

홍삼추출잔사로부터 항암면역조절 활성을 보여주는 홍삼산성다당체(RGAP)의 분리 및 이화학적 특성

곽이성 · 신한재 · 송용범 · 박종대[†]

KT&G 중앙연구원

Isolation of Immunomodulatory Antitumor Active Polysaccharide (RGAP) from Red Ginseng By-Product and Its Physico-chemical Properties

Yi-Seong Kwak, Han-Jae Shin, Yong-Bum Song and Jong-Dae Park[†]

KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-345, Korea

Abstract

This study was carried out in order to develop the method for isolation of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) having immunomodulating antitumor activity from red ginseng by-product. The red ginseng by-product was obtained from red ginseng residues produced in processing of red ginseng ethanol extract. The yield of RGAP isolated by ultrafiltration was 20.9%. The active substance (GFP) was purified by DEAE-sepharose column chromatography. RGAP induced nitric oxide (NO) exhibited tumoricidal activities against P815 (mastocytoma) tumor cells. Acid-hydrolyzed RGAP fragments were shown four to five spots. These spots showed the same R_f values with sugars designated as rhamnose, glucose, galactose and glucuronic acid. Some physico-chemical properties of RGAP were investigated. pH and dry reduction content at 105°C were 4.74 and 4.72%, respectively. Crude protein, ash and Pb contents were 3.30%, 4.74% and 2.30 ppm. These results suggest that we will be able to produce RGAP from red ginseng by-product by ultrafiltration in a large scale.

Key words: *Panax ginseng*, red ginseng by-product, red ginseng acidic polysaccharide (RGAP), immunomodulatory antitumor activity

서 론

미생물 및 생약제를 비롯한 천연물질에서 생리활성조절물질(biological response modifier: BRM)을 탐색하여 이를 인류의 건강유지에 활용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 이러한 연구 중 생약재유래의 면역활성 다당체에 관한 연구는 항보체활성을 중심으로 많은 연구가 진행되어 왔다. 이러한 연구를 살펴보면 당귀(*Angelica acutiloba*) 유래의 AR-arabinogalactan IIb-1(2), 자근(*Lithospermum euschromum*) 유래의 산성다당인 LR-polysaccharide IIa(3), 쑥(*Artemisia princeps*) 유래의 산성 heteroglycan인 AAF II b-2 및 AAF II b-3(4), 울무(*Coix lacchryma-jobi* Var. mayuen) 유래의 산성 heteroglycan CA-1과 CA-2 및 중성 glucan(5)에서 보체계를 활성화시키는 항보체활성(anti-complementary activity)이 있는 것으로 보고되고 있다. 그 외에도 인삼잎 기원의 산성다당 GL-PI, GL-PII 및 GL-PIII(6)과 대추(*Zizyphus jujuba* Var. inermis) (7) 및 차전자(질경이, *Plantago asiatica*)(8) 등으로부터 분리된 다당체로부터도

항보체활성 등의 면역작용이 확인되고 있다. 또한 버섯류에서도 다당체 성분인 lentinan, polysaccharide K 등을 분리하여 암치료의 보조제로써 활용하고 있는 실정이다(9).

한편 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 면역작용에 관해서는 사포닌 및 다당체를 중심으로 면역조절 작용에 관해 연구가 이루어져 왔다(10-13). 그 중 인삼산성다당체는 galacturonic acid, glucuronic acid 및 mannuronic acid가 결합된 분자량이 15,000 이상의 다당체이며 중성다당체에 비해 면역체계에 미치는 영향이 크다(14). Konno 등(15)에 의하면 인삼의 부위별로 다당체를 분리한 후 실험한 연구에서 인삼 동체(뿌리)에서 분리한 다당체는 세망내피계를 활성화시키고 항보체활성을 갖는다고 보고하였으며, 여기에서 수종의 다당체 ginsenan 성분을 분리하여 일부 그 구조를 밝힌 바도 있다. 또한 Hikino 등(16)은 인삼잎으로부터도 세포벽 성분의 rhamnagalacturonan II를 함유하는 다당체를 분리하였으며, 이 다당체는 macrophage의 Fc receptor 발현을 촉진시켜 면역복합체(immune complex)의 제거를 촉진시킨다고 보고한 바 있다. 지금까지 분리된 다당체를 살펴보면 홍삼, 백

