

원 저

인삼과 산양삼, 산삼의 HPLC를 이용한 부위별 성분 분석 비교

한영주* · 권기록* · 차배천** · 권오만***

* 상지대학교 한의과대학 침구학교실

** 상지대학교 동물생명자원학부

*** 천방농산 영농조합

Component analysis of cultivated ginseng, cultivated wild ginseng, and natural wild ginseng by structural parts using HPLC method

Young-Ju, Han · Ki-Rok, Kwon* · Bae-Chun, Cha** · Oh-man, Kwon***

* Dept. of Acup & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Sangji University

** Devision of Animal resources and life science, Sangji University

*** ChunBangNongSan

Abstract

Objectives: The aim of this experiment is to provide an objective differentiation of ginseng, Korean and Chinese cultivated wild ginseng, and natural wild ginseng through component analysis of different parts of ginseng.

Methods: Comparative analyses of ginsenoside-Rg₁, ginsenoside-Rh₂, and ginsenosides Rb₁ and Rg₁ from the root, stem, and leaves of ginseng, Korean and Chinese cultivated wild ginseng, and natural wild ginseng were conducted using HPLC.

Results: 1. For content comparison of leaves, ginseng showed highest content of ginsenoside Rg₁ than other samples. Natural wild ginseng showed relatively high content of ginsenosides Rg₁ and Rb₁ than other samples.

2. For content comparison of the stem, ginseng and 10 years old Chinese cultivated wild ginseng didn't contain ginsenoside Rb₁. Natural wild ginseng showed higher content of ginsenosides Rg₁ and Rb₁ than other samples.

3. For content comparison of the root, ginsenoside Rh₂ was found only in 5 and 10 years old Korean cultivated wild ginseng.

4. Distribution of contents by the parts of ginseng was similar in ginseng and Chinese cultivated wild ginseng.

Conclusions: Above experiment data can be an important indicator for the identification of ginseng, Korean and Chinese cultivated wild ginseng, and natural wild ginseng.

Key words : cultivated wild ginseng, wild ginseng, HPLC, ginsenosides Rg₁, Rb₁, Rg₂, Rh₂

1. 서 론

山蔘은 五加科(Araliaceae)에 속한 다년생 초목인 人蔘(*panax ginseng* C. A. Meyer)이 야생상태에서 자연 발

아하여 성장한 蔘을 일컬으며¹⁾ 山養蔘은 산삼의 씨앗이 나 幼蔘을 인위적으로 산에서 재배한 蔘을 말한다.

예로부터 山蔘은 대표적인 補氣劑로, 신비한 약으로 여겨졌으며 그 모양새가 사람을 닮았다고 하여 人蔘으로 표현되어 왔다²⁾. 현재까지 보고된 인삼의 효능은 신경의 기능을 조절하고³⁾, 체액과 신진대사기능을 조절하며⁴⁾, 강심, 항이노 및 성기능 증강효과가 있고⁵⁾, stress에

※ 교신저자 : 강원도 원주시 우산동 283
상지대학교 부속 한방병원 침구과
(Tel : 033-741-9257 E-mail: beevenom@paran.com)

대한 저항력을 높이며⁶⁷⁾, 소화흡수 및 면역항체생산을 촉진시키는 등⁸⁹⁾ 많은 연구가 보고되고 있다. 이러한 연구 결과는 재배되어진 인삼을 재료로 한 결과이고 높은 가격이나 희귀성 등 여러 가지 문제로 산삼이나 산양삼에 대한 연구는 거의 찾아볼 수 없는 실정이다. 이러한 연구 부재는 최근 언론의 보도에서 밝혀진 것처럼 중국산이나 한국산 산양삼이 자연산으로, 중국산이나 서양산, 혹은 移蔘 등이 한국산 산양삼으로 거래되는 심각한 부작용을 초래하고 있다. 현재 산삼을 감별하는데 사용되는 방법은 개인의 경험에 의존하는 경향이 많아 객관적 감별법의 확보가 필요한 실정이다.

이러한 문제점을 개선하기 위한 노력으로 권 등¹⁰⁾이 유전자 분석법의 일종인 파이로시퀀싱 (Pyrosequencing) 분석법을 이용한 파낙스 종 (Panax species)의 종간 연관성과 유전적 변이를 평가하여 고려삼인 Panax ginseng 과 서양삼인 Panax quinquefolia를 쉽게 감별할 수 있는 방법을 제시한 바 있다.

하지만 Panax ginseng과 같은 동종간에는 적용이 불가능한 단점이 있어 지역적으로 한국산과 중국산을 감별하고, 성장 배경에 따른 인삼과 산양삼, 그리고 자연산 산삼을 객관적으로 감별할 수 있는 방법이 필요하다고 할 수 있다.

이에 저자는 HPLC (high performance liquid chromatography, 이하 HPLC)를 이용하여 인삼과 한국산 산양삼, 그리고 자연산 산삼의 뿌리, 줄기, 잎에 함유된 지표물질들을 측정 후 비교 분석한 결과 유의한 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 방 법

1. 재료

1) 자연산 산삼 및 산양삼, 인삼

① 자연산 산삼

본 실험에 사용한 자연산 산삼은 2006년 8월 장백산에서 채집한 것으로 비교적 채취 후 시간이 오래 경과하지 않아 줄기와 잎의 상태가 양호한 삼을 선별하였다. 뿌리부터 잎까지 전체 길이는 60cm 전후이었고, 뿌리의 길이는 너두에서 뿌리 끝까지 20cm 전후, 추정 연령은 20년 전후인 5개의 삼을 실험에 사용하였다 (Fig. 1).

② 국내산 및 중국산 산양삼

본 실험에 사용한 국내산 산양삼은 2001년에 파종한 5년생과 1996년에 파종하여 재배한 10년생을 사용하였다. 국내산은 충남 서천시에 있는 천방농산에서 재배한 것을 사용하였고, 중국산은 吉林省 戊松市에 있는 해발 1600m의 장백산 내에서 재배한 10년생을 사용하였으며, 재배자가 직접 파종시기를 확인할 수 있는 삼만을 실험에 사용하였다 (Fig. 2-3).

③ 인삼

본 실험에 사용한 인삼은 10년 이상 한약관련 분야에 종사한 전문가가 직접 강원도 홍천군의 인삼 재배 농가에서 채취한 5년근 인삼을 실험에 사용하였다.

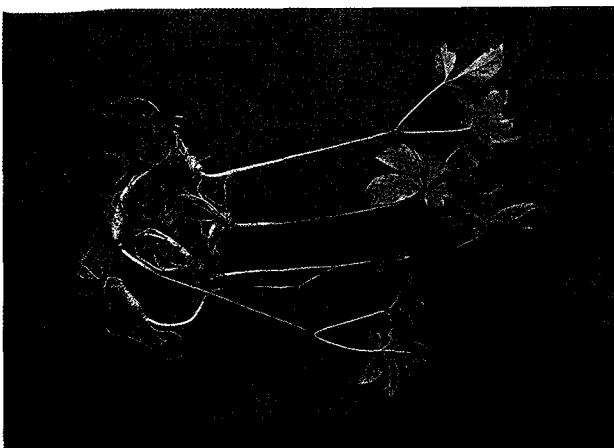


Fig. 1 Wild ginseng with approximate age of 20 years. It measured about 60cm from leaf to the roots wild ginseng from Changbai Mt.

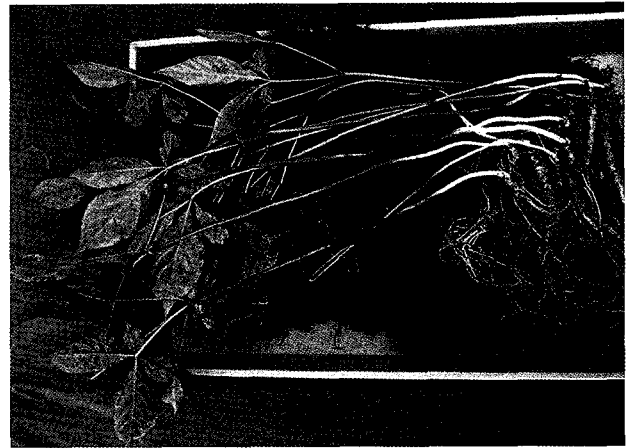


Fig. 2 Cultivated wild ginseng 10 years old Seeded in 1996 at ChonBangNongSan and harvested on Aug. 24, 2006.

