



인삼의 사포닌성분 함량 조사 연구에 있어서 몇 가지 문제

Some problems in investigating ginseng saponin contents

손현주

한국인삼공사 R&D본부 기술연구소

Hyunjoo SOHN

Research Institute of Technology, Korea Ginseng Corporation

I. 서론

사포닌성분은 인삼의 대표적인 지표성분으로서, 인삼에 대한 국내외 각종 기준·규격에서 사포닌성분 함량 분석을 의무화하고 있다. 사포닌성분 중 진세노사이드-Rg1과 -Rb1은 우리나라 식약청에서 제정한 <건강기능식품공전(2008)>에 인삼/홍삼의 지표성분으로 규정되어 있을 뿐만 아니라 <유럽약전(2005)>과 <일본약국방(2006)>에도 인삼/홍삼의 지표성분으로 규정되어 있으며 <중화인민공화국약전(2005)>에는 진세노사이드-Rg1과 -Rb1 이외에 진세노사이드-Re도 인삼/홍삼의 지표성분으로 규정되어 있다. 그래서 우리나라뿐만 아니라 외국에서도 각종 인삼/홍삼제품의 품질관리에 사포닌성분 함량 분석을 중요하게 다루고 있다. 또 최근에는 국내외에서 인삼의 약리효능을 연구하는 많은 연구자들이 각자가 사용한 인삼시료의 사포닌성분 함량 수준을 제시하고 있다.

II. 인삼의 사포닌성분 함량 조사 연구에 있어서 몇 가지 문제

최근 분석기술이 눈부시게 발전함에 따라 인삼의 사포닌성분 함량을 분석하는 기술도 계속 업그레이드되고 있다. 1978년 고성능액체크로마토그래프(High Performance Liquid Chromatograph; HPLC)가 시판됨에 따라 인삼의 사포닌성분 함량 분석에 HPLC가 사용되기 시작하였는데, 초기에는 굴절률검출기(RI detector)가 부착된 HPLC/RI를 주로 사용하였으나 현재는 국내외적으로 이보다 감도(sensitivity)가 훨씬 높은 자외선검출기(UV detector) 또는 증기화광산란검출기(ELSD)가 부착된 HPLC/UV 또는 HPLC/ELSD를 사용하고 있으며 최근에는 HPLC보다 성능이 우수하며 분석소요시간을 현저하게 줄일 수 있는 초고성능액체크로마토그래프(Ultra-High Performance Liquid Chromatograph; UPLC) 또는 더 많은 사포닌성분을 동시에 정확하게 분석하기 위하여 LC/MS/MS를 사용하는 연구기관들도 점차 증가하고 있다.

Corresponding author : Hyunjo SOHN
Research Institute of Technology, R&D headquarters, KGC
You-seong Ku, Daejeon, Korea
Tel : 042-870-3010
Fax : 042-870-3103
E-mail : hjsohn@kgc.or.kr

그러나 인삼의 사포닌성분 함량을 조사하기 위한 실험 설계 단계와 분석결과 해석단계에서 근본적으로 고려해야 하는 몇 가지 문제들이 있다. 실험설계 단계에서는 연구에 사용한 인삼시료의 대표성, 인삼시료 개체 수, 표준물질 등을 고려해야 하며 분석결과 해석단계에서는 분석절차의 특이성 입증 등을 고려해야 한다.

1. 실험 설계단계에서 고려해야 하는 문제

1.1 인삼시료의 대표성

실험 설계단계에서 가장 먼저 고려해야 하는 문제는 연구자들이 대표성이 있는 인삼시료를 사용해야 한다는 점이다. 인삼은 천연물이며 사포닌성분은 식물체내에서 생합성되는 2차 대사산물이기 때문에 개체시료에 따라 사포닌성분 함량 변이가 매우 심한 것이 일반적이다. 연구에 어떤 인삼시료를 사용하느냐에 따라서 사포닌성분 함량 측정값은 크게 달라질 수 있다.

1.2 인삼시료 개체 수

만약 연구자들이 대표성 있는 인삼시료를 선정할 수 없다면, 그 다음에 고려해야 하는 것은 인삼시료 개체 수이다.

일반적으로 천연물의 유효성분 함량은 시료에 따라 개체편차가 매우 심하며 인삼도 천연물의 일종이므로 사포닌성분 함량에 대한 개체편차가 심한 것으로 알려져 있다. 2003년 농림부 주관 <韓國人蔘의 中國醫藥品登錄基準(案)> 설정추진위원회 의 보고서에 의하면 한국인삼공사, 농협중앙회 및 개성인삼조합에서 제공한 홍삼 100개체를 시료로 사용하여 사포닌 함량을 조사하였을 때 홍삼의 진세노사이드 함량(Rg1+Re+Rb1)은 제조회사, 홍삼의 등급(천삼, 지삼, 양삼), 크기(20지, 30지, 50지), 로트번호 등에 따라 CV 36% 수준의 개체변이를 나타내며 최고치는 최저치의 5.6배 수준을 나타내고 있다 [농림부, 2003]. 이 결과는 인삼의 사포닌성분 함량이 연구에 사용한 인삼시료에 따라 크게 달라질 수 있음을 시사한다.

