

인삼잎과 줄기 혼합 추출물의 영양성분, Ginsenoside 함량 및 기본적인 안전성 평가

한중현¹ · 박성진² · 안중남³ · 위재준⁴ · 김기영¹ · 박성혜^{1*}

¹원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, ²한림성심대학 바이오식품과
³축산기술연구소 축산물이용과, ⁴한국인삼연조연구원

Nutritional Composition, Ginsenoside Content and Fundamental Safety Evaluation with Leaf and Stem Extract of *Panax ginseng*

Jong-Hyun Han¹, Sung-Jin Park², Chong-Nam Ahn³, Jae-Joon Wee⁴,
Ki-Young Kim¹ and Sung-Hye Park^{1*}

¹Dept. of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

²Dept. of Bio-food, Hallym College, Chuncheon 200-711, Korea

³National Livestock Research Institute, Suwon 441-706, Korea

⁴Division of Ginseng Research, KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the application possibility of leaf and stem extract (LSE) from the mixture of leaf and stem of *Panax ginseng*. This study measured the general nutritional composition, amino acid, minerals contents and fatty acid composition of LSE. We conducted analysis of the ginsenoside content by HPLC and the cell cytotoxicity tests in normal liver and kidney cells. The approximate composition of LSE was 2.51% of carbohydrate, 0.53% of crude ash, 0.20% of crude fat and 0.15% of crude protein, respectively. LSE contained 102.56 mg/100 g of K ion and high contents of acidic amino acids such as glutamic acid and aspartic acid. In addition to this, it contained all essential amino acids. The major compositions of fatty acids were 39.99% of palmitic acid, 14.96% of linoleic acid, 13.31% of docosatetranic acid and 12.91% of linolenic acid. The total ginsenoside was 0.82 mg/mL, and ratio of PD/PT was 0.68. Negative effects were not found from the results of the cell toxicity respectation. These results imply that leaf and stem of *Panax ginseng* could be used as possible food resources and functional food material and feed stuff.

Key words: leaf and stem extract, *Panax ginseng*, ginsenoside, feed stuff, food resources

서 론

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오가피나무과(五加科, *Araliaceae*) 인삼속에 속하는 다년생 초본류로서 동양에서는 수천년간 민간과 한방의학에서 신비의 영약으로 널리 사용되어 왔던 우리나라의 대표적인 특산물이다(1).

인삼의 약효성분에 대한 과학적 연구는 Brekhman(2)이 인삼의 주요 성분이 saponin(ginsenosides)으로 발표한 이래로 Shibata 등(3), Hörhammer 등(4), Han(5), Sanada 등(6)에 의하여 인삼 사포닌의 화학구조가 dammarane계 triterpene인 aglycone에 당류가 결합된 배당체임이 규명되었다. 현재까지 인삼 사포닌의 약리효능으로 중추신경계에 대한 작용(7), 뇌기능에 대한 작용(8), 항암작용(9), 면역기능 조절 작용(10), 항당뇨작용(11), 간기능 강화작용(12), 심혈관 장

애 개선작용(13), 혈압조절작용(14), 갱년기 장애 개선작용(15), 항스트레스(16,17), 항피로작용(18), 항노화(19) 및 항산화작용(20,21) 등이 알려지면서 그 수요가 점차 증가되고 있다. 최근에는 소비자층의 기호추세에 부합하는 여러 가지 타입의 인삼 단일제제 및 생약 복합제제가 개발되고 있다(22). 그러나 인삼은 그 세대기간이 4~6년으로 길며 6년을 재배하여야 1뿌리 당 100~150 g(fresh weight)의 수삼이 수확되고 연작이 불가능하며 재배가능 면적이 점차 줄어들고 있는 실정이므로 앞으로의 원료공급에 지장을 초래할 가능성이 높다(23). 따라서 인삼의 조직·세포 배양 및 모낭근 배양을 통한 ginsenoside를 생산하고자 하는 연구가 활발해지고 있어(23) 좋은 결과가 기대되나, 한편으로는 인삼의 잎이나 줄기에도 인삼근과 어느 정도 비슷한 성분이 있다고 추측할 수도 있어 인삼 부산물에도 관심을 가질 필요도 있다고

*Corresponding author. E-mail: psh0528kr@hanmail.net
Phone: 82-63-850-6939, Fax: 82-63-852-0011

사료된다. 그러나 인삼 생산과정에서 부산물로 나오는 인삼의 잎과 줄기 등에 관한 연구는 대부분이 잎과 줄기 각각에 대한 ginsenoside 및 영양성분 분석에 관한 보고(24-26)들이다. 최근 들어 인삼잎을 이용한 차의 개발에 관한 연구(27)가 보고되고 있고 식품학적인 관점에서 인삼 부산물들을 이용하고자 하는 관심이 증대되고 있어 향후 부산물의 성분 뿐 아니라 활용방안에 관한 광범위한 연구가 기대된다.