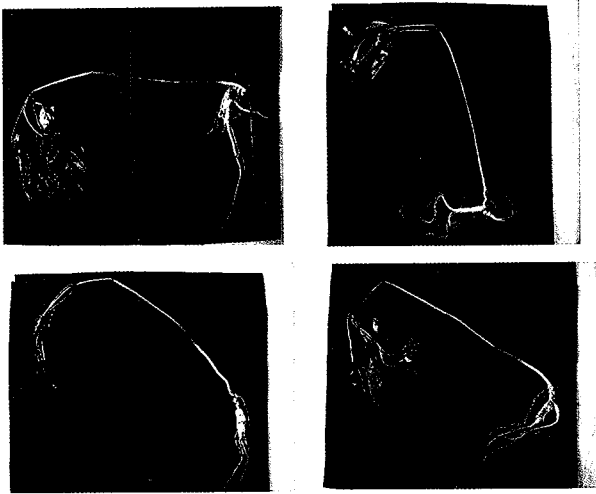


Fig. 3 Chinese cultivated wild ginseng from Mt. Changbai at the altitude of 1600m in Jilin, China. Seeded in 1996 and purchased on Oct. 27, 2006.



Fig. 4 The shape of 5 years cultivated ginseng. Seeded in 2001 at the HongChun city.

2. HPLC를 이용한 산삼, 산양삼 그리고 인삼의 성분분석

1) 실험기기 및 시약

Rotary vacuum evaporator는 Eyela Tokyo Co.의 농축기를 사용하였고, 분석용 HPLC로는 Varian 9012 solvent Delivery System, 검출기는 Varian Variable Wavelength 9050 UV-VIS detector, 그리고 Autosampler는 Varian 9300을 사용하였다. AcCN, MeOH 등의 분석시약은 모두 HPLC용 시약을 사용하여 측정하였으며, 추출 및 분획용 용매는 모두 특급시약을 사용하여 실험하였다.

2) 추출 및 분석시료

음건한 삼류(1-5g)에 80% MeOH 100-500 ml를 가하여 수욕 상에서 3시간씩 3회 환류 추출하여 여과 후 농축한 80% MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 80% MeOH 추출물을 증류수에 현탁시켜 n-hexane, EtOAc 및 n-BuOH 순으로 분획한 후 농축하여 사포닌 주성분 분획물인 n-BuOH 분획물을 얻었다. 조사포닌 n-BuOH 분획물을 사포닌의 패턴 분석을 위한 시료로 사용하였다 (Fig. 5).

3) HPLC의 분석조건

HPLC 조건은 column은 Capcell Pak C18(150×4.6mm, 5

μm, Shiseido Co.)이며 유속은 1 ml/min, column 온도는 40 °C, 시료 주입량은 20 μl로 UV 203 nm에서 실험하였다. 이동상은 분석하고자 하는 사포닌의 종류에 따라서 비극성 사포닌류인 ginsenoside-Rg₃와 ginsenoside-Rh₂의 분석시의 이동상 조건은 Table 1.에, 극성 사포닌류인 ginsenoside-Rb₁과 ginsenoside-Rg₁의 이동상의 분석조건은 Table 2.에 나타내었다.

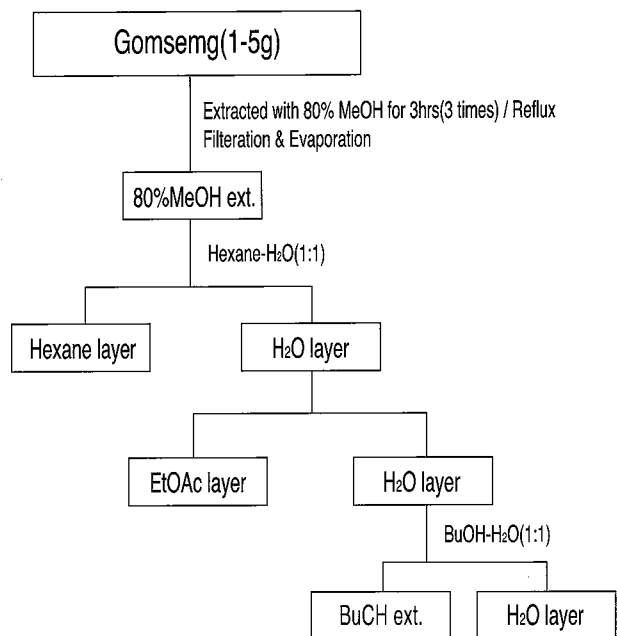


Fig. 5 Manufacturing process of crude saponin by extraction and fraction

Table 1. HPLC condition for analysis of ginsenosides-Rh₂ and Rg₃

Instrument			
Pump	9012 solvent Delivery System, Varian Co.		
Detector	9050 Variable Wavelength UV-VIS Detector, Varian Co.		
Autosampler	9300 Autosampler, Varian Co.		
Column	Capcell Pak C18 (150 × 4.6mm: 5μ), Shiseido Co.		
Operating condition			
UV Absorbance	203 nm		
Column temp.	40°C		
Injection vol.	20 μl		
Mobile phase A	40% Acetonitrile		
Mobile phase B	60% Acetonitrile		
Gradient profile			
Time(min)	%A	%B	Flow(ml/min)
0:00	90	10	1.0
12:00	50	50	1.0
20:00	25	75	1.0
25:00	30	70	1.0
30:00	90	10	1.0

4) 표준액 및 검액의 제조

비극성 사포닌류의 패턴 분석을 위한 표준액은 ginsenoside-Rg₃와 ginsenoside-Rh₂를 각 50μg을 HPLC 용 MeOH 1 ml에 녹여 표준용액으로 하였고, 극성 사포닌류의 패턴 분석을 위한 표준액은 ginsenoside-Rb₁과 ginsenoside-Rg₁ 각 150μg을 HPLC 용 MeOH 1 ml에 녹여 표준용액으로 하였다. 검액은 자연산삼을 패턴 분석의 기본으로 하여 분석하기 위하여 표준산삼의 농도와 유사하도록 7-13 mg/ml의 농도가 되도록 검액을 제조하여 분석하였다.

5) 검량선의 작성

표준품 ginsenoside-Rg₃와 ginsenoside-Rh₂는 500, 200, 100, 80, 50, 20 μg/ml 농도로 희석하여 분석하였고, ginsenoside-Rg₁과 ginsenoside-Rb₁은 1000, 500, 400, 300, 200, 100, 50 μg/ml 농도로 희석하여 분석하였다. 여기에서 얻은 주성분에 대한 피크 면적비 (X축)와 표준품 농도 (Y축)에 대한 검량선을 각각 작성하였다. 검량선의

Table 2. HPLC condition for analysis of ginsenosides-Rg₁ and Rb₁

Instrument			
Pump	9012 solvent Delivery System, Varian Co.		
Detector	9050 Variable Wavelength UV-VIS Detector, Varian Co.		
Autosampler	9300 Autosampler, Varian Co.		
Column	Capcell Pak C18 (150 × 4.6mm: 5μ), Shiseido Co.		
Operating condition			
UV Absorbance	203 nm		
Column temp.	40°C		
Injection vol.	20 μl		
Mobile phase A	15% Acetonitrile		
Mobile phase B	80% Acetonitrile		
Gradient profile			
Time(min)	%A	%B	Flow(ml/min)
0:00	90	10	1.0
30:00	40	60	1.0

그래프는 Fig. 6-9와 같고, 각 ginsenoside류의 검량선의 함수와 결정계수 R²값은 Table 3.에 제시하였다.

III. 결 과

1. 각 시료의 부위별 수율

각 종 삼류의 패턴을 분석하여 산삼 및 산양삼 분석의 표준화 방법을 확립하기 위하여 사포닌 주성분을 함유한 80% MeOH extract와 n-BuOH extract를 제조한 결과 얻어진 수율은 Table 4.과 같았다.

각각의 수율은 자연산 산삼>인삼>산양삼 5년>중국산 10년>한국산 10년의 순으로 나타났고, 부위별 비교에서는 잎의 수율이 높고, 줄기가 낮은 경향을 나타내었다.

80% MeOH extract와 n-BuOH extract의 수율 비교에서는 잎과 뿌리에 비하여 줄기에서 현저하게 n-BuOH extract의 수율이 낮았다.