[†]Corresponding author. E-mail: jdpark@ktng.com
Phone: 82-42-866-5534, Fax: 82-42-861-1949

삼, 수삼 등의 인삼류 중 백삼으로부터는 Panaxan A-U 등 저혈당작용을 갖는 21종의 다당체가 분리되었고 그중 산성 다당체는 8종이고 나머지는 중성다당체로 알려져 있다(17-19). 또한 백삼의 물추출물에서 분리된 다당체 ginsan은 Th1 세포와 macrophage 유래의 cytokine을 유도하여 killer cell을 활성화시킴으로써 암세포를 사멸시킬 수 있음이 Kim 등(20)에 의해서 보고된 바 있다. 홍삼으로부터도 Park 등(21)이 분리한 홍삼산성다당체(RGAP, red ginseng acidic polysaccharide)가 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 macrophage를 증가시켜 nitric oxide synthase를 활성화시킴으로써 면역증강효과를 나타낸다고 보고한 바 있다.v

백삼과 달리 홍삼은 수삼을 증숙한 후 건조하여 제조한 것으로 이러한 수처리과정에서 수삼 또는 백삼과는 다른 성분이 생성된다고 알려져 있다. 홍삼을 제조하면 백삼에 존재하는 malonyl-ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd는 malonyl 그룹이 떨어져서 ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd가 생성되며 ginsenoside의 C-20 위치에서 glycosyl 잔기가 이탈되거나 C-20 위치에서 수산기가 이성화되어 20(S)-ginsenoside Rg₃, 20(R)-ginsenoside Rg₂, 20(S)-ginsenoside Rb₂, 20(R)-ginsenoside Rh₁으로 전환된다(22). 이러한 홍삼제조과정 중의 화학성분의 변화가 백삼과는 다른 홍삼의 생리활성 변화를 유도하는 것으로 생각되고 있다.

한편 홍삼박은 홍삼으로부터 홍삼추출물을 제조하고 부산물로 생성된 홍삼잔사를 말하는데 산업적으로 대부분은 폐기하고 있는 실정이다. 이러한 홍삼박은 홍삼추출물을 제조할 때 용매로 사용하는 물 및 80% 주정에 따라서 홍삼물추출잔사와 홍삼알콜추출잔사로 나뉘어진다. 그러나 홍삼을 알콜로 추출하고 알콜추출물을 얻은 후 부산물로 생성된 홍삼알콜추출잔사에는 여러번 추출하였음에도 불구하고 상당한 양의 다당체가 용출되지 않고 함유되어 있는 실정이다. 아울러 홍삼알콜추출잔사로부터 분리한 다당체는 중성당이 28.3%인데 반해 glucuronic acid 및 galacturonic acid의 함량이 56.9%로 산성당의 함량이 높은 산성다당체이었고, 홍삼에서 분리한 산성다당체(RGAP)와 거의 동등한 수준의 항암 및 면역활성능을 가지고 있음이 Park 등(21)과 Kim 등(9)에 의해서 보고된 바 있다. 본 실험에서는 홍삼으로부터 홍삼추출물을 제조하고 부산물로 생성되는 홍삼추출잔사의 산업적 활용성을 제고하고자 홍삼추출잔사로부터 면역활성을 보이는 홍삼산성다당체를 대량으로 분리하는 방법을 개발하였고 이들의 이화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

홍삼부산물

홍삼(6년근, 양삼 30지, 한국인삼공사) 600 g을 세절하여 5배량(v/w)의 80% EtOH을 가하고 80°C에서 3시간씩 4회 추출하여 사포닌 등 비수용성 성분을 제거하였고, 추출후 생

성된 홍삼추출잔사를 시료로 사용하였다.