인삼의 성분 중 인삼 사포닌의 함량과 ginsenoside 패턴은 품종, 산지, 재배년수, 생육환경에 따라 상이하며 인삼의 동체부위보다 피부, 미삼부위에서 비교적 높고 특히 광합성과 밀접한 관계를 갖는 인삼잎에도 조사포닌 함량이 10~13% 정도로 매우 높고 그 조성도 인삼근과 유사한 것으로 보고되었다(27,28).

최근 Zhang 등(29)은 F₁, F₂, F₃ 이외에 인삼잎의 미량 사포닌으로 3 β , 6 α , 12 β -trihydroxy-dammar-20(22),24-diene-6- α -L-rhaminopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside를 분리, 규명하여 ginsenoside F₄로 명명하였으며 계속해서 새로운 23-oxygenated dammarane 사포닌을 분리하여 ginsenoside La로 명명하였다(30).

한편 인삼잎 성분도 유효성과 약리효능에 대한 연구(3, 27-30)가 시도되면서 인삼잎의 효과적인 활용에 많은 관심이 모아지게 되었다. 인삼의 부위별 saponin 함량 비교에서 인삼잎은 인삼근보다 약 4~5배, 줄기보다는 9배 이상 높고 그 구성 ginsenoside도 인삼근과 유사한 사실이 확인됨에 따라(27-30) 새로운 자원으로 인삼잎의 이용가치가 새롭게 평가되고 있다.

이와 같이 인삼잎은 사포닌 성분 등 의약적 자원으로 가치 가지고 있음에도 유용하게 활용되지 못하고 거의 폐기되는 실정이다. 이에 본 연구자들은 인삼잎과 줄기를 혼합하여 추출한 인삼잎, 줄기 혼합 추출물을 동물의 사료로 이용하거나 또는 현대인들이 저렴하고 손쉽게 사용할 수 있는 기능성 식품 또는 건강식품으로 개발할 수 있는지 여부를 판단하고자 인삼잎, 줄기 혼합 추출물에 대해 영양성분, ginsenoside 함량을 측정하였고 세포 독성 실험을 통해 기본적 안전성을 평가하였다.

재료 및 방법

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 제조

4~5년근의 인삼(강화도)을 수확하고 잎이 달린 줄기를 비닐하우스에서 건조하였다. 건조된 인삼잎과 줄기를 3 : 2의 중량으로 섞어 이의 5배(v/w) 중량의 물을 증탕기(Mammoth IV, Sewon Engineering, Korea)에 넣고 98°C에서 14시간 추출하였다. 이때 20분마다 저어서 내용물이 잘 섞이게 해주면서 첨가된 수분의 양이 1/3 정도로 농축될 때까지 끓여 준다. 완성된 추출액은 냉각하여 여과하고 밀폐용기에 담아 4°C에서 보관하였다가 시료로 사용하였다.

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 영양성분 분석

일반성분, 무기질 및 아미노산 함량은 다음의 방법에 따라 3회 반복실험하였다.

일반성분 : 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 및 식이섬유소 함량을 식품공전(31)의 방법에 의해 분석하였다. 즉, 수분함량은 105°C 상압가열건조법, 조단백질은 Semi-micro kjeldahl법(kjeltec 1030 Auto Analyzer, Tecator, Sweden), 조지방 함량은 Soxhlet 추출법(IS-31-GWB15, Ilsin, Korea), 식이섬유 함량은 H₂SO₄-NaOH 분해법(Fiberatec system M 1020 Hot Extract, Tecator, Sweden), 조회분은 직접회화법으로 측정하였다. 당질은 총 100에서 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 및 식이섬유소를 뺀 값으로 계산하여 구하였다.

무기질 함량 : 무기질 함량은 습식법(31)으로 전처리하여 Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer (Plasmacan, Labtest, Australia)를 이용하여 각각의 과정에서 측정하여 함량을 계산하였다.

아미노산 함량 : Hwang 등(32)의 방법과 같이 일정량 정밀히 달아 50 mL cap tube에 넣고 6 N-HCl용액을 20 mL 가하여 녹인 후 밀봉하여 110°C에서 24시간 가수분해시켰다. 이를 50 mL 원심분리관에 옮기고 용기를 0.01 N-HCl용액으로 잘 씻어 원심분리관에 합치고 여기에 2 N-NaOH용액 2 mL를 넣고 중화한 후 5,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상층액을 따로 취하여 60°C의 수욕상에서 질소가스를 통과시키면서 농축하고 잔류물을 0.02 N-HCl 20 mL에 녹이고 이를 0.45 μ L filter로 여과한 후 시험용액으로 하였다. 정량은 아미노산 혼합 표준용액과 시험용액을 아미노산 분석기에 주입하여 chromatogram의 peak 면적으로 계산하였으며 아미노산 분석기(Pharmacia Biotech, Cambridge, England)의 분석조건은 buffer flow rate 0.25 mL/min, column pressure 80~130 kg/cm³, column temperature 53°C, analysis cycle time은 70분이었다.