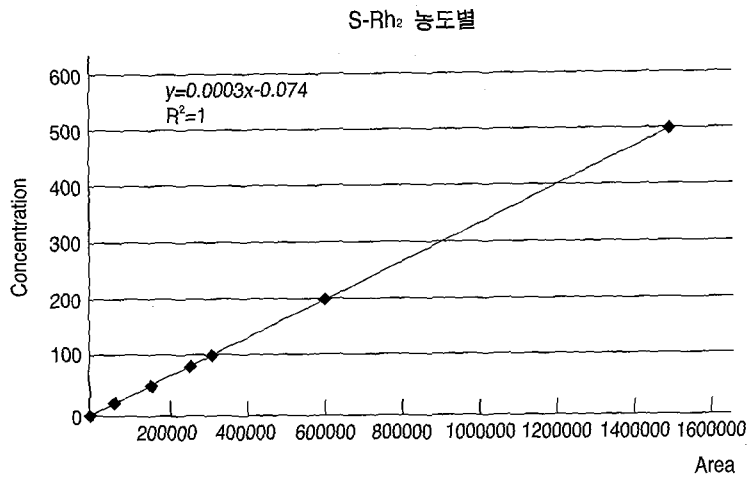


Fig. 6 Calibration curve of ginsenosides Rh₂.

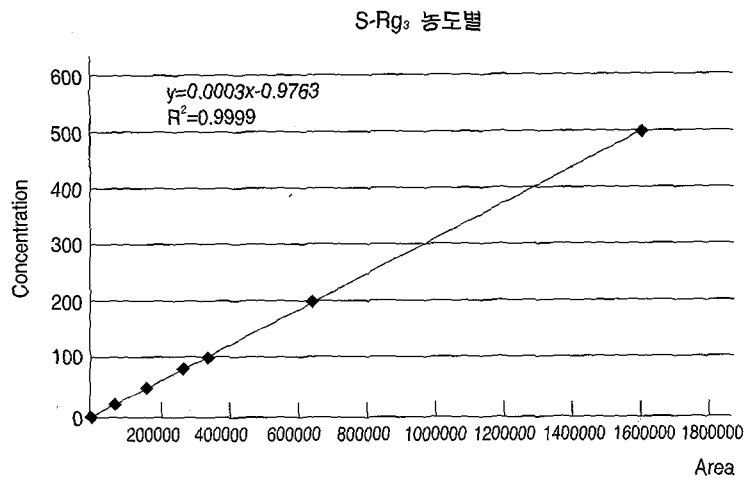


Fig. 7 Calibration curve of ginsenosides-Rg₃.

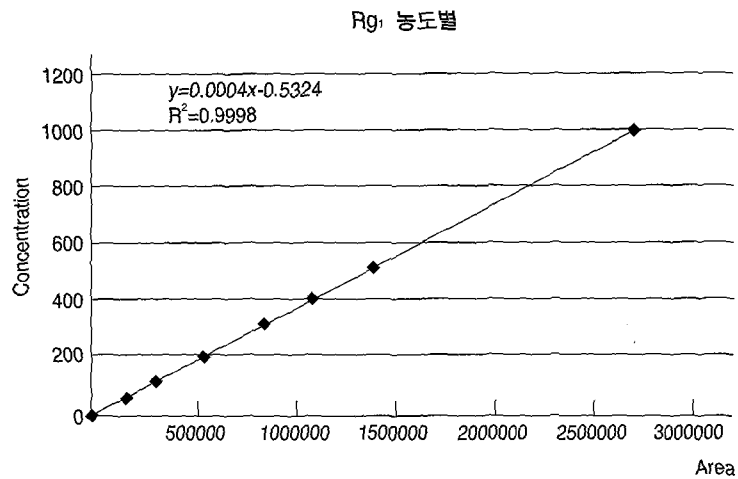


Fig. 8 Calibration curve of ginsenosides-Rg₁.

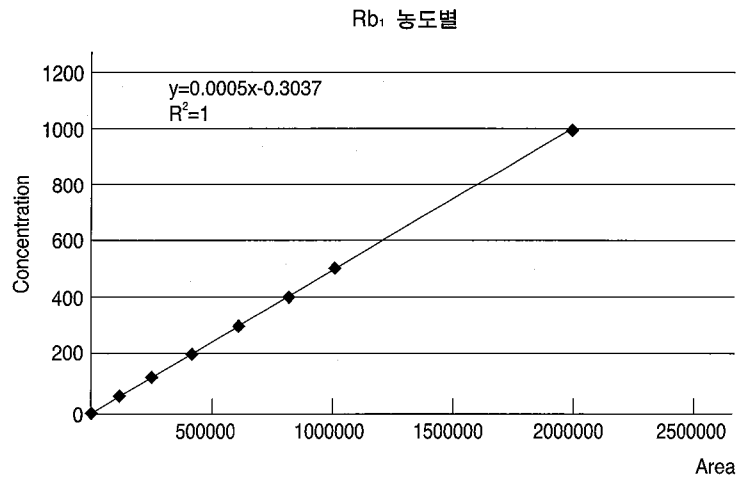


Fig. 9 Calibration curve of ginsenosides Rb₁.

Table 3. Function and R² value of ginsenosides

	Function	R ²
Ginsenoside-Rg ₃	y=0.0003x -0.9763	0.9999
Ginsenoside-Rh ₂	y=0.0003x -0.074	1
Ginsenoside-Rg ₁	y=0.0004x -0.5324	0.9998
Ginsenoside-Rb ₁	y=0.0005x -0.3037	1

Table 4. Yield of 80 % MeOH extraction and n-BuOH fraction on various ginseng

Sample	Parts	80% MeOH extract(%)	n-BuOH extract(%)
1. Korean CWG 10y	leaf	7.283	3.405
	stem	5.072	0.668
	root	6.885	2.392
2. Korean CWG 5y	leaf	9.187	5.232
	stem	7.493	0.775
	root	7.692	2.551
3. Chinese CWG 10y	leaf	10.580	4.450
	stem	5.730	0.670
	root	7.420	1.660
4. Wild Ginseng	leaf	20.000	10.860
	stem	11.370	2.280
	root	8.870	2.490
5. Cultivated Ginseng	leaf	16.230	5.940
	stem	7.850	0.770
	root	7.830	2.220

CWG: Cultivated wild ginseng

2. 인삼의 부위별 함량 분석

Ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 검량선에 의해 인삼의 부위별 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Table 5.에서 제시한 것처럼 인삼의 모든 부위에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 줄기에서도 ginsenoside Rb₁은 검출되지 않았다.

앞에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 10-12).

Table 5. Contents of ginsenosides on various part of 5 years cultivated ginseng

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
Leaves	N · D	N · D	8.360±0.100	0.553±0.080
Stems	N · D	N · D	0.189±0.003	Not detected
Roots	N · D	N · D	3.055±0.010	2.117±0.005

N · D: Not detected

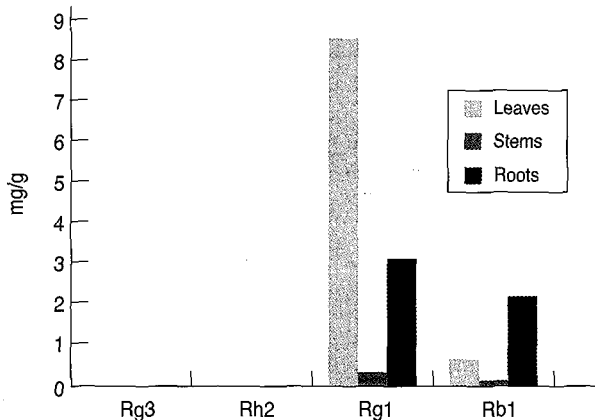


Fig. 10 Contents of ginsenosides on various part of 5 years cultivated ginseng.

