한 HPLC 장치는 Shimadzu LC-6AD(Japan) 이었으며, 컬럼은 Varian(5  $\mu$ m, 250 $\times$ 4.6 mm) 제품을 사용하였다. 이동상으로 사용한 A 용매는 CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O:5%acetic acid=15:80:5, B 용매는 CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O=80:20 이었다. 용매는 gradient elution system으로 0분(0%B), 0-10분(30%B), 10-25분(50%B), 25-40(100%B), 40-50분(100%B), 50-53분(0%B), 53-56분(0%B)으로 조절하였다. 전개온도는 40℃ 이었고 유속은 1ml/min이었으며, 검출기는 ELSD-LT (Shimadzu, Japan) 를 사용하여 사포닌의 성분을 분석하였다.

결 과

1. 흑인삼엽의 제조

인삼근을 이용한 흑삼의 제조방법인 구증구포의 방법<sup>10)</sup>을 이용하여 인삼엽으로부터 흑인삼엽을 제조하였다. Fig. 1과 같이 증숙하지 않은 인삼엽은 전형적인 녹색을 띠고 있는데 비해서 제조한 흑인삼엽은 색깔은 흑갈색이었다.



Fig. 1. Photography of Panax ginseng leaf. (A) raw Panax ginseng leaf, (B) black Panax ginseng leaf

2. 인삼엽 및 흑인삼엽 조사포닌의 양

인삼엽의 조사포닌의 경우 건조된 인삼엽 50 g 으로부터 17.98 g 의 80% 메탄올 추출물을 얻었다. 여기서 얻은 80% 메탄올 추출물을 사용하여 수포화 부탄올 추출물인 인삼엽 조사포닌 9.19 g (18.38%)을 얻었다. 또한 흑인삼엽의 조사포닌의 경우 증숙 인삼엽 50 g 을 사용하여 80% 메탄올 추출물 16.80 g 을 얻고 이것을

모두 사용하여 수포화 부탄올 추출물인 흑인삼엽 조사포닌 9.02 g (18.04%)을 얻었다. 즉, 인삼엽 및 흑인삼엽의 조사포닌의 양은 거의 비슷하였다.

3. HPLC에 의한 인삼엽 및 흑인삼엽 조사포닌의 성분 분석

인삼엽 및 흑인삼엽의 조사포닌의 성분을 살펴보기 위하여 HPLC를 이용하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 인삼엽 조사포닌과 흑인삼엽 조사포닌의 성분에는 분명한 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 즉, 인삼엽에 존재하는 주요한 조사포닌은 인삼근과 마찬가지로 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re 및 Rb<sub>1</sub>임을 알 수 있었다. 이에 비해서 흑인삼엽의 경우에는 주로 인삼엽에 주로 함유되어 있는 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re 및 Rb<sub>1</sub>이 줄어들면서 백삼에 존재하지 않는 새로운 사포닌인 흑삼과 마찬가지로 여러 가지 활성을 나타내는 Rg<sub>3</sub>, Rg<sub>5</sub> 및 Rk<sub>1</sub>이 다량 생성됨을 알 수 있었다.

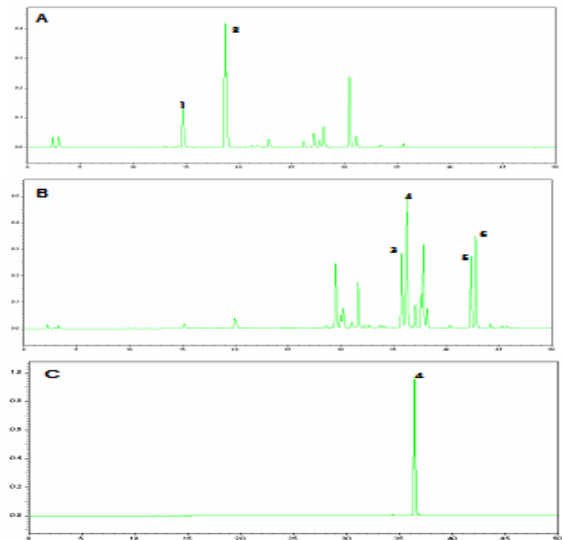


Fig. 2. HPLC Analysis of Panax ginseng leaf. (A) raw Panax ginseng leaf, (B) Black Panax ginseng leaf, (C) Standard Rg3(R) ; 1: Rg<sub>1</sub> and Re, 2: Rb<sub>1</sub>, 3: Rg<sub>3</sub>(S), 4: Rg<sub>3</sub>(R), 5: Rk<sub>1</sub>, 6: Rg<sub>5</sub>