시약 및 암세포 배양

Earle's balanced salt solution(EBSS), RPMI 1640, Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), Minimum essential medium(MEM), Ca/Mg-free PBS, penicillin, streptomycin, new born calf serum 및 fetal bovine serum(FBS)은 Gibco사(Grand Island, New York, USA) 제품을 사용하였다. P815 mastocytoma 암세포는 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 2 mM glutamate, 100 µg/mL streptomycin 및 100 U/mL penicillin이 함유된 RPMI complete 배지에서 배양하였다.

실험동물

항암면역 활성을 조사하기 위한 실험동물로써는 BALB/c 계 마우스 수컷을 대한바이오링크(충북, 음성)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 구입한 4~5주령의 실험동물은 무작위로 케이지(폴리카보네이트 재질)에 5마리씩 분리, 수용하여 사료(삼육)와 수돗물을 자유로이 섭취시키면서 1주일동안 순화시켰다. 동물실의 환경조건은 실내온도 23±3°C, 상대습도 40~60%를 유지하였고, 150~300 Lux의 조도로 12시간씩 명암을 조절하였다.

홍삼산성다당체의 대량분리 및 정제

홍삼부산물을 60°C에서 2일 동안 열풍건조한 후 조분쇄하여 300 g을 열수(95~100°C에서 3시간씩 4회반복)로 추출하고 이를 한외여과기(Ultrafiltration kit, Millipore, Pellicon 2, Bedford, MA, USA)의 membrane filter(10K cut, PLCGC, size 0.5 m², Bedford, MA, USA)를 이용하여 분자량 10 KD 이상과 이하로 나누었다. 이 중 분자량 10 KD 이상의 고분자량 화합물에 95%의 에탄올을 5배(v/v) 가하여 4°C에서 24시간 방치한 후 열풍건조하여 황갈색의 홍삼산성다당체(RGAP, red ginseng acidic polysacch)를 대량분리하였다.

홍삼산성다당체로부터 활성성분(GFP)의 분리 및 정제

홍삼산성다당체 2 g을 10 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0) 약 70 mL에 용해한 후 여과(3 µm)하여 칼럼에 loading 하였다. 칼럼은 DEAE-Sephrose CL-6B 수지를 50 mL 충전하였고, bed volume(100 mL)의 5배인 500 mL의 10 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0)로 washing한 후 0.5 M NaCl이 함유된 동일한 buffer로 용출한 후 하기에 서술한 면역활성 측정방법에 의해 측정된 후 면역활성이 확인된 활성성분을 GFP로 명명하였다. 용출된 GFP는 저온실에서 2~3일 동안 증류수로 투석하여 염을 제거한 후 동결건조하여 활성성분으로 사용하였다.

Macrophage에 의한 NO(nitric oxide) 정량 및 NO 매개성 암세포 살해능 측정

Macrophage에 의한 NO정량(17,18)을 위해 RGAP(100,

300 mg/kg)를 BALB/c 마우스에 1주일 동안 매일 1회씩 복강 투여하였다. 이후 마우스의 복강으로부터 주사기를 이용하여 복강삼출수를 10 U/mL의 heparin을 함유하는 RPMI 1640 complete medium으로 회수하였다. 분리한 macrophage는 well 당 2×10^5 개의 세포를 분취하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양하여 페트리디쉬에 부착되지 않은 세포를 제거하였다. 페트리디쉬에 부착된 세포에 100 µL의 RPMI complete medium을 붓고 24시간 동안 다시 배양하였다. 배양 종료 후 70 µL의 상등액을 취해서 동량의 Griess 시약과 섞어 550 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다. 이때 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였다. NO 매개성 암세포의 살해능(9,23)은 복강으로부터 분리한 macrophage와 암세포 P815 mastocytoma를 함께 배양하였다. 배양종료 후 20 µL의 PMS/MTS 용액을 배양액에 첨가하고 37°C의 CO₂ 배양기에서 4시간 동안 배양하여 490 nm에서 흡광도를 측정함으로써 암세포 살해능을 계산하였다.