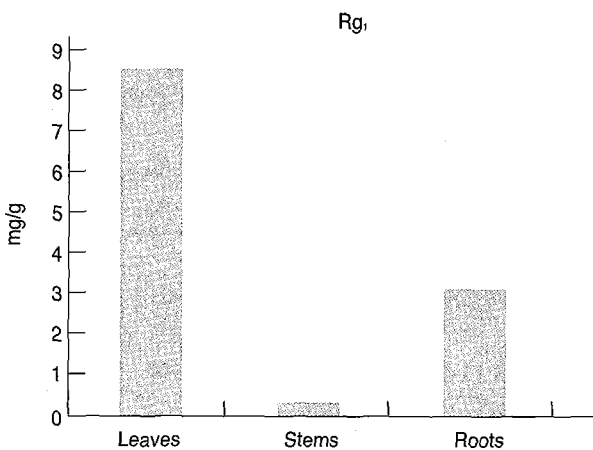


Fig. 11 Contents of ginsenoside Rg₁ on various part of 5 years cultivated ginseng.

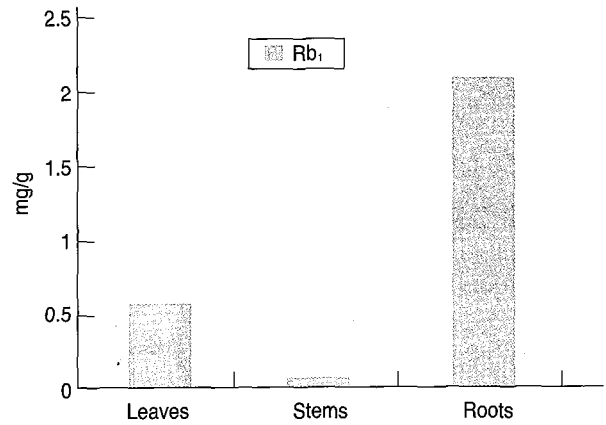


Fig. 12 Contents of ginsenoside Rb₁ on various part of 5 years cultivated ginseng.

3. 5년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석

Ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 검량선에 의해 5년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Table 6.에서 제시한 것처럼 5년생 국내산 산양삼의 줄기와 잎에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 뿌리에서만 ginsenoside Rh₂가 소량 검출되었다(Fig. 12-13).

앞에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 Rg₁에 비하여 약간 더 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 14-15).

Table 6. Contents of ginsenosides on various part of 5 years cultivated wild ginseng

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
Leaves	N · D	N · D	1.675±0.013	0.194±0.010
Stems	N · D	N · D	0.795±0.006	0.039±0.001
Roots	N · D	0.060±0.001	2.349 ±0.006	2.986±0.004

N · D: Not detected

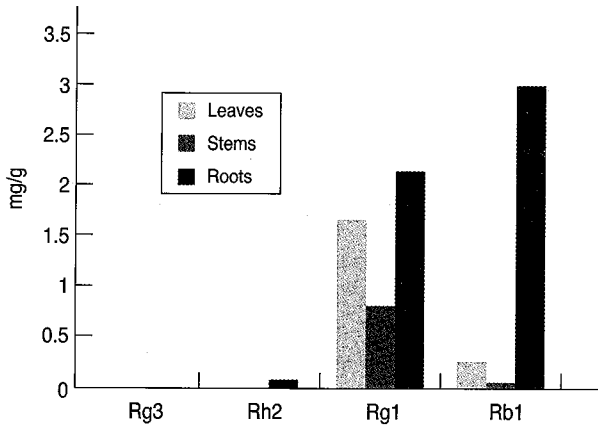


Fig. 13 Contents of ginsenosides on various part of 5 years cultivated wild ginseng.

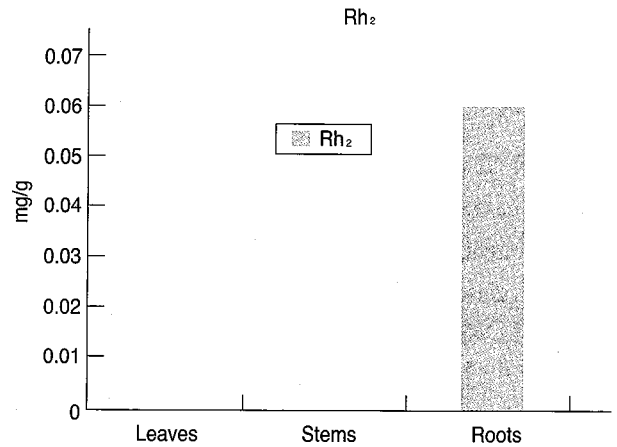


Fig. 14 Contents of ginsenoside Rh₂ on various part of 5 years cultivated wild ginseng.

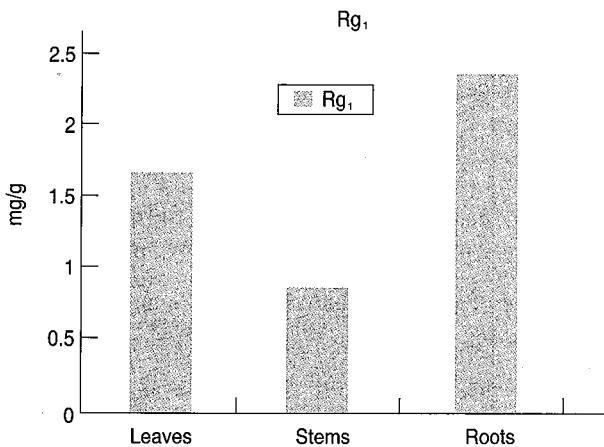


Fig. 15 Contents of ginsenoside Rg₁ on various part of 5 years cultivated wild ginseng.

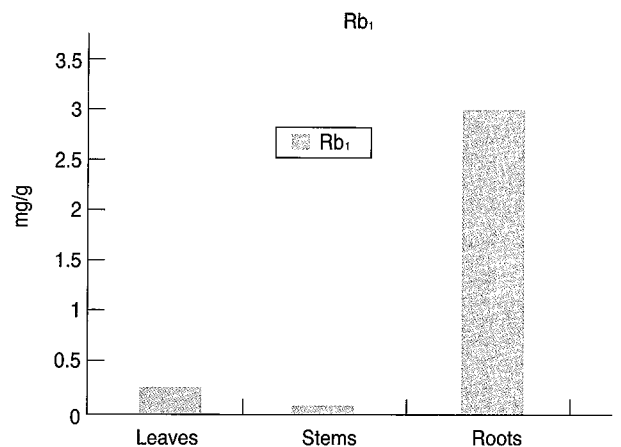


Fig. 16 Contents of ginsenoside Rb₁ on various part of 5 years cultivated wild ginseng.

4. 10년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석

ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 검량선에 의해 10년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Table 7.에서 제시한 것처럼 10년생 국내산 산양삼의 줄기와 잎에서는 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 뿌리에서만 ginsenoside Rh₂가 검출되었다(Fig. 17-18).

이는 5년생에 비하여 약 2배가량 증가된 양으로 재배 시기가 오래될수록 뿌리에서의 ginsenoside Rh₂가 증가할 가능성이 높음을 알 수 있었다.

잎에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rg₁이 Rb₁에 비하여 약간 더 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 19-20).

Table 7. Contents of ginsenosides on various part of 10 years korean cultivated wild ginseng

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
Leaves	N · D	N · D	2.866 ± 0.005	0.606 ± 0.014
Stems	N · D	N · D	0.491 ± 0.005	0.024 ± 0.001
Roots	N · D	0.119 ± 0.000	3.224 ± 0.019	3.049 ± 0.049

N · D: Not detected

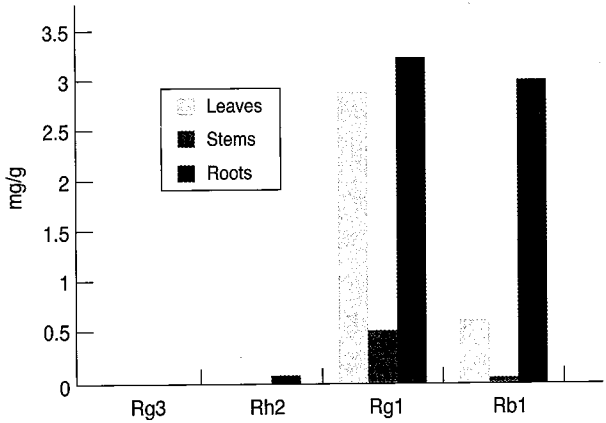


Fig. 17 Contents of ginsenosides on various part of 10 years Korean cultivated wild ginseng by calibration curve