지방산 조성 : 지방산 조성은 Folch 등의 방법(33)에 따라 0.5 N-NaOH/MeOH로 추출한 후 Morrison과 Simth의 방법(34)에 의해 BF₃-methanol로 methylation하여 Gas Chromatography(Hewlett Packard 6890, Denver, USA)에 주입하여 함량을 분석하였다. 각 지방산 함량은 자동면적분석기에서 area%(percent of total fatty acid)로 구했으며 각 지방산의 동정은 동일한 조건 하에서 standard fatty acid ester 등(Nu check Co., GLC 87A)에 대해 분석하여 얻은 retention time과 비교하여 이루어졌다. 이때 detector는 FID, column은 HP-FFAP를 사용하였다.

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 ginsenoside 함량 분석

인삼잎, 줄기 추출물 200 mL를 Diaion HP-20(Mitsubishi Chemical Co., Japan) 컬럼(bed volume 1200 mL)에 통과시키고 증류수 400 mL로 컬럼을 세척하였다. 컬럼에 흡착된 사포닌을 100%메탄올 400 mL로 용출시키고 농축한 다음 20% 메탄올 100 mL에 용해하였다. 이 중 10 mL를 C₁₈(YMC*

GEL ODS-A, 75 μ m, YMC Co., Japan) 컬럼 (bed volume 20 mL)에 통과시키고 20% 메탄올 100 mL로 컬럼을 세척하였다. 컬럼에 흡착된 사포닌을 90% 메탄올 100 mL로 용출시키고 농축한 다음 100% 메탄올 25 mL에 용해하였다(35).

HPLC system으로서 펌프는 미국 Waters사의 모델 510을, 검출기는 미국 Alltech사의 모델 ELSD 2000을 사용하였다. 컬럼은 Lichrosorb NH₂(25×0.4 cm, 5 μ m, Merck Co.)를, 이동상으로 용매 A는 acetonitrile/water/isopropyl alcohol (80:5:15), 용매 B는 acetonitrile/water/isopropyl alcohol (80:20:15)을 사용하였다. 용매 A와 B의 혼합비율은 초기에 A:B가 70:30이었고 20분간 0:100으로 상승시켜 35분간 유지시켰다. 시료의 주입량은 20 μ L이었고 용매의 유속은 분당 1 mL이었다(35).

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 세포독성실험

인삼부산물들의 활용에 있어 안전성 평가를 위해 정상세포 즉 kidney cell(VERO 76)과 liver cell(NCTC)을 이용하여 MTT [3-(4,5-dimethyliazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide]와 NR(Neutral Red) assay를 실시하였다.

MTT assay : 한국 세포주 은행(KCLB)에서 분양받은 liver cell(NCTC clone 1469)과 kidney cell(VERO)을 3.23×10^5 cell/well, 4.6×10^4 cell/well로 조정 후 96 well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 상등액을 제거한 후에 준비된 시료(10 μ L, 20 μ L, 50 μ L, 100 μ L/200 μ L medium)와 에멀전 시료(DMSO에 1차 dilution시켜서 0.0017 μ L, 0.00425 μ L, 0.0085 μ L/200 μ L medium)를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 그런 다음 상등액을 제거하고 50 μ L의 MTT 용액(5 mg/mL)에 넣고 4시간 후에 MTT 용액을 제거한 후 DMSO를 100 μ L 가하여 실온에서 5~10분 동안 shaking시킨 후에 540 nm에서 ELISA reader(Power Wave X, Bio-Tek Instruments, Inc, USA)

로 흡광도를 측정하였다(36).

NR assay : 한국 세포주 은행(KCLB)에서 분양받은 liver cell(NCTC clone 1469)과 kidney cell(VERO)을 96 well plate에 3.23×10^5 cell/well, 4.6×10^4 cell/well로 조정된 세포를 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 상등액을 제거한 후에 준비된 시료(10 μ L, 20 μ L, 50 μ L, 100 μ L/200 μ L medium)와 에멀전 시료(DMSO에 1차 dilution시켜서 0.0017 μ L, 0.00425 μ L, 0.0085 μ L/200 μ L medium)를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 그런 다음 상등액을 제거하고 NR 용액(4 mg/mL) 200 μ L를 가하여 3시간 동안 배양하였으며, NR 용액을 제거하고 1% acetic acid, 50% ethanol을 200 μ L를 가하여 실온에서 5~10분 동안 shaking시킨 후에 540 nm에서 ELISA reader(Power Wave X, Bio-Tek Instruments, Inc, USA)로 흡광도를 측정하였다(36).

결과 및 고찰

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 영양성분

Table 1에는 인삼잎과 줄기를 추출한 액의 일반 영양성분, 무기질, 아미노산 등의 함량을, Table 2에는 지방산 조성을 나타내었다.