홍삼산성다당체의 이화학적 특성

건조감량은 의약품등 기준 및 시험방법(24)에 따라 0.5~1.0 g의 시료를 105°C에서 5시간동안 건조한 후 무게를 측정하여 조사하였고, 회분은 건조감량 시험한 다음 그 건조물을 가지고 AOAC의 회분시험법(25)에 준하여 시험하였다. 또한 pH도 의약품등 기준 및 시험방법(24)에 준하여 시료 1 g을 100 mL의 증류수에 용해한 다음 pH를 측정하였다. 단백질량은 AOAC의 킬달(Kjeldahl)방법 (25)에 따라 시험하였고, 중금속(pb) 함량은 원자흡광광도계(Varian Spectra AA-30, DS-15 Datastation)를 이용하여 측정하였다(26).

통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 처리에 의한 결과의 유의성검정은 student's *t*-test로 분석하였다.

결과 및 고찰

홍삼부산물로부터 홍삼산성다당체(RGAP) 및 활성성분(GFP)의 분리 및 정제

홍삼추출잔사(홍삼알콜추출후 생성된 홍삼박) 300 g을 상기의 한외여과기를 이용하여 대량분리한 결과 최종 다당체의 분리수율은 20.94±2.4%이었다. 이 다당체를 Chaplin과 Kennedy의 당분석방법(27)에 준해 당분석을 행한 결과 중성당은 27.2±0.3%, 산성당은 57.6±0.6%로써 중성당에 비해 산성당이 다량 함유되어 있었다. Kim 등(9)이 홍삼을 알콜로 추출하고 남은 알콜추출잔사로부터 분리한 산성다당체의 중성당함량은 28.3%, 산성당함량은 56.9%로 보고한 바 있는데 본 실험에서도 이와 비슷한 산성당함량을 나타내어 분리한 다당체는 산성다당체인 것으로 확인되어 홍삼산성다당체(RGAP)로 명명하였다. 또한 RGAP를 DEAE-sepharose 칼럼에 충전하여 RGAP의 지표물질로서 사용하고자 활성 성분

인 GFP를 분리한 결과 수율은 39.43±1.2%이었다.

홍삼산성다당체의 macrophage에 의한 NO 생성 및 NO 매개성 암세포 살해능

미생물 또는 암세포를 직접적으로 사멸시킬 수 있는 macrophage에 의한 NO 생성유무를 조사하였다. RGAP를 BALB/c 마우스에 복강투여한 후 분리한 복강 macrophage를 P815 암세포(mastocytoma)와 함께 배양하였을 때 배지 내의 NO 농도는 대조군에서 4.3 µM이었으나, RGAP 100, 300 mg/kg 투여군에서는 각각 9.8 및 25.3 µM로 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 NO 생성능과 정비례하여 암세포인 P815 세포의 사멸율도 정상대조군일 경우는 7.3%이었으나 RGAP 100, 300 mg/kg 투여군에서는 각각 22.7 및 31.8%로 증가하는 경향을 나타내었다(Table 1).

NO는 macrophage에서 생성된다고 알려져 있는데 macrophage는 골수로부터 생산되는 탐식세포로서 체내로 들어온 이물질에 비특이적으로 탐식하고 소화하며, nitric oxide(NO)나 hydrogen peroxide(H₂O₂)와 같은 각종 세포독성물질을 분비하여 이종세포나 암세포를 파괴하는 면역세포이다. 또한 세균이나 이물질을 탐식, 제거하는 과정에서 IL-1, IL-6, 그리고 TNF- α 와 같은 여러 가지 cytokine과 phosphatase와 같은 효소를 분비하여 체내 면역현상을 조절한다. 아울러 염증반응, 조혈기구 등에도 관여하는 면역계의 주요한 방어기 구이다(3). 홍삼에서 분리된 산성다당체(RGAP)는 NO를 생성하여 암세포를 파괴한다는 사실을 저자 등이 이미 보고한 바 있으며(21,22), Kim 등(9)에 의해 홍삼추출잔사로부터 분리한 다당체에서도 NO를 생성하여 암세포를 파괴한다는 사실이 이미 보고된 바 있다. 본 실험에서도 홍삼추출잔사로부터 한외여과를 이용하여 대량으로 분리한 RGAP에서도 macrophage에 의한 NO를 생성하여 P815 암세포를 사멸시키는 면역활성작용이 있음을 확인할 수 있었다.