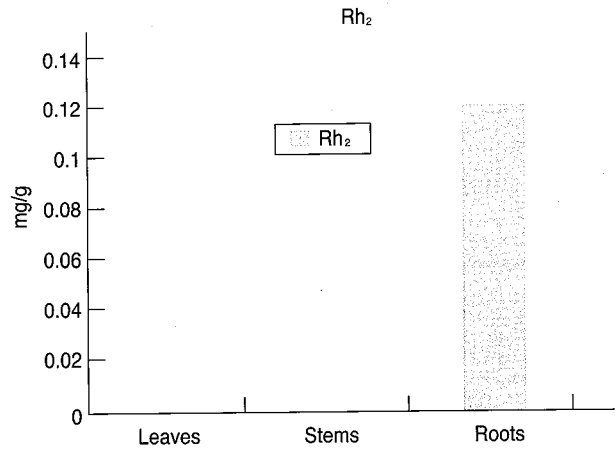


Fig. 18 Contents of ginsenoside Rh2 on various part of 10 years Korean cultivated wild ginseng by calibration curve

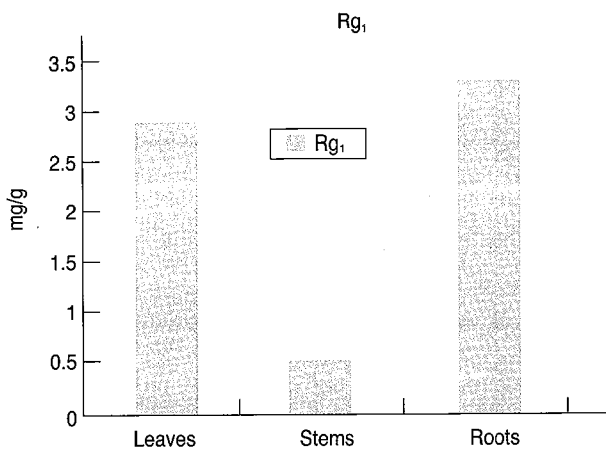


Fig. 19 Contents of ginsenoside Rg1 on various part of 10 years Korean cultivated wild ginseng by calibration curve

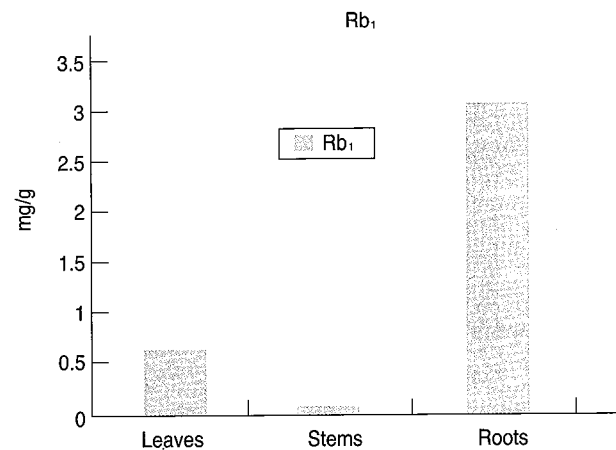


Fig. 20 Contents of ginsenoside Rb1 on various part of 10 years Korean cultivated wild ginseng by calibration curve

5. 10년생 중국산 산양삼의 부위별 함량 분석

ginsenoside Rh2와 Rg3 그리고 Rg1과 Rb1의 검량선에 의해 10년생 중국산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Table 8.에서 제시한 것처럼 10년생 중국산 산양삼의 모든 부위에서는 ginsenoside Rh2와 Rg3가 검출되지 않았고, 줄기에서도 ginsenoside Rb1이 검출되지 않았다(Fig. 21).

앞에는 ginsenoside Rg1이 상대적으로 많이 함유되어

있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rg1이 Rb1에 비하여 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 22-23).

Table 8. Contents of ginsenosides on various part of 10 years Chinese cultivated wild ginseng

	Rg3(mg/g)	Rh2(mg/g)	Rg1(mg/g)	Rb1(mg/g)
Leaves	N · D	N · D	4.371 ± 0.024	0.945 ± 0.011
Stems	N · D	N · D	0.220 ± 0.001	Not detected
Roots	N · D	N · D	2.930 ± 0.004	1.712 ± 0.008

N · D: Not detected

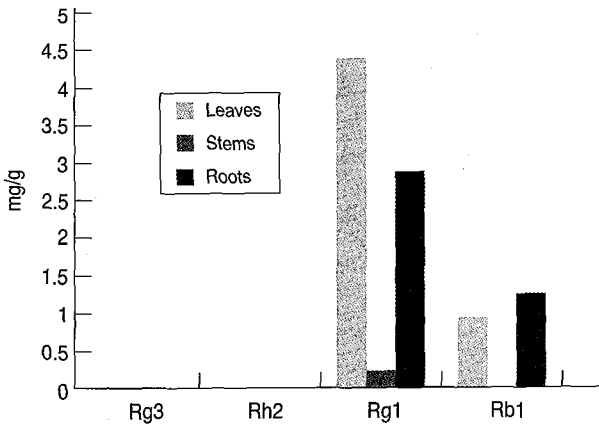


Fig. 21 Contents of ginsenosides on various part of 10 years chinese cultivated wild ginseng.

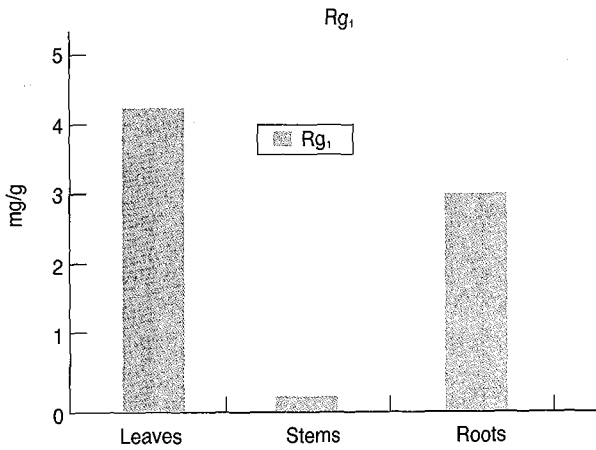


Fig. 22 Contents of ginsenoside Rg1 on various part of 10 years chinese cultivated wild ginseng.

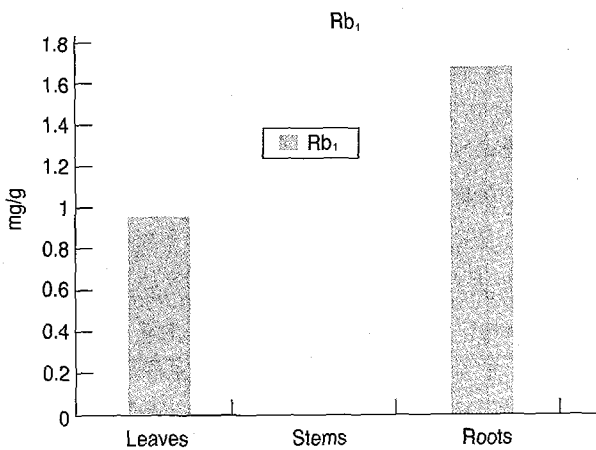


Fig. 23 Contents of ginsenoside Rb1 on various part of 10 years chinese cultivated wild ginseng.

6. 자연산 산삼의 부위별 함량 분석

ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 검량선에 의해 자연산 산삼의 부위별 함량 분석을 실시하였다.

그 결과 Table 9.에서 제시한 것처럼 자연산 산삼의 뿌리, 줄기 그리고 잎에서는 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다(Fig. 24).

잎과 줄기에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 Rg₁에 비하여 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 25-26).

Table 9. Contents of ginsenosides on various part of wild ginseng

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
Leaves	N · D	N · D	6.902 ± 0.018	1.468 ± 0.007
Stems	N · D	N · D	2.162 ± 0.013	0.170 ± 0.004
Roots	N · D	N · D	2.576 ± 0.007	4.395 ± 0.0568

N · D: Not detected

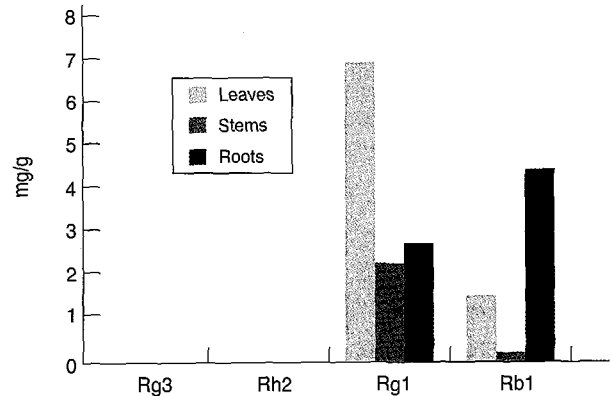


Fig. 24 Contents of ginsenosides on various part of wild ginseng.