인삼의 영양성분에 관한 내용은 Kim(37), Sekiya와 Okuda(38) 및 Yokozawa 등(39)의 보고에 의하면 인삼은 79%가 탄수화물이며 조단백 10~11%, 조섬유 7~8%, 조지방 1~2%, 조회분 3~4%이고 조사포닌은 4~5% 수준이었다. 또한 Lee(40)는 인삼의 수분함량이 10.1%, 조단백질 15.2%, 조지방 1.3%, 조회분 8.0% 및 탄수화물 65.4%(당 57.4%, 조섬유 8.0%)이라고 보고하였다. 인삼의 영양성분은 종류나 재배지 및 환경에 따라 다소 차이가 있겠으나 구성 영양소의

Table 1. Nutritional compositions of the leaf and stem extract

Nutrient	Ingredient	Content	Ingredient	Content
General nutrition (%)	Moisture	96.61	Carbohydrate	2.51
	Crude ash	0.53	Crude fat	0.20
	Crude protein	0.15		
Minerals ¹⁾ (mg/100 g)	Na	19.23	K	102.56
	Ca	60.80	P	14.36
	Mg	24.21	Fe	1.97
	Cu	0.02	Zn	0.32
	Mn	1.34		
Amino acid ²⁾ (mg/100 g)	Aspartic acid	4.20	Glutamic acid	12.81
	Lysine	1.77	Arginine	1.87
	Histidine	2.90	Threonine	0.92
	Serine	2.99	Proline	4.19
	Glycine	4.58	Alanine	4.65
	Cysteine	0.92	Valine	3.83
	Methionine	0.85	Isoleucine	1.81
	Leucine	3.30	Tyrosine	2.23
	Phenylalanine	2.77	Tryptophan	0.32

^{1,2)}The contents were calculated by wet basis %.

함량비율은 같은 양상으로 볼 수 있겠다.

한편 인삼의 무기질 함량에 관한 연구는 Lee 등(41)이 보고한 한국산 인삼과 홍삼의 무기질 성분 비교에 의하면 한국산 인삼은 칼슘(3787 ppm), 칼륨(17650 ppm), 나트륨(285.6 ppm), 철분(142.9 ppm), 망간(43.91 ppm)으로 제시되어 있고 인삼의 아미노산의 조성을 일부 분석한 결과(42)와 지질 성분을 분석·비교한 논문(43,44)들도 보고되어 있으나 인삼 부산물에 관한 자료는 전무하다.

인삼의 잎과 줄기의 일반성분은 Lee(40)의 결과에 의하면 수분이 각각 10.9%, 10.3%, 조단백질이 14.8%, 9.3%, 조지방이 3.7%, 2.0%, 조회분이 13.7%, 8.9% 및 당류가 각각 54.9%, 59.5%, 조섬유 함량이 각각 13.7%, 8.9%로 나타나있다.

본 연구에서 사용한 인삼잎과 줄기의 혼합 추출물은 수분 96.61%, 당질 2.51%, 조회분 0.53%, 조지방 0.20% 및 조단백질 0.15%로 구성되어 있었다. 또한 무기질 중에서는 칼륨(102.56 mg%), 칼슘(60.80 mg%), 마그네슘(24.21 mg%), 나트륨(19.23mg%), 인(14.36 mg%) 및 소량의 철분, 구리, 망간, 아연 등이 함유되어 있었다(Table 1). 아미노산의 경우 glutamic acid가 12.81 mg%로 그 함량이 가장 높았고 alanine>glycine>aspartic acid>proline 순으로 많이 함유되어 있었다.

인삼잎과 줄기의 혼합 추출물의 지방산 조성은 Table 2에서 나타낸 바와 같이 불포화지방산 함량이 포화지방산보다 높은 것으로 나타났다.

Ko와 Chung(45)은 인삼의 지방산 조성을 보고하였는데

Table 2. Fatty acid compositions of the leaf and stem extract

Fatty acid	Content ¹⁾
C12:0	0.53
C14:0	2.53
C15:0	0.42
C15:1	0.02
C16:0	39.99
C16:1	1.10
C18:0	0.02
C18:1	0.26
C18:2 (ω6)	14.96
C18:3 (ω6)	8.74
C18:3 (ω3)	12.19
C20:2 (ω6)	3.48
C20:4 (ω6)	0.92
C20:3 (ω3)	0.28
C20:5 (ω3)	0.34
C22:4 (ω6)	13.31
C22:6 (ω3)	0.91
ΣSFA ²⁾	43.48
ΣMUFA ³⁾	1.39
ΣPUFA ⁴⁾	55.13
ΣUFA ⁵⁾	56.52

¹⁾Value are expressed as the area percentage of total fatty acid.

²⁾SFA: Saturated fatty acid.

³⁾MUFA: Monounsaturated fatty acid.

⁴⁾PUFA: Polyunsaturated fatty acid.

⁵⁾UFA: Unsaturated fatty acid.

linoleic acid가 42.62%로 가장 높고 palmitic acid, oleic acid, stearic acid 및 linolenic acid 순이었다고 보고한 바 있다. 인삼줄기에는 caproic acid, capronic acid, capric acid, lauric acid, myristic acid 및 palmitic acid 등의 지방산이 함유되어 있었고(44), 지방산 함량은 palmitic acid, linoleic acid, behenic acid 순으로 높다고 하였다(25). 한편 Park 등(24)은 인삼잎에는 26.09%의 linoleic acid, 22.94%의 linolenic acid, 20.48%의 palmitic acid와 그 외 소량의 palmitoleic acid, oleic acid, pentadecanoic acid, stearic acid 등이 함유되어 있었다고 보고하였다. 또한 Choi 등(25)은 palmitic acid, linoleic acid, linolenic acid, oleic acid, pentadecanoic acid 순으로 그 함량이 높다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 잎과 줄기를 함께 섞어 추출한 추출물이므로 앞의 연구들과 비교하기는 어려우나 palmitic acid 함량이 39.99%로 가장 높았고 linoleic acid 함량이 14.96%, docosotetranic acid 함량이 13.31%, linolenic acid 함량이 12.19%이었다. 총 포화지방산(SFA)이 43.48%, 단일불포화지방산(MUFA)이 1.39% 및 다가불포화지방산(PUFA)이 55.13%이었다.