4. 흑인삼엽에 존재하는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>의 함량

인삼엽에는 존재하지 않지만 증숙과정을 거치면서 생성되는 즉 흑인삼엽에만 특이적으로 다량 존재하는 사포닌인 ginsenoside Rg<sub>3</sub>, Rk<sub>1</sub> 및 Rg<sub>5</sub>중에서 최근에 항암 및 뇌기능 개선 효과등이 있다고 알려져 있어 많은 주목을 끌고 있는 Rg<sub>3</sub>를 선택하여 그 함량을 측정하였다. 기존 인삼엽에는 Rg<sub>3</sub> 가 존재하지 않았지만, 증숙 인삼엽의 경우 증숙 인삼엽 1 g 중에 Rg<sub>3</sub>가 22.12 mg이 함유되어 있었다.

5. Peroxyl radical에 대한 인삼엽 및 증숙 인삼엽 조사포닌의 TOSC

표준 항산화 물질로는 GSH를 사용하였고, 앞서 밝힌 인삼엽 및 흑인삼엽의 조사포닌을 시료로 사용하였다. 대조물질로 사용한 GSH의 peroxyl radical에 대한 항산화 효과인 TOSC 값은 940 $\pm$ 19이었으며 인삼엽 조사포닌의 TOSC 값은 991 $\pm$ 93로써 대조물질로 사용한 GSH와 거의 동등한 수준으로 항산화 효과를

나타내었다.

한편, 흑인삼엽의 TOSC 값은 2240±467로써 GSH와 인삼엽 조사포닌에 비해서 2배 이상 강한 항산화 효과를 나타내었다.

**Table 1. TOSC values of Total Saponin of *Panax ginseng* Leaf and Black *Panax ginseng* Leaf against Peroxyl Radical**

Antioxidant	Concentration (mg/ml)	TOSC Value	Specific TOSC Value* (TOSC/mg/ml)
GSH	0.0125	12.4	940±19
	0.025	22.8	
	0.05	47.3	
	0.1	56.3	
Panax ginseng Leaf Total Saponin	0.0125	10.3	991±93
	0.025	24.8	
	0.05	55.3	
	0.1	58.3	
Steamed Panax ginseng Leaf Total Saponin	0.0125	38.1	2240±467
	0.025	56.0	
	0.05	60.0	
	0.1	68.4	

\* : Specific TOSC value was calculated by dividing the experimental value by the molar concentration of antioxidant employed.

**6. Peroxynitrite에 대한 인삼엽 및 증숙 인삼엽 조사포닌의 TOSC**

Peroxynitrite에 대한 인삼엽 및 흑인삼엽 조사포닌의 항산화 효과는 Table 2에 나타내었다. 대조물질로 사용한 GSH의 peroxynitrite에 대한 항산화 효과인 TOSC 값은 347±3이었으며 인삼엽 조사포닌의 TOSC 값은 856±291로써 대조물질로 사용한 GSH에 비해서 2.5 배 정도의 강한 항산화 효과를 나타내었다.

한편, 흑인삼엽의 TOSC 값은 1,792±277로써 GSH 보다는 5 배 및 인삼엽 조사포닌에 비해서 2배 이상 강한 항산화 효과를 나타내었다.

**Table 2. TOSC values of Total Saponin of *Panax ginseng* Leaf and Black *Panax ginseng* Leaf against Peroxynitrite**

Antioxidant	Concentration (mg/ml)	TOSC Value	Specific TOSC Value* (TOSC/mg/ml)
GSH	0.0125	4.2	347±3
	0.025	8.5	
	0.05	17.4	
	0.1	34.3	
Total saponin of Panax ginseng leaf	0.0125	17.0	856±291
	0.025	21.4	
	0.05	45.8	
	0.1	44.8	
Total saponin of black Panax ginseng leaf	0.0125	21.8	1792±277
	0.025	44.8	
	0.05	47.6	
	0.1	52.8	

\* : Specific TOSC value was calculated by dividing the experimental value by the molar concentration of antioxidant employed.