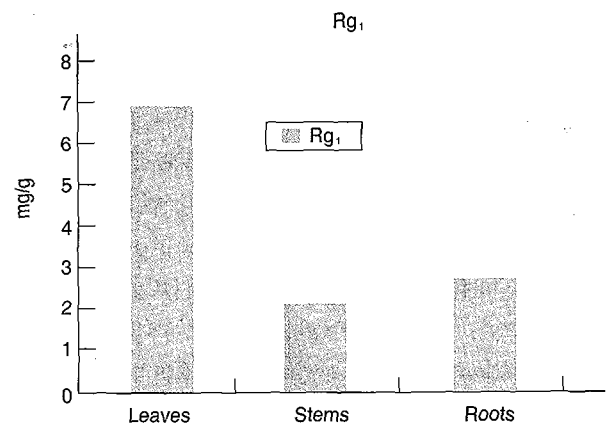


Fig. 25 Contents of ginsenoside Rg1 on various part of wild ginseng.

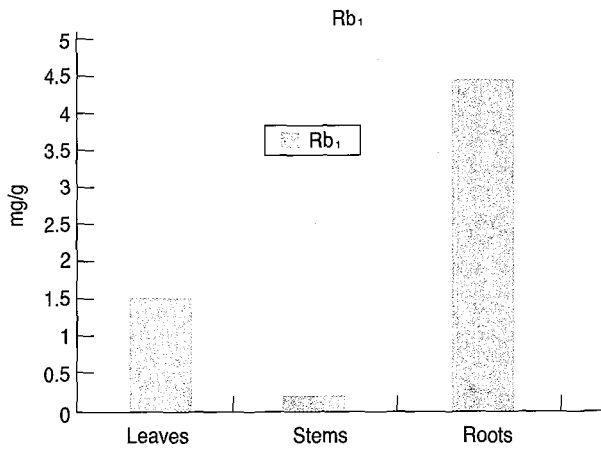


Fig. 26 Contents of ginsenoside Rb₁ on various part of wild ginseng.

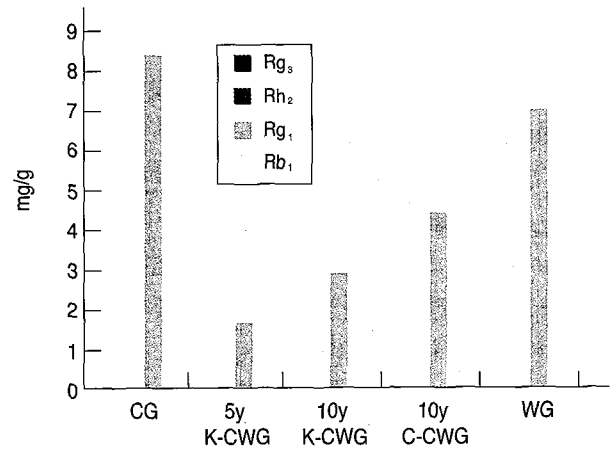


Fig. 27 Contents of ginsenosides on various ginsengs of leaves.

7. 수종의 삼에 대한 잎의 함량 비교

수종의 시료 중 잎의 ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 함량을 비교분석 하였다.

그 결과 Table 10.에서 제시한 것처럼 모든 시료의 잎에서는 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다.

ginsenosides Rg₁의 함량은 인삼> 자연산 산삼> 10년생 중국산 산양삼 >10년생 한국산 산양삼> 인삼> 5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다(Fig. 28).

ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼> 10년생 중국산 산양삼> 10년생 한국산 산양삼> 인삼> 5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다(Fig. 29).

잎의 분석에서 나타나는 특징은 인삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁의 함량이 매우 높았고, 자연산 산삼이 상대적으로 ginsenosides Rg₁과 Rb₁ 모두 비교적 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 27-29).

Table 10. Contents of ginsenosides on various ginsengs of leaves by calibration curve

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
5y ginseng	N · D	N · D	8.360±0.100	0.553±0.080
5y K-CWG	N · D	N · D	1.675±0.013	0.194±0.010
10y K-CWG	N · D	N · D	2.866±0.005	0.606±0.014
10y C-CWG	N · D	N · D	4.371±0.024	0.945±0.011
Wild ginseng	N · D	N · D	6.902±0.018	1.468±0.007

K-CWG; Korean cultivated wild ginseng

C-CWG: Chinese cultivated wild ginseng

N · D: Not detected

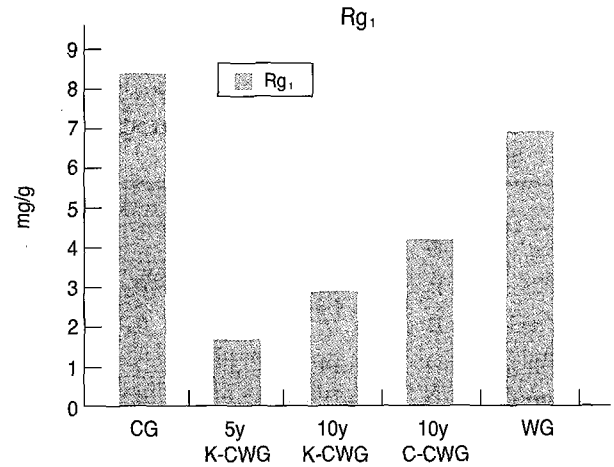


Fig. 28 Contents of ginsenoside Rg₁ on various ginsengs of leaves.

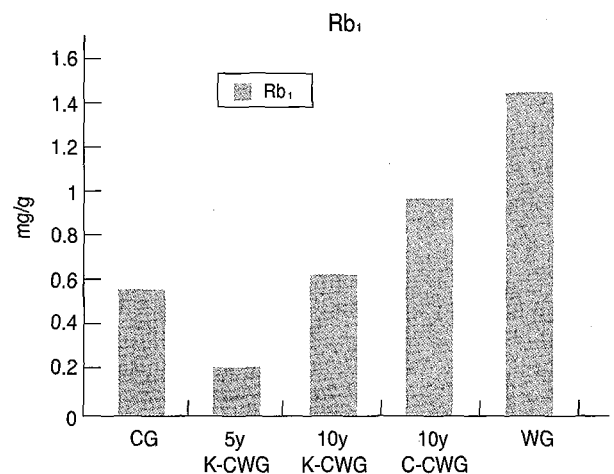


Fig. 29 Contents of ginsenoside Rb₁ on various ginsengs of leaves.

8. 수종의 삼에 대한 줄기의 함량 비교

수종의 시료 중 줄기의 ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 함량 분석을 시행하였다.

그 결과 Table 11.에서 제시한 것처럼 모든 시료의 줄기에서는 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다.

ginsenosides Rg₁의 함량은 자연산 산삼>5년생 한국산 산양삼>10년생 한국산 산양삼 >10년생 중국산 산양삼 >인삼의 순서로 나타났다(Fig. 31).

ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼>10년생 중국산 산양삼>10년생 한국산 산양삼>인삼>5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다(Fig. 32).

줄기의 분석에서 나타나는 특징은 인삼과 10년생 중국산 산양삼에서 ginsenosides Rb₁이 검출되지 않았다는 것과 자연산 산삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁과 Rb₁의 함량이 높음을 알 수 있었다(Fig. 30-32).