본 연구 결과는 선행연구(24,25)들과 유사한 경향으로 인삼과 같이 인삼잎, 줄기 혼합 추출물도 불포화지방산 함량이 높음을 알 수 있었다. 잎과 줄기를 섞어서 건조한 후 물을 넣고 추출한 액에 대한 일반성분 분석 결과가 없어 절대적인 함량의 비교는 어려우나 인삼을 제외한 잎 또는 줄기를 각각 분석한 선행 연구(25,36-45)의 결과들과 비교시 비슷한 성분 함량을 가지고 있었다고 판단된다. 효능을 지닌 약재의 부산물로서 미약하나마 약리효능을 발휘할 수 있을 것으로 생각된다. 부산물의 활용관점에서 동물의 사료로 사용을 권장할 수 있으리라 생각되며 영양성분뿐 아니라 약리효능을 발휘할 수 있는 ginsenosides의 분석결과와 기타 polyphenol 등의 함량분석을 토대로 향후 생리활성 능력을 조사하여 차 종류로의 이용뿐 아니라 다각도의 활용가능성을 모색할 필요가 있을 것이다.

인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 ginsenoside 함량

인삼 중 배당체 이외 성분의 상승작용이나 잠재적 활성을 무시하는 것은 아니지만 최근에 와서 고려인삼의 dammarane glycoside에 대해서 많은 연구가 집중되고 있고 그들의 약리학적인 활성이 밝혀지고 있다(18-22). 인삼성분에 대한 연구는 지금까지 주로 주근(主根)과 미근(尾根)에 대하여 이루어져왔고 지상부에 대해서는 보고가 거의 없는 실정이다. 특히 전북지방의 일부 재배지역의 白蔘採取團에서 수확 시기에는 아직 인삼잎이 고사하지 않아 이것을 그늘에 말려 두었다가 가축의 약용으로 이용하는 사례가 있으므로(46) 인삼잎과 줄기에 대해 그 약효가 알려지고 있는 dammarane계 사포닌의 함량을 조사하여 인삼채취 후 부산물로 나오는 인삼잎과 줄기를 이용한 제제나 제품 등을 개발할 수 있는 기초 자료를 얻고자 인삼잎과 줄기의 추출물에 대해 ginsenoside

함량을 조사하였다.

Table 3에는 인삼잎과 줄기를 혼합하여 추출한 액의 ginsenoside 함량을 정리하였다.

사포닌은 aglycone의 골격에 따라 triterpenoid계 사포닌과 steroid계 사포닌으로 크게 분류되며 고려인삼의 사포닌은 triterpenoid계 dammarane계 사포닌으로 약성이 매우 온화하고 과량투여에 의한 독성이 없을 뿐만 아니라 용혈작용이 거의 없는 것으로 밝혀져 있다(27). 고려인삼의 사포닌은 비당부분의 구조에 따라 panaxadiol(PD)계, panaxatriol(PT)계 및 oleanane계 사포닌으로 분류되는데, 이 중 PD와 PT는 인삼특유의 사포닌이다. PD계의 ginsenoside는 Ra₁, Ra₂, Ra₃, Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Rs, Rg₃, Rg₅, Rh₁, Rh₂ 등이 있고, PT계에는 Re, Rf, Rg₁, Rg₂의 ginsenoside가 있다(46).

본 결과에서는 ginsenoside Rg₂의 함량이 가장 높았으며 (0.04 mg/mL), Rh(h₁+h₂), Rg₃가 각각 0.14 mg/mL, 0.12 mg/mL 함유되어 있었고 Rg₁, Rd, Rb₂, Rb₁, Rf 및 Rc 순으로 그 함량이 높았다. Panaxadiol(PD)사포닌이 0.33 mg/mL, panaxatriol(PT)사포닌이 0.49 mg/mL 함유되어 있었고 총 ginsenoside의 양(PD+PT)은 0.82 mg/mL이었다.

Chang의 연구(27)에서 인삼잎을 이용해서 만든 차의 제조 방법에 따라 ginsenoside 함량이 최저 6.86%(dry basis)에서 최고 7.50%로 제시되어 있고 세포배양 및 모상근 배양을 통한 ginsenosides의 생산과정에서는(23) 그 함량이 평균 5.05 mg/g(dry weight)로 분석되었다.