인삼의 사포닌성분 함량을 비교할 때 얼마나 많은 시료 수를 사용해야 연구결과와 신뢰성이 있느냐 하는 것은 연구자에 따라 논란의 여지가 있다. 2001년 한국인삼연초연구원이 중국 國家藥品監督管理局(State Drug Administration; SDA)와 <高麗紅蔘品質標準> 초안 설정을 위한 한·중 교차시험을 실

시하였을 때 중국 SDA에서는 홍삼의 등급, 크기 또는 로트번호가 각기 다른 개체를 시료 당 50구 이상씩 사용하여 사포닌 성분 함량을 조사하고 이를 토대로 품질 표준을 설정해야 신뢰성이 있다는 의견을 제시한 바 있으며, 우리나라 국립농산물 품질관리원 시험연구소는 국내산 시료와 수입산 시료를 각각 300구씩 사용하여 얻은 시험데이터를 근거로 생약재의 원산지 판별을 위한 데이터파일을 구축하고 매년 추가로 시험데이터를 확보하여 데이터파일을 업데이트하고 있다. 이러한 점을 고려할 때 인삼의 사포닌성분 함량은 최소한 50개체 이상, 바람직하게는 300개체를 사용하여 조사하는 것이 타당하다.

2008년 3월 미국의 유명 인터넷 사이트인 www.sciencedirect.com에 수록되어 있는 인삼 연구논문 692편을 검색한 결과, 10개체 미만의 매우 적은 수의 시료를 사용하여 유효성분(주로 사포닌) 연구를 수행한 사례가 거의 대부분이었다 [Science Direct, 2008]. 이는 세계적으로 인삼에 관한 연구결과가 많이 보고되고 있으나, 특히 유효성분 함량 측면에서 볼 때 신뢰할 만한 연구결과가 거의 없다는 것을 의미한다. 인삼의 사포닌성분 함량이 개체변이가 매우 심하다는 것은 이미 알려져 있는 사실이므로 10개체 미만의 시료를 사용하여 유효성분 함량 데이터를 해석한 연구논문들은 활용 가치가 낮으며 연구결과에 대한 재현성을 반드시 확인해야 할 필요가 있다.

1.3 표준물질

인삼시료의 사포닌성분을 정량함에 있어서 표준물질의 사용은 필수적이다. 사포닌성분 표준물질(Reference material; RM)은 미국의 Chromadex사, 유럽의 PhytoLab사, 일본의 Wako Chemical사, 다국적기업인 Sigma-Aldrich사 등 및 국내의 일부 대학과 벤처기업들이 시판하고 있는데, 사포닌 표준물질은 합성하여 제조하는 것이 아니라 인삼으로부터 분리 정제하여 제조하는 것이므로 제조회사마다 순도가 다를 수 있으며 또한 개의 제조회사에서 제조한 것이라고 하더라도 Batch No. 마다 그 순도가 달라질 수 있다.

일반적으로 시약 카탈로그에 수록되어 있는 사포닌 표준물질의 순도는 HPLC 크로마토그램 상에서 얻은 normalization %로 나타낸 것이며 실제 순도를 의미하는 것이 아니다. 따라서 국내외에서 유통되고 있는 사포닌 표준물질의 normalization %가 동일하다고 하더라도 그 실제 순도는 제조회사 또는