홍삼산성다당체(RGAP)의 유리당 TLC 패턴

RGAP 20 mg에 2 M의 TFA(trifluoro acetic acid)를 10 mL 넣고 온도 및 시간(100°C에서 1, 2, 4시간 및 120°C에서 1시간)을 달리하여 가수분해한 후 TLC 분석을 행한 결과 각 온도

Table 1. Effect of RGAP on killing of P815 cells *in vivo*

Group	NO production (µM)	Killing of P815 cell (%)
Control	4.3±0.3	7.3±8.2
RGAP 100 mg/kg	9.8±0.4**	22.7±6.4**
RGAP 300 mg/kg	25.3±0.9**	31.8±4.6**

Coculture of P815 cells (1×10^5 cells/well) with the RGAP (100 or 300 mg/kg) administered peritoneal macrophages (2×10^5 cells/well) was performed as described in materials and methods. The proliferation was determined at 18 h absorbances at 490 nm and expressed as percent of killing of P815 cells. Nitrite was also determined in the culture supernatant of the respective groups (n=8). **Means the values significantly different at $p < 0.01$ from control.

및 시간별로 가수분해물의 큰 차이는 관찰할 수 없었다(data not shown). 아울러 100°C에서 1시간 가수분해한 RGAP 가수분해산물에서도 유리된 유리당 성분을 TLC상에서 충분히 관찰할 수 있어서 RGAP 20 mg + 10 mL 2 M TFA → 100°C, 1시간으로 가수분해조건을 선정 후 RGAP를 산가수분해하여 TLC를 행하였다.

Fig. 1 및 Table 2에서 보는 바와 같이 산가수분해된 RGAP 및 RGAP로부터 분리된 활성성분 GFP는 4개의 주요한 유리당 및 올리고당 spot이 관찰되었으며, RGAP는 GFP와 동일한 Rf치 및 색상을 보이는 spot을 나타내었다. 또한 당표준품과 RGAP를 비교하였을 경우 4개의 주요한 spot은 Rf 0.78(노란색)은 rhamnose, Rf 0.61(녹색)은 glucose, Rf 0.56(녹색)은 galactose, Rf 0.36(황갈색)은 glucuronic acid으로 확인되었다(Table 2). 이러한 RGAP의 TLC 패턴분석은 추후 RGAP를 이용한 제품생산시 GMP 품질관리 측면에서 큰 도움이 될 것으로 생각된다.

산가수분해된 RGAP와 올리고당의 TLC 비교분석

산가수분해된 RGAP를 G1(glucose), G2(maltose), G3(maltotriose), G4(maltotetraose), G5(maltopentaose), G6(maltohexaose), G7(maltoheptaose) 및 GFP와 함께 TLC를 행한 결

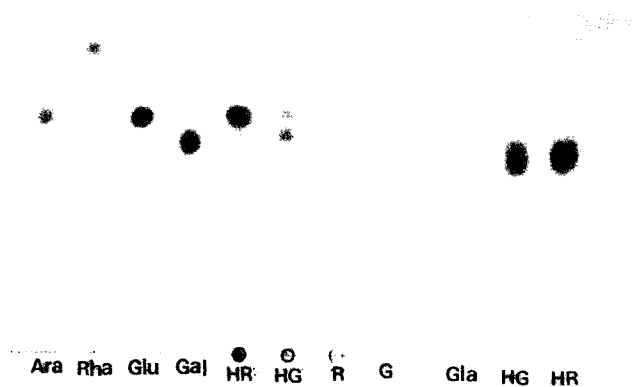


Fig. 1. TLC patterns of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) and active substance (GFP). HR: RGAP hydrolyzed with TFA at 100°C for 1 h, HG: GFP hydrolyzed with TFA at 100°C for 1 h, R: Non-hydrolyzed RGAP, G: Non-hydrolyzed GFP, Ara: arabinose, Rha: rhamnose, Glu: glucose, Gal: galactose, Gla: glucuronic acid. Development solvent: *n*-BuOH/EtOH/H₂O (5/3/2), Spray reagent: 30% H₂SO₄, TLC plate: Silicagel 60F₂₅₄.