3년근과 4년근 인삼잎의 에탄올 추출물 중 panaxadiol(PD)의 함량은 각각 0.51%, 0.57%이었고 panaxatriol(PT)의 함량은 각각 1.48%, 1.57%이었다(46). 또한 3년과 4년근 줄기의 PD 함량은 각각 0.08, 0.08%, PT 함량은 각각 0.19% 이었고 잎에서 PD/PT의 비율은 3년근이 0.35, 4년근이 0.36 이었고 3년근 및 4년근 줄기의 PD/PT 비율은 각각 0.446, 0.40이었다(46). 본 연구에서 총 ginsenoside 함량은 0.82 mg

이고 PD 계열은 0.33 mg/mL, PT 계열은 0.49 mg/mL였고 PD/PT 비율은 0.68이었다.

여러 가지 ginsenoside의 약리효능이 보고되어 있으나(30) 본 연구의 인삼 부산물의 ginsenoside 함량이 약리효능을 발휘하는지의 여부는 동물실험 등을 통해 확실한 효능확인을 필요로 한다. 보고된 인삼의 ginsenoside 함량과 비교 시에는 매우 미비한 양의 ginsenoside를 함유하고 있었으나 오히려 극소량의 함량이 식품으로의 활용을 위해서는 더욱 바람직한 측면도 있을 것으로 생각된다.

인삼의 복용형태는 일반적으로 전제(煎劑), 엑스제 및 산제(散劑)로서 제품 형태에 따라 capsules, tablets, drinks 등으로 구분된다. 인삼은 나라에 따라 식품으로 또는 의약품으로 분류되어 사용되고 있으며(47), 특히 식품의 경우에는 복용량에 대한 기준이 설정되어 있지 않다. 이처럼 인삼은 식품과 의약품으로 혼용되고 있기 때문에 과연 얼마를 복용해야 되느냐가 항상 관심의 대상이 된다. 한의학적으로 무독하고 장기복용이 가능한 上藥으로 사용되어 왔으므로 투여용량 영역이 좁은 합성치료약물의 경우와는 다르기 때문에 인삼의 복용량에 대한 검토가 다소 등한시되어 왔다. 특히 인삼은 단순한 전통약물로서 동양권뿐만 아니라 서구권에서도 그 소비가 증가추세에 있어 서양의학적 관점에서 인삼의 사용과 복용에 대한 이해가 요망되고 있다. 앞으로 인삼의 적정 투여용량 설정과 관련하여 인체실험을 통한 활성성분의 pharmacokinetics와 생체내 bioavailability에 대한 연구가 이루어져야겠으나 본 연구에서 사용한 인삼 부산물의 성분과 약리효능을 지닌 ginsenosides 함량을 고려하여 이들을 동물의 사료나 건강식품 또는 기능성 식품의 원료로 사용할 수 있는 가능성도 있다고 생각된다. 앞으로 본 연구자들은 임상실험을 통해 기능성 평가에 관한 연구를 지속하고자 하며 본 결과가 인삼 부산물인 잎과 줄기를 이용한 제품의 개발 및 기능성 평가에 있어서도 참고적인 자료가 되기를 기대한다.

인삼잎, 줄기 혼합 추출물이 정상세포의 세포독성에 미치는 영향

MTT와 NR assay(Table 4)와 sirius red로 염색하여 관찰한 결과 정상적인 간과 신장세포에서 cytotoxicity를 관찰할 수 없었다(data not shown). 즉 인삼잎, 줄기 혼합 추출물은 세포성장과 분화비율을 증진시키고 간과 신장세포의 미토콘드리아와 라이소좀에는 어떠한 negative effect를 나타내지 않았다. 따라서 인삼의 잎과 줄기 혼합 추출물은 정상세포의 성장에 큰 영향을 미치지 않았고 cell viability가 control보다 높게 나타나 오히려 정상세포의 성장에 유익한 효과가 있을 것이라고 볼 수 있겠다. 이 결과를 기초로 향후 세포 성장에 미치는 영향을 좀 더 자세히 조사해 보면 인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 또 다른 효능을 확인해 볼 수 있으리라 생각된다.

Table 3. Ginsenosides content of the leaf and stem extract (mg/mL)

Ginsenosides	Content
Panaxadiol type	
Ginsenoside	
- Rb ₁	0.007
- Rb ₂	0.035
- Rc	0.003
- Rd	0.036
- Rg ₃	0.115
- Rh ₁ + Rh ₂	0.136
Panaxatriol type	
Ginsenoside	
- Rf	0.005
- Rg ₁	0.066
- Rg ₂	0.417
PD Ginsenoside	0.332
PT Ginsenoside	0.488
Total Ginsenoside	0.820
PD/PT	0.680

PD: panaxadiol, PT: panaxatriol.

Table 4. Cell growth and viability of the leaf and stem extract¹⁾

Concentration	MTT ²⁾		NR ³⁾	
	Vero	NCTC	Vero	NCTC
Control	100.0	100.0	100.0	100.0
10 µL/200 mL medium	141.8	180.9	177.9	164.9
20 µL/200 mL medium	165.4	237.7	130.8	179.5
50 µL/200 mL medium	195.2	239.5	119.9	180.4
100 µL/200 mL medium	181.8	241.0	94.7	200.0

¹⁾Ratio of cell existence (%).