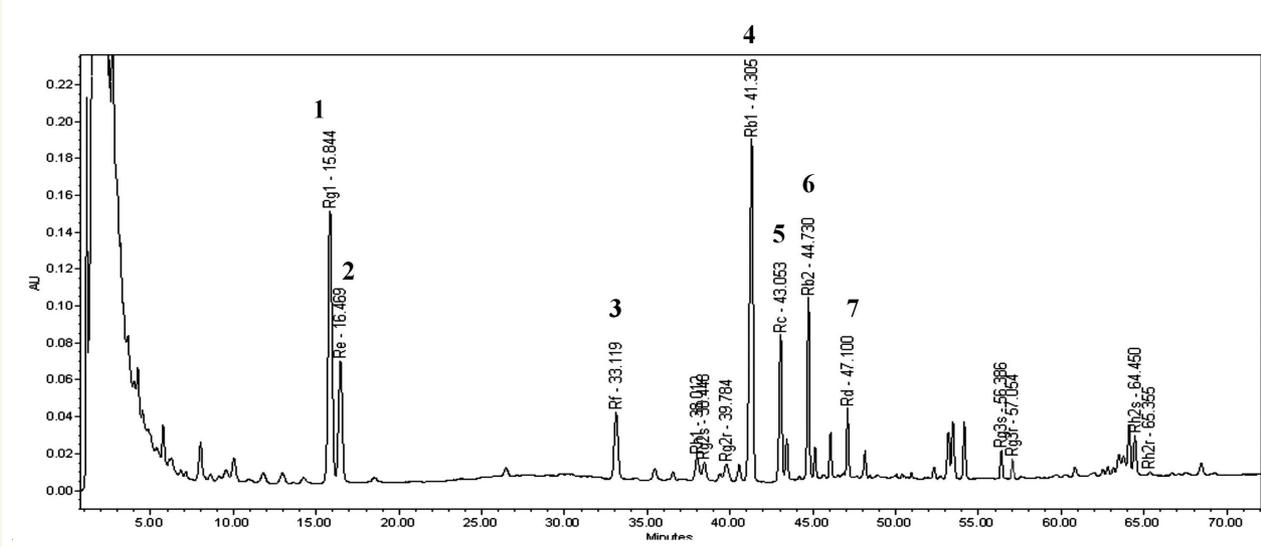


그림 1. A HPLC chromatogram of red ginseng powder test solution (Discovery C18, UV). 1. ginsenoside-Rg1 2. ginsenoside-Re 3. ginsenoside-Rf 4. ginsenoside-Rb1 5. ginsenoside-Rc 6. ginsenoside-Rb2 7. ginsenoside-Rd.

Batch No. 에 따라 크게 다를 수 있으므로 주의가 필요하다.

사포닌 표준물질의 순도가 제조회사마다 얼마나 차이가 있는지를 확인하는 방법은 아주 간단하다. 제조회사별로 표준물질을 구입하여 일정 농도의 사포닌 표준용액을 제조하고 HPLC로 분석한 후 피크 면적 또는 피크 높이를 비교하면 된다. 다만, 제조회사별로 사포닌 표준물질의 순도가 다르다는 사실을 확인하였을 때, 실제 순도가 얼마인지 확인하는 절차가 더 큰 문제이다. <유럽약전(2005)>에는 진세노사이드-Rg1 과 -Rb1 표준물질의 시험항목과 적합기준이 명시되어 있으므로 이에 따라 실제 순도를 확인하는 것이 바람직하다.

2. 분석절차의 특이성 입증

인삼시료의 사포닌성분은 보통 HPLC/UV로 분석한다. 분석절차의 특이성(specificity)이란 HPLC 크로마토그램 상에 나타난 사포닌 추정 피크에 해당 사포닌 이외의 물질이 혼입되어 있지 않다는 사실을 입증하는 것이다. 분석절차의 특이성 입증에 관한 가이드라인은 <ICH Q2B/CPMP/ICH/281/95: Validation of Analytical Procedure: Methodology>에 명시되어 있다.

인삼시료의 사포닌성분을 옥타데실실릴(octadecylsilyl; ODS) 칼럼이 부착된 HPLC로 분석함에 있어서 종종 발생할

수 있는 오류는 진세노사이드-Rg1 피크와 진세노사이드-Re 피크가 서로 분리되지 않고 겹쳐져서 용리(elution)되는 문제이다. 그림 1에서 보는 바와 같이 ODS 칼럼에서 진세노사이드-Re 피크(2)는 진세노사이드-Rg1 피크(1) 바로 다음에 용리되는데, 어떤 브랜드의 ODS 칼럼에서는 이들 두 피크가 서로 분리되지 않는 경우가 있다. 그래서 <유럽약전(2005)>에는 진세노사이드-Rg1과 -Re 피크의 분리능(resolution)이 “R ≥ 1.0”인 HPLC 조건에서 분석해야 한다고 명시되어 있다.

III. 결론

인삼시료의 사포닌성분 함량을 조사하고 분석결과를 해석함에 있어서 고려해야 할 문제들은 (1) 인삼시료의 대표성 (2) 인삼시료 개체 수 (3) 표준물질의 실제 순도 (4) 분석절차의 특이성 입증 여부 등이다. 연구자들이 사용한 인삼시료의 대표성을 설명하는 것은 쉽지 않으므로 origin을 명확히 아는 인삼시료를 다양하게 수집하여 충분한 수의 개체시료를 사용하는 것이 필요하다. 연구에 사용한 사포닌 표준물질의 실제 순도를 확인하기란 기술적으로 용이한 일이 아니지만 분석결과 타당성을 설명하는 데에 필수적이며 분석절차의 특이성 입증은 사포닌성분 함량 측정값에 직접적인 영향을 미치므로 반드시

시 고려해야 할 사항이라고 생각된다.

references
• **참고문헌**

농림부(2003) : 韓國人蔘의 中國醫藥品登錄基準(案), 중국 의약품등록기준설정추진위원회.

식약청(2008) : 건강기능식품공전.

European Pharmacopoeia (2005).

中華人民共和國藥典(2005).

日本藥局方(2006).

ICH Q2B/CPMP/ICH/281/95: Validation of Analytical Procedure: Methodology.

www.sciencedirect.com