과 가장 진한 색상을 나타내는 주요한 spot(Rf 0.56~0.61)은 G2 (maltose, Rf 0.46) 이상의 당류인 것으로 확인되었다(Fig. 2).

일부 이화학적 특성조사

홍삼추출잔사로부터 분리·정제된 RGAP의 산업적 이용성과 추후 제품의 품질관리측면을 고려하여 일부 이화학적 특성을 조사한 결과(Table 3), pH는 4.74로 물에 용해시 산성을 나타내었고, 105°C 건조감량시험에서는 무게가 4.72% 감량되는 것으로 나타났다. 또한 조단백질 함량은 3.30%이었고 회분함량은 4.74%, 중금속 Pb의 함량은 2.30 ppm으로 나타났다. 지금까지의 연구를 살펴보면 홍삼추출물 제조시 부산물로 생성되는 홍삼추출잔사로부터 분리된 산성다당체

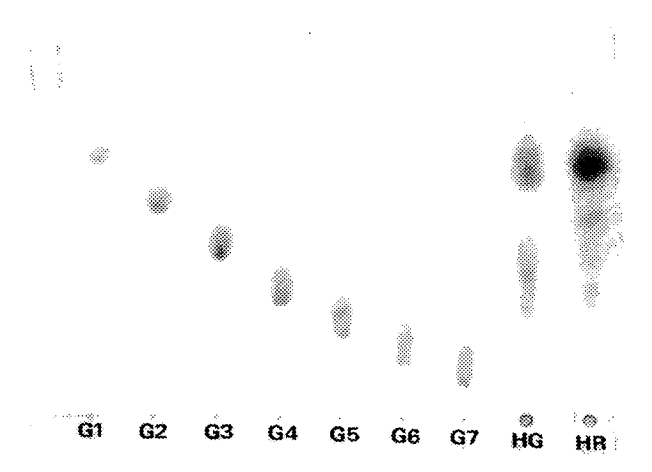


Fig. 2. Comparison of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) and gradient fraction polysaccharide (GFP) and sugars of DP1 to 7. HR: RGAP hydrolyzed with TFA at 100°C for 1 h, HG: GFP hydrolyzed with TFA at 100°C for 1 h, G1: D(+)-glucose, G2: D(+)-maltose, G3: maltotriose, G4: maltotetraose, G5: maltopentaose, G6: maltohexaose, G7: maltoheptaose. Condition of TLC was the same as Fig. 1.

Table 3. Some physical and chemical properties of the RGAP isolated from red ginseng by product

Dry reduction rate (%)	Crude protein (%)	Ash content (%)	pH	Pb content (ppm)
4.72 ± 0.1	3.30 ± 0.1	4.74 ± 0.1	4.74 ± 0.1	2.30 ± 0.1

The contents were calculated by dry basis, and each vales were mean ± SD of triplicate measurements.

Table 2. Comparison of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) hydrolyzed with trifluoroacetic acid (TFA) and standard of sugars by TLC analysis

Sugar stnd	R _f value	Color	RGAP	R _f value	Color
Rhamnose	0.78	yellow	fragment 1	0.78	yellow
Glucose	0.61	green	fragment 2	0.61	green
Arabinose	0.61	yellowish brown	ND ¹⁾	ND	ND
Galactose	0.56	green	fragment 3	0.56	green
Glucuronic acid	0.36	yellowish brown	fragment 4	0.36	yellowish brown
			fragment 5	0.29	yellowish brown

¹⁾ND: not detected.

RGAP는 홍삼의 면역활성을 나타내는 주요한 성분임이 입증되고 있으나 상세한 면역작용기전 및 당결합 등의 화학적 조성에 관해서는 아직까지 정확히 밝혀지지 않고 있다. 추후 이러한 문제들이 홍삼다당체 연구에서 시급히 해결되어야 할 과제로 생각되고 있다.