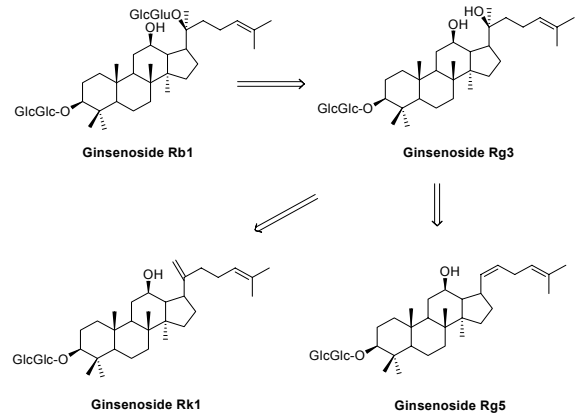
**고찰**

인삼은 가공방법에 따라서 크게 백삼과 홍삼으로 분류되는데 홍삼은 수삼을 증숙기 또는 기타 방법으로 쪄 후 건조한 것을

말하며, 백삼은 수삼을 햇볕이나 열풍 또는 기타 방법으로 익히지 않고 말린 것을 말한다. 인삼의 역사는 2천여 년이 넘으며 오랜 세월동안 인삼을 재배하여 생산해 왔으므로 풍부한 재배 경험과 기술을 보유하고 있어 현재 각종 건강음료 및 기능성 식품 등 인삼제품 개발 수준은 최고 수준을 보유하고 있다.

최근 인삼 실소비자들은 수요층별로 기호 적성에 부합하면서도 차별화가 되는 제품을 요구하고 있다. 즉, 성별, 연령별 및 민족별로 소비자가 원하는 시대적 흐름과 실소비자의 요구 수준에 맞추어 새로운 제형의 제품과 특수용도의 제품을 개발하는 시대를 맞이하였다. 우리나라에서도 최근에 선삼, 효삼, 황삼, 식스플러스 등 다양한 형태의 가공인삼이 개발되고 있으며 이러한 가공인삼을 원료로한 다양한 형태의 인삼제품이 개발되고 있다.

본 연구자는 이러한 시대적 흐름에 따라서 새로운 고부가가치 신기능성 가공인삼을 개발하기 위하여 구중구포의 원리를 이용하여 흑삼을 개발한 바 있다<sup>10)</sup>. 그러나 이러한 인삼에 대한 연구는 대부분 인삼근에 국한되어 있으며 인삼엽에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 실제로 우리 나라의 인삼 생산에 따른 부수적으로 발생하는 인삼엽은 연간 4,000~4,500 톤(건조엽 700~900 톤) 정도로 추정된다<sup>9)</sup>. 그러나 경제적으로 이용되지 않고 인삼엽 대부분이 그대로 폐기되며 어떠한 방법으로도 재활용되지 못하는 것이 현실이다. 인삼엽에는 인삼근보다 3-5배정도 사포닌이 다량 함유되어 있으므로 이를 이용하여 고부가가치를 창출할 수 있으리라 판단된다. 따라서 본 연구자는 인삼근을 원료로하여 고부가가치 가공인삼인 흑삼을 제조하는 방법을 인삼엽에 적용하여 흑인삼엽을 제조한 후 이를 이용하여 경제적으로 고부가가치를 창출할 수 있는 제품을 개발하고자 하였다.



**Fig. 3. Chemical structures of ginsenosides.**

Fig. 1. 에서와 같이 인삼엽으로부터 흑인삼엽을 제조하여 조사포닌 함량을 측정할 결과 인삼엽의 조사포닌 함량은 18.38%였으며 흑인삼엽의 조사포닌 함량은 18.04%로서 문헌<sup>9)</sup>에 보고된 바와 같이 인삼근에 비해서 3-5배 이상 조사포닌의 함량이 많았다. 또한 이렇게 다량 함유되어 있는 조사포닌의 성분을 분석한 결과 증숙하지 않은 인삼엽의 주요한 사포닌은 ginsenoside Rg<sub>1</sub>, Re 및 Rb<sub>1</sub>이었다. 이에 비해서 흑인삼엽에 존재하는 주요한 사포닌은 인삼엽에 존재하지 않는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>, Rk<sub>1</sub> 및 Rg<sub>5</sub>이었