²⁾MTT: 3-(4,5-dimethyliazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide.

³⁾NR: Neutral red assay.

요 약

인삼을 재배한 후 널리 이용되지 못하고 있는 잎, 줄기 등 인삼 부산물의 활용방안을 모색하고자 연구를 수행하였다. 이에 따라 인삼잎과 줄기를 혼합하여 추출한 추출물을 대상으로 일반 영양성분 함량, 무기질 함량, 아미노산 및 지방산 조성을 분석하고 세포독성에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 수분함량은 96.61%, 탄수화물 2.51%, 조회분 0.53%, 조지방 0.20% 및 조단백질이 0.15%이었다. 무기질 중 칼륨함량이 102.56 mg/100 g으로 가장 높았고 그 외 칼슘, 마그네슘, 나트륨, 인 및 철분, 망간, 아연, 구리도 함유되어 있었다. Glutamic acid와 aspartic acid 등 산성아미노산 함량이 높게 나타났고 필수 아미노산이 모두 함유되어 있었다. 또한 불포화지방산 함량은 56.52%이었고 palmitic acid 함량이 39.99%로 가장 높았고, linoleic acid 14.96%, docosatetraoic acid 13.31%, linolenic acid 12.19%의 순이었다. 인삼의 총 ginsenoside 함량은 0.82 mg/mL이었고 PD/PT 함유 비율은 0.68이었다. 정상적인 간과 신장 세포의 생존율에는 negative effect를 나타내지 않았고 미토콘드리아와 라이소좀 수준에서 세포독성을 나타내지 않았다. 인삼잎, 줄기 혼합 추출물의 약리효능을 나타내는 ginsenoside의 함량이 0.82 mg/mL로서 비교적 소량 함유되어 있으나 인삼 부산물의 활용차원에서 동물의 사료나 기능성 식품 재료로의 사용은 가능할 것으로 생각된다. 향후 동물실험 및 임상실험을 이용한 기능성 평가를 통해 확실하고 구체적인 활용방안의 모색이 요구되어진다.

문 헌

1. 홍문화. 1980. 한국인삼사. 삼화인쇄주식회사, 서울. p 48.
2. Brekhman II. 1957. *Panax ginseng*. Gosudarst Isdat et Med Lit, Leningrad p 182.
3. Shibata S, Fujita M, Itokawa H, Tanaka O. 1962. The structure of panaxadiol, a saponin of ginseng. *Tetrahedron Lett* 10: 419-421.
4. Hörhammer L, Wagner H, Lay B. 1961. Zur Kenntnis der Inhaltstoffe von radix *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Pharm Ztg* 106: 1307-1313.

5. Han BH. 1972. Current status of Korean ginseng research. *Korean J Pharmacog* 3: 151-152.
6. Sanada S, Kondo N, Shoji J, Tanaka O, Shibata S. 1974. Studies on the saponins of ginseng (I). *Chem Pharm Bull* 22: 421-424.
7. Benishin GC. 1992. Actions of ginsenoside Rb₁ on choline uptake in central cholinergic nerve endings. *Neurochem Int* 21: 1-5.
8. Saito H, Nishiyama N. 1988. Effect of ginseng and its saponins on experimental amnesia in mice and on cell cultures of neurons. 5th Int'l Ginseng Symp of Korean Ginseng Society. Seoul, Korea.
9. Kikuchi Y, Sasa H, Kita T, Hirata J, Tode T. 1991. Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation in vitro by ginsenoside-Rb₂ and adjuvant effects of cisplatin *in vivo*. *Anticancer Drug* 2: 63-67.
10. Singh VK, Agarwal SS, Gupta BM. 1984. Immuno modulatory activity of *Panax ginseng* extract. 4th Int'l Ginseng Sym of Korean Ginseng Society. Seoul, Korea.
11. Huo Y, Chen Y. 1988. The effect of *Panax ginseng* extract on insulin and corticosteroid receptors. *J Traditional Chinese Medicine* 8: 293-295.
12. Oura H, Hiai S. 1973. Physical chemistry of ginseng. *Metabolism Disease* 10: 564-569.
13. Kim HY, Chen X, Gills CN. 1992. Ginsenoides protect pulmonary vascular endothelium against free radical induced injury. *Biochem Biophys* 189: 670-676.
14. Kang SY, Kim ND. 1992. The antihypertensive effect of red ginseng saponin and the endothelium-derived vascular relaxation. *Korean J Ginseng Sci* 18: 175-182.
15. Ogita S, Samugawa K. 1994. Clinical effectiveness of Korea ginseng on patients with climateric disturbance. *The Ginseng Review* 18: 95-98.
16. Saito H, Bao TT. 1984. Effect of red ginseng on mice exposed to various stress. 4th Int'l Ginseng Sym of Korean Ginseng Society. Seoul, Korea.
17. Kim ND, Han BH, Lee EB, Kong JY, Kim MH, Jin CB. 1979. Studies of ginseng on the antistress effects. *Korean J Pharmacog* 10: 61-67.
18. Brekhman II. 1976. Ancient ginseng and pharmacology. Symp of Institute of Gerontology. Lugano, Switzerland.
19. Choi JH, Oh SK. 1983. Studies on the anti-aging action of Korea ginseng. *Korean J Food & Nutr* 12: 323-335.
20. Mei B, Wang YE, Wu JX, Chen WZ. 1994. Protective effects of ginsenosides on oxygen free radical induced damages of cultured vascular endothelial cells in vitro. *Yao Hsueh Hsuuh Pao* 29: 801-808.
21. Jung NP, Jin SH. 1996. Studies on the physiological and biochemical effects of Korea ginseng. *Korea J Ginseng Sci* 20: 431-471.
22. Kim JH, Chang EJ, Oh HI. 2001. Effects of media and growth regulators on the growth and saponin production of ginseng root. *J Ginseng Res* 25: 130-135.
23. Yang DC, Choi HY, Kim YH, Yun KY, Yang DC. 1996. Growth and ginsenoides production of hairy root *via* light energy. *Korean J Ginseng Sci* 20: 318-324.
24. Park H, Park HS, Hong JU. 1986. Effect of high temperature and growth light intensity on fatty acid composition of *Panax ginseng* leaf. *J Korean Agricultural Chemical Society* 29: 366-371.
25. Choi KJ, Kim MW, Kim DH. 1983. Fatty acid compositions of the various parts of ginseng plant. *Korean J Food & Nutr* 12: 357-363.
26. Kim HJ, Jo JS, Nan SH, Park SH, Mhee KC. 1983. Free sugar distribution in ginseng plant and change of it's con-