요 약

홍삼으로부터 홍삼알콜 추출물을 제조하고 부산물로 생성된 홍삼추출잔사로부터 한외여과를 이용하여 홍삼산성다당체(RGAP, red ginseng acidic polysaccharide)를 대량으로 분리할 수 있는 방법을 개발하였다. 본 방법으로 홍삼추출잔사로부터 분리된 RGAP의 수율은 20.9%이었고, RGAP로부터 지표성분인 활성성분(GFP)의 분리수율은 39.4%이었다. 분리된 RGAP는 macrophage에 의한 NO(nitric oxide)를 생성하여 암세포를 사멸시키는 것으로 나타났다. RGAP를 BALB/c 마우스에 복강투여한 후 분리된 복강 macrophage를 P815 암세포(mastocytoma)와 함께 배양하였을 때 배지내의 NO 농도는 대조군에서 4.3 μM 이었으나, RGAP 100, 300 mg/kg 투여군에서는 각각 9.8 및 25.3 μM 로 증가하는 경향을 나타내었다. 아울러 암세포인 P815 세포의 사멸율도 정상대조군 일 경우 7.3%이었으나 RGAP 100, 300 mg/kg 투여군에서는 각각 22.7 및 31.8%로 증가하는 경향을 나타내었다. RGAP을 2M의 TFA로 100°C에서 1시간 가수분해한 후 당 표준품과 TLC로 비교한 결과 당 표준품과 Rf치 및 발색 색깔이 일치하는 4개의 spot, 즉 rhamnose(Rf 0.78, 노란색), glucose(Rf 0.61, 녹색), galactose(Rf 0.56, 녹색), glucuronic acid(Rf 0.36, 황갈색)를 관찰할 수 있었다. 가수분해된 RGAP 분해산물을 G1(glucose)부터 G7(maltoheptaose)까지의 당류와 함께 TLC를 행한 결과 진한 색상을 나타내는 spot은 Rf 0.56~0.61로 G2(maltose, Rf 0.46) 이상의 단당류(monosaccharide)인 것으로 나타났다. RGAP의 일부 이화학적 특성을 조사한 결과 pH는 4.74, 건조감량은 4.72%, 조단백질 함량은 3.30%, 회분은 4.74%이었고 중금속인 Pb는 2.30 ppm이었다.