Table 11. Contents of ginsenosides on various ginsengs of stems

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
5y ginseng	N · D	N · D	0.189±0.003	N · D
5y K-CWG	N · D	N · D	0.795±0.006	0.039±0.001
10y K-CWG	N · D	N · D	0.491±0.005	0.024±0.001
10y C-CWG	N · D	N · D	0.220±0.001	N · D
Wild ginseng	N · D	N · D	2.162±0.013	0.170±0.004

K-CWG; Korean cultivated wild ginseng
C-CWG; Chinese cultivated wild ginseng
N · D: Not detected

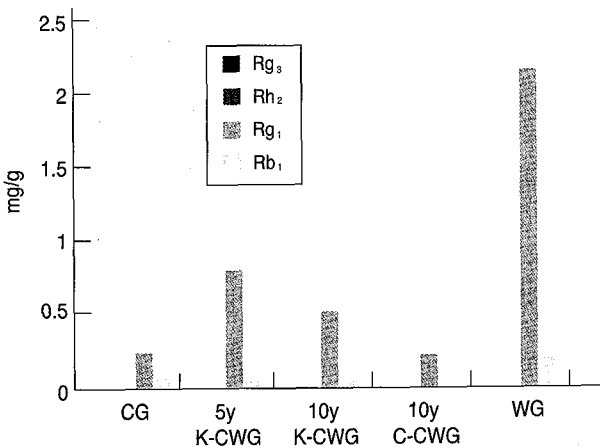


Fig. 30 Contents of ginsenosides on various ginsengs of stems.

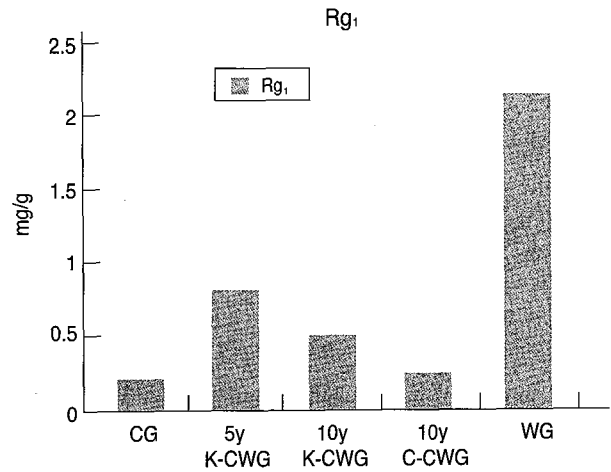


Fig. 31 Contents of ginsenoside Rg₁ on various ginsengs of stems.

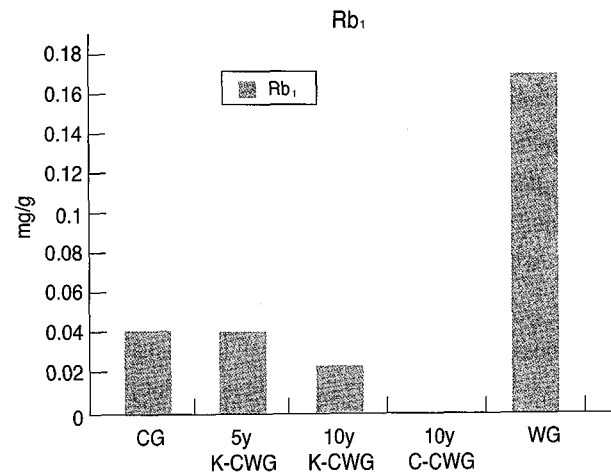


Fig. 32 Contents of ginsenoside Rb₁ on various ginsengs of stems.

9. 수종의 삼에 대한 뿌리의 함량 비교

수종의 시료 중 뿌리의 ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 함량 분석을 시행하였다.

그 결과 Table 12.에서 제시한 것처럼 모든 시료에서 ginsenoside Rg₃가 검출되지 않았다. ginsenoside Rh₂는 5년생과 10년생 국내산 산양삼에서만 검출되어 감별의 지표로 사용 가능함을 알 수 있었다(Fig. 34).

ginsenosides Rg₁의 함량은 10년생 한국산 산양삼>인삼>10년생 중국산 산양삼 >자연산 산삼> 5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다(Fig. 35).

ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼> 10년생 한국산 산양삼> 5년생 한국산 산양삼> 인삼> 10년생 중국산 산양삼의 순서로 나타났다(Fig. 36).

뿌리의 분석에서 나타나는 특징은 인삼과 중국산 산양삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁의 함량이 ginsenosides Rb₁에 비하여 높은 특징을 나타내었고, 국내산 산양삼이나 자연산 산삼은 ginsenosides Rb₁이 Rg₁보다 많이 함유되어 있거나 거의 유사한 함량을 지니고 있음을 알 수 있었다(Fig. 34-36).

Table 12. Contents of ginsenosides on various ginsengs of roots

	Rg ₃ (mg/g)	Rh ₂ (mg/g)	Rg ₁ (mg/g)	Rb ₁ (mg/g)
5y ginseng	N · D	N · D	3.055±0.010	2.117±0.005
5y K-CWG	N · D	0.060±0.001	2.349±0.006	2.986±0.004
10y K-CWG	N · D	0.119±0.000	3.224±0.019	3.049±0.049
10y C-CWG	N · D	N · D	2.930±0.004	1.712±0.008
Wild ginseng	N · D	N · D	2.576±0.007	4.395±0.056

K-CWG; Korean cultivated wild ginseng

C-CWG; Chinese cultivated wild ginseng

N · D: Not detected

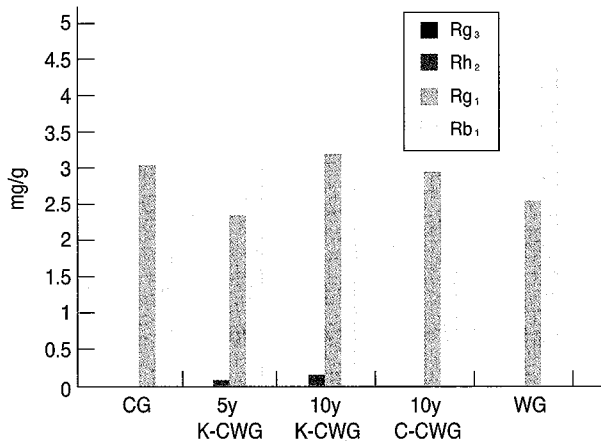


Fig. 33 Contents of ginsenosides on various ginsengs of leaves.

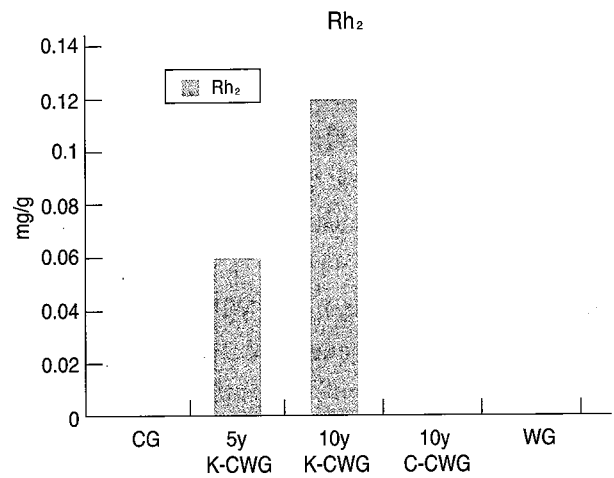


Fig. 34 Contents of ginsenoside Rh₂ on various ginsengs of leaves.

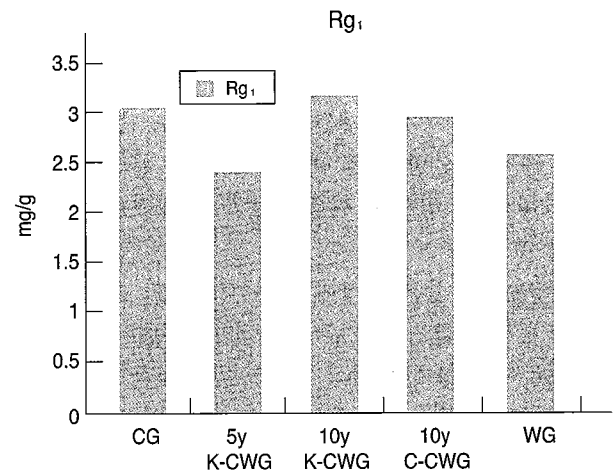


Fig. 35 Contents of ginsenoside Rg₁ on various ginsengs of roots.