다(Fig. 2). 이러한 이유는 증속하지 않은 인삼엽에 존재하는 사포닌의 aglycon에 결합되어 있는 sugar 부분이 증속 과정 중에 열에 의해서 가수분해되며 또한 탈수반응이 일어나기 때문이다(Fig. 3)<sup>14</sup>. 이러한 결과는 인삼근으로부터 제조한 흑삼에 대량으로 존재하는 사포닌과 거의 유사하였다. 따라서 이러한 사포닌 중 ginsenoside Rg<sub>3</sub>를 선택하여 함량을 측정할 결과 건조 흑인삼엽 1 g당 22.12 mg의 ginsenoside Rg<sub>3</sub>를 함유하였다. 이는 건조 1 g당 10.3 mg의 ginsenoside Rg<sub>3</sub>를 함유하고 있는 흑삼에 비해서 2배정도의 많은 양이었다.

최근에 인삼에서 분리한 사포닌이 항산화 효과를 나타낸다는 보고<sup>15,16</sup>가 있어 인삼엽과 증속한 흑인삼엽의 항산화 효과를 측정하였다. 실험결과 Table 2에서와 같이 peroxy radical에 대한 항산화 효과는 인삼엽 조사포닌 추출물이 대조물질로 사용한 GSH와 거의 동등한 수준의 강한 항산화 효과를 나타내었다. 한편 인삼엽을 증속한 흑인삼엽 조사포닌 추출물은 GSH 및 인삼엽 조사포닌 추출물에 비해서 2배 이상의 강한 항산화 효과를 나타내었다. 또한 peroxynitrite에 대한 항산화 효과를 살펴본 결과 인삼엽 조사포닌 추출물은 GSH에 비해서 2.5배 정도 강한 항산화 효과를 나타내었으며 흑인삼엽 조사포닌 추출물은 GSH에 비해서 5배 이상, 인삼엽 조사포닌 추출물에 비해서 2배 이상의 강한 항산화 효과를 나타내었다.

최근에 ginsenoside Rg<sub>3</sub>가 hydroxy radical에 대한 항산화 효과를 나타낸다는 연구보고가 있다<sup>2,3</sup>. 따라서 흑인삼엽 조사포닌 추출물의 항산화 효과가 증속하지 않은 인삼엽 사포닌 추출물보다 강한 이유는 흑인삼엽 조사포닌 추출물에 ginsenoside Rg<sub>3</sub>가 다량 존재하기 때문일 것으로 판단된다.

Fig. 3에서와 같이 흑인삼엽에는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>외에, Rk<sub>1</sub> 및 Rg<sub>5</sub>가 다량 존재하는 이러한 사포닌이 최근에 항암 및 뇌기능 개선 등 다양한 효과를 나타내기 때문에 향 후 흑인삼엽의 다양한 생리활성을 측정할 필요가 있다고 판단된다.

이렇듯 대부분 버려지는 인삼엽을 산업적으로 활용한다면 향 후 인삼엽은 적은 비용을 투자하여 큰 수익을 창출할 수 있는 고부가가치 자원이라고 생각된다. 최근에 이미 미국에서 고려인삼이 아닌 화기삼의 인삼엽에 대한 연구가 활성을 중심으로 활발히 진행되고 있다<sup>7,8,13</sup>. 따라서 인삼엽의 산업화를 이루기 위해서는 우리나라에서 생산되는 고려인삼의 인삼엽에 대한 체계적인 연구가 뒷받침되어야 한다고 판단된다.

## 결 론

구중구포의 방법에 의해서 흑인삼엽을 제조하고자 하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

인삼근을 이용하여 흑삼을 제조하는 방법을 금산에서 채집한 인삼엽에 적용하여 제조한 흑인삼엽에는 증속하지 않은 인삼엽에 존재하지 않는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>, Rk<sub>1</sub> 및 Rg<sub>5</sub>가 대량 존재하였다. 특히 흑인삼엽 건조 1 g중에 ginsenoside Rg<sub>3</sub>가 20.12 mg과 같이 다량 함유되어 있었다. 또한 인삼엽 조사포닌 추출물 및 흑인삼엽 조사포닌 추출물은 대조물질로 사용한 GSH에 비해서 강

한 항산화 효과를 나타내었다. 특히 증속하지 않은 인삼엽 조사포닌 추출물에 비해서 흑인삼엽 추출물은 2배 이상의 강한 항산화 효과를 나타내었다.