- tent in the root with dehydration. *Korean J Ginseng Sci* 7: 44-50.
27. Chang HK. 2003. Effect of processing methods on the saponin contents of panax ginseng leaf-tea. *Korean J Food & Nutr* 16: 46-53.
 28. Lee JW, Do JH. 2001. Antioxidative activity of ethanol extraction fraction from the Korean red tail ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 33: 497-500.
 29. Zhang S, Takeda T, Zhu T, Chen T, Yao X, Tanaka Y, Okihara Y. 1990. A new minor saponin from the leaves of panax ginseng. *Planta Med* 56: 298-301.
 30. Zhang S, Yao X, Chen Y, Cui C, Tezuka T, Kikuchi T. 1989. Ginsenoside La, a novel saponin from the leaves of panax ginseng. *Chem Pharm Bull* 37: 1966-1968.
 31. 한국식품공업협회. 2001. 식품공전. 문영사, 서울.
 32. Hwang JB, Yang MO, Shin HK. 1998. Survey for amino acid of medicinal herbs. *Korean J Food Sci Technol* 30: 35-41.
 33. Folch J, Lees M, Slane SGH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226: 497-509.
 34. Morrison WR, Smith LM. 1964. Preparation of fatty acid methylester and dimethylacetals from lipid with boron trifluoride-methanol. *J Lipid Res* 5: 600-608.
 35. Shin JY, Choi EH, Wee JJ. 2001. New methods for separation of crude ginseng saponins. *Korean J Food Sci Technol* 33: 166-172.
 36. Dnizot FD, Rita L. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *J Immunol Methods* 22: 271-277.
 37. Kim DY. 1973. Studies on the browning of the red ginseng. *J Korean Agr Chem Soc* 16: 60-66.
 38. Sekiya K, Okuda A. 1981. Purification of an antilipolytic substance from *Panax ginseng*. Symp of Ginseng Research Society. Wakan-Yaku, Japan.
 39. Yokozawa T, Sero H, Oura H. 1975. Effect of ginseng extract on lipid and sugar metabolism. *Chem Pharm Bull* 23: 3095-3099.
 40. Lee SD. 1985. A study on the change of cholesterol contents by supplement of the panax ginseng by products in the dietary protein level in rat's heart and testis. *Korean J Chemistry* 2: 55-61.
 41. Lee JW, Lee SK, Do JH. 2002. Comparison of the content of saponin and mineral component in Korean red ginseng and other red ginseng. *J Ginseng Res* 26: 196-201.
 42. Lee HJ, Yoo BS, Byun SY. 2000. Differences in free amino acids between Korean ginsengs and mountain ginsengs. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 323-328.
 43. Choi KJ, Kim MW, Kim DH. 1985. Studies on the lipid components of various ginseng. *Korean J Ginseng Sci* 9: 204-212.
 44. Sohn KM, Sung TS, Cho YJ, Lee KS, Choi C. 1988. Lipids and free sugar composition in ginseng classified by years. *J Korean Agri Chem Soc* 31: 169-176.
 45. Ko YS, Chung BS. 1981. Studies on the oil soluble constituents of Korean ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 13: 15-19.
 46. Yang HC. 1977. Studies on the saponin of ginseng leaves. *Research Paper in Chungnam University* 8: 117-121.
 47. Nam KY, Park JD. 2000. Usage and dosage of ginseng radix based upon traditional and recent scientific clinical applications. *J Ginseng Res* 24: 99-105.

(2004년 2월 25일 접수; 2004년 5월 17일 채택)