문 헌

- Bae JH. 1997. Effect of Ganoderma lucidum on the IL-1, TNF and IL-12 gene expression of macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 978-982.
- Yamada H, Kiyohara H, Cyong JC, Otsuka Y. 1987. Structural characterization of an anti-complementary arabinogalactan from the roots of *Angelica acutiloba*. *Carbohydr Res* 159: 275-291.
- Yamada H, Cyong JC, Otsuka Y. 1986. Purification and characterization of complement activating acidic polysaccharides from the roots of *Lithospermum euchromum* royale. *International J Immunopharmacology* 8: 71-82.
- Yamada H, Ohtani K, Kiyohara H, Cyong JC, Otsuka Y, Ueno Y, Omura S. 1985. Purification and chemical properties of anti-complementary polysaccharide from the leaves of *Artemisia princeps*. *Planta Med* 51: 121-125.
- Yamada H, Yanahira S, Kiyohara H, Cyong JC, Otsuka Y. 1986. Water-soluble glucans from the seed of *Coix lacrymajobi* Var *Ma-Yuen*. *Phytochemistry* 25: 129-132.
- Gao QP, Kiyohara H, Cyong JC, Yamada H. 1988. Characterization of anti-complementary acidic heteroglycans from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Carbohydr Res* 181: 175-187.
- Tomoda M, Takahashi M, Nakatsuka S. 1973. Water-soluble carbohydrates of *Zizyphi Fructus*. II. Isolation of two polysaccharides and structure of an arabinan. *Chem Pharm Bull* 21: 707-713.
- Tomoda M, Shimizu N, Shimada K, Gonda R, Sakabe H. 1984. Plant mucilages. XXXIX. The location of O-acetyl groups and the structural features of *Plantago-Mucilage A*, the mucous polysaccharide from the seeds of *Plantago major* Var. *asiatica*. *Chem Pharm Bull* 32: 2182-2188.
- Kim YS, Park KM, Shin HJ, Song KS, Nam KY, Park JD. 2002. Anticancer activities of red ginseng acidic polysaccharide by activation of macrophages and natural killer cells. *Yakhak Hoeji* 46: 113-119.
- Kim YS, Kang KS, Kim SI. 1990. Study on antitumor and immunomodulating activities of polysaccharide fractions from *Panax ginseng*: comparison of effects of neutral and acidic polysaccharide fraction. *Arch Pharm Res* 13: 330-337.
- Kim YS, Kang KS, Kim SI. 1991. Effects of ginseng components on immunotoxicity of cyclophosphamide. *Korean J Ginseng Sci* 15: 13-20.
- Lee YS, Chung IS, Lee IR, Kim KH, Hong WS, Yun YS. 1997. Activation of multiple effector pathways of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from *Panax ginseng*. *Anticancer Res* 17: 323-329.
- Park KM, Jeong TC, Kim YS, Shin HJ, Nam KY, Park JD. 2000. Immunomodulatory effect of acidic polysaccharide fraction from Korean red ginseng (*Panax ginseng*). *Natural Product Sciences* 6: 31-37.
- Srivastava R, Kulshreshtha DK. 1989. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochem* 28: 2877-2883.
- Konno C, Sugiyama K, Kano M, Takahashi M, Hikino H. 1984. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans A,B,C,D and E, glycans of *Panax ginseng* roots. *Planta Medica* 50: 443-448.
- Hikino H, Oshima Y, Suzuki Y, Konno C. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans F,G,H,I,J,K and L, glycans *Panax ginseng* roots. *Shoyakigaku Zasshi* 39: 331-337.
- Konno C, Hikino H. 1987. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans M,N,O and P, glycans of *Panax ginseng* roots. *Int J Crude Drug Res* 25: 53-58.
- Konno C, Murakami M, Oshima Y, Hikino H. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of panaxans Q,R,S,T and U, glycans of *Panax ginseng* roots. *J Ethnopharmacol* 14: 69-74.
- Sonoda Y, Kasahara T, Mukaida N, Shimizu N, Tomoda M, Takeda T. 1998. Stimulation of interleukin-8 production by acidic polysaccharides from the root of *Panax ginseng*. *Immunopharmacol* 38: 287-293.
- Kim KH, Lee YS, Jung IS, Park SY, Chung HY, Lee IR, Yun YS. 1998. Acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytokines and generates LAK cells in synergy with rIL-2. *Planta Medica* 64: 110-115.
- Park KM, Kim YS, Jeong TC, Joe CO, Shin HJ, Lee YH, Nam KY, Park JD. 2001. Nitric oxide is involved in the

- immunomodulating activities of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*. *Planta Medica* 67: 122-126.
22. Park JD. 1996. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean J Ginseng Sci* 20: 389-396.
 23. Klimetzek V, Remold HG. 1980. The murine bone marrow macrophage, a sensitive indicator cell for murine migration inhibitory factor and a new method for their harvest. *Cell Immunol* 53: 257-266.
 24. 식품의약품안전청. 1999. 의약품 등 기준 및 시험방법 제2개정. (주)약업 신문출판국, 한국. p 1283-1284.
 25. AOAC. 1984. *Official methods of analysis*. 14th ed. The association of official analytical chemists, Washington DC.
 26. Kwak YS, Kim EM. 1996. The physical properties of crude polysaccharide fraction isolated from Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean J Food Technol* 28: 389-392.
 27. Chaplin MJ, Kennedy JF. 1994. *Carbohydrate analysis*. IRL Press, Oxford. p 2-7.

(2003년 2월 7일 접수; 2003년 6월 25일 채택)