이상의 결과로 부터 인삼엽은 산업적으로 고부가가치를 창출할 수 있는 자원으로써 향 후 농가소득 증대에도 큰 기여를 할 수 있으리라 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2005년 농림부 농림기술개발연구과제 현장적용기술개발(과제번호 105061-3)의 의해 수행되었는바 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 장수진, 석귀덕. 새삼, 실새삼 및 갯실새삼 추출물의 미백 및 항산화 작용. 약학회지 50(6):421-428, 2006.
2. Liu, Z.Q., Luo, X.Y., Liu, G.Z., Chen, Y.P., Wang, Z.C., Sun, Y.X. In vitro study of the relationship between the structure of ginsenoside and its antioxidative or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes. J. Agric. Food Chem. 51(9):2555-2558, 2003.
3. Kang, K.S., Kim, H.Y., Baek, S.H., Yoo, H.H., Park, J.H., Yokozawa, T. Study on the hydroxyl radical scavenging activity changes of ginseng and ginsenoside-Rb2 by heat processing. Biol. Pharm. Bull. 30(4):724-728, 2007.
4. 홍문화. 한국인삼사(上). 서울, 삼화인쇄주식회사, p 48, 1980.
5. 이상인. 한국인삼사(下). 서울, 삼화인쇄주식회사, p 166, 1980.
6. Park, J.D., Rhee, D.K., Lee, Y.H. Biological activities and chemistry of saponin from Panax ginseng C. A. Meyer. Phytochemistry Reviews 4: 159-175, 2005.
7. Xie, J.T., Wang, C.Z., Wang, A.B., Wu, J., Basila, D., Yuan, C.S. Antihyperglycemia effects of total ginsenosides from leaves and stem of Panax ginseng. Acta Pharmacologica Sinica 26(9):1104-1110, 2005.
8. Wang, C.Z., Wu, J.A., Mcentee, E., Yuan, C.S. Saponins composition in american ginseng leaf and berry assayed by high-performance liquid chromatography. J. Agric. Food Chem. 54(6):2261-2266, 2006.
9. 장현기. 인삼엽의 채엽시기에 따른 사포닌 성분의 함량 및 조성. 한국식품영양학회지 11(1):82-86, 1998.
10. 이지현, 신귀남, 김의겸, 신현중, 명창선, 오한진, 김동희, 노성수, 조 원, 서영배, 박용진, 강철우, 송규용. 흑삼의 제조 및 항암효과. 동의생리병리학회지 20(4):951-956, 2006.
11. Winston, G.W., Regoli, F., Dugas, A.J., Jr., Fong, J.H., Blanchard, K.A. A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. Free Radic. Biol. Med. 24(3):480-439, 1998.

12. Regoli, F., Winston, G.W. Quantification of total oxidant scavenging capacity of antioxidants for peroxyne, peroxy radicals, and hydroxyl radicals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 156(2):96-105, 1999.
13. Wang, C.Z., Zhang, B., Song, W.X., Wang, A., Ni, M., Luo, X., Aung, H.H., Xie, J.T., Tong, R., He, T.C., Yuan, C.S. Steamed american ginseng berry: Ginsenoside analyses and anticancer activities. *J. Agric. Food Chem.* 54(26):9936-9942, 2006.
14. 남기열. 홍삼과 백삼의 비교 고찰. *J. Ginseng Res.* 29(1):1-18, 2005.
15. Yokozawa, T., Satoh, A., Cho, E.J. Ginsenoside Rd attenuates oxidative damage related to aging in senescence-accelerated mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 56(1):107-113, 2004.
16. Chun, H., David, D.K. Free radical scavenging capacity as related to antioxidant activity and ginsenoside composition of asian and North american ginseng extracts. *JAOCS* 78(3):249-255, 2001.