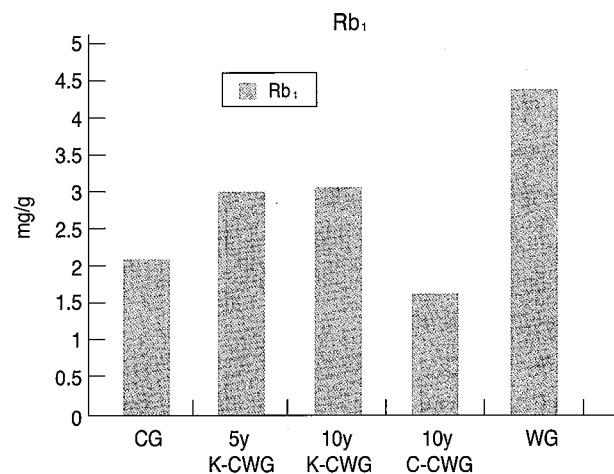


Fig. 36 Contents of ginsenoside Rb₁ on various ginsengs of roots.

IV. 고 찰

인삼은 파낙스(*Panax ginseng*, C.A. Meyer)속에 속하는 다년생 식물로, 한국 한의학이나 중의학에서 가장 많이 사용하는 대표적인 보기제 중의 하나이다. *Panax* 속 식물은 분류학상 오가과(*Araliaceae*)에 속하는 다년생 식물로서 지구상에 십여 종이 알려져 있다. 대표적인 종으로 고려삼(*Panax ginseng*), 서양삼(*Panax quinquefolia*), 전칠삼(삼칠, *Panax notoginseng*), 죽절삼(*Panax japonica*), 삼엽삼 (*Panax trifolia*), 히말라야삼 (*Panax pseudo-ginseng*), 베트남삼 (*Panax vietnamensis*) 등이 있다¹⁾.

인삼은 동맥경화성 질환이나 고혈압, 성기능 장애 등 만성질환의 예방과 회복에 도움을 주는 것으로 알려져 있고⁸⁾, 중추신경계의 흥분이나 억제작용^{12,13)}, 간 기능의 회복, 노화억제, 암세포 증식의 억제효과, 세포의 생존율 증가 등¹⁴⁾이 약리작용으로 보고되고 있다.

인삼은 그 기원에 따라 인위적인 도움 없이 자연 발아하여 성장한 산삼과 천연산삼의 종자나 유삼, 혹은 인삼의 종자를 산림 중에 파종하여 키운 산양삼, 그리고 논이나 밭에 인삼의 씨를 파종하여 재배한 인삼으로 나눌 수 있다.

산삼이나 산양삼은 인삼에 비하여 우수한 효능이 있는 것으로 보고되고 있으나⁹⁾ 희소성이나 높은 가격 등으로 인하여 인삼에 비하여 체계적이고 과학적인 연구가 진행되지 못한 것이 현실이다. 또한 적절한 품질 관리의 기준이 없어 유통상의 여러 가지 문제점들이 발생하고 있는 실정이다¹⁰⁾.

지금까지 이용된 산삼의 식별방법은 시료에 손상을 전혀 입히지 않는 경험을 바탕으로 한 생육형태의 육안적 분석이 주를 이루었다. 이는 산삼이 매우 희귀하고 고가의 약초라는데 그 원인이 있었다고 여겨진다. 그러나 생육형태의 분석방법은 과학적이고 신뢰성 있는 결과를 기대하기에 어려운 점이 많아 최근에는 DNA 분석이나 주요 생리활성물질의 분석 등 보다 과학적이고 체계적인 연구방법이 제시되고 있으나^{11,15)} 산삼이나 산양삼, 그리고 산지에 따른 비교분석 등의 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 종자의 기원이 동일한 *panax ginseng* C. A. Meyer 중 생육조건에 따른 분류에 해당하는 자연산 산삼과 산양삼, 그리고 인삼이 구성 성분에서 어떠한 차이가 있는가 하는 것과 동일한 산양삼이라 하더라도 지역적으로 어떠한 차이가 있는가를 객관

적이고 과학적으로 검증할 수 있는 방법을 모색하고자 시도되었다.

연구방법으로는 수종의 시료를 부위별로 뿌리, 줄기 그리고 잎으로 나누어 HPLC를 이용하여 다양한 ginsenosides(Rb₁, Rg₁, Rg₃ & Rh₂)를 측정후 비교 분석하였다.

인삼의 유효성분으로 알려져 있는 사포닌을 Shibata¹⁶⁾가 인삼에 함유된 배당체라는 뜻으로 ginsenoside라 명명한 이후 약 30여종이 밝혀져 있고, 본 연구에서도 산삼 분석의 표준화 방법을 확립하기 위하여 각 종 삼류에 대하여 인삼의 주성분으로 알려진 인삼 사포닌 성분의 패턴 분석을 수행하였다.

수종의 산삼, 산양삼 및 인삼을 사포닌 제조방법¹⁷⁾에 따라 사포닌 주성분을 함유한 80% MeOH extract와 n-BuOH 분획물을 제조한 후 홍삼이나 산삼에서 소량으로 존재하는 것으로 알려진¹⁸⁾ 비극성 사포닌인 ginsenoside-Rg₃와 ginsenoside-Rh₂를 분석한 연구^{19,21)}를 비교하여 분석 조건에 따라 비극성 사포닌류의 패턴을 분석하였다. 또한 극성 사포닌류의 주성분인 ginsenoside-Rb₁과 ginsenoside-Rg₁의 패턴 분석을 수행하였다.

각각의 시료들에 대한 회수율은 자연산 산삼>인삼>산양삼 5년>중국산 10년>한국산 10년의 순으로 나타났고, 부위별 비교에서는 잎의 수율이 높고 줄기가 낮은 경향을 나타내었다.

인삼의 부위별 함량 분석을 실시한 결과 인삼의 모든 부위에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 줄기에서도 ginsenoside Rb₁은 검출되지 않았다.

잎에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다

5년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시한 결과 줄기와 잎에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 뿌리에서만 ginsenoside Rh₂가 소량 검출되었다. 잎에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 Rg₁에 비하여 약간 더 함유되어 있음을 알 수 있었다

10년생 국내산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시한 결과 줄기와 잎에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃는 검출되지 않았고, 뿌리에서만 ginsenoside Rh₂가 검출되었다. 이는 5년생에 비하여 약 2배가량 증가된 양으로 재배 시기가 오래될수록 뿌리에서의 ginsenoside Rh₂가 증가할 가

능성이 높음을 알 수 있었다. 앞에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rg₁이 Rb₁에 비하여 약간 더 함유되어 있음을 알 수 있었다.

10년생 중국산 산양삼의 부위별 함량 분석을 실시한 결과 모든 부위에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았고, 줄기에서도 ginsenoside Rb₁이 검출되지 않았다. 앞에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rg₁이 Rb₁에 비하여 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

자연산 산삼의 부위별 함량 분석을 실시한 결과 뿌리, 줄기 그리고 잎에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다. 잎과 줄기에는 ginsenoside Rg₁이 상대적으로 많이 함유되어 있었고, 뿌리에는 ginsenoside Rb₁이 Rg₁에 비하여 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

수종의 시료 중 잎의 함량 분석을 시행한 결과 모든 시료에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다.

ginsenosides Rg₁의 함량은 인삼>자연산 산삼>10년생 중국산 산양삼 >10년생 한국산 산양삼>인삼>5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났고, ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼>10년생 중국산 산양삼>10년생 한국산 산양삼>인삼>5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다. 특이한 것은 인삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁의 함량이 매우 높게 나타났고, 자연산 산삼이 상대적으로 ginsenosides Rg₁과 Rb₁ 모두 비교적 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

수종의 시료 중 줄기의 ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 함량 분석을 시행한 결과 모든 시료에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되지 않았다.

ginsenosides Rg₁의 함량은 자연산 산삼>5년생 한국산 산양삼>10년생 한국산 산양삼>10년생 중국산 산양삼>인삼의 순서로 나타났고, ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼>10년생 중국산 산양삼>10년생 한국산 산양삼>인삼>5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났다. 특히 인삼과 10년생 중국산 산양삼에서 ginsenosides Rb₁이 검출되지 않았고, 자연산 산삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁과 Rb₁의 함량이 높음을 알 수 있었다.

수종의 시료 중 뿌리의 ginsenoside Rh₂와 Rg₃ 그리고 Rg₁과 Rb₁의 함량 분석을 시행한 결과 모든 시료에서 Rg₃가 검출되지 않았다. ginsenoside Rh₂는 5년생과 10년생 국내산 산양삼에서만 검출되어 감별의 지표로 사용 가능함을 알 수 있었다.

ginsenosides Rg₁의 함량은 10년생 한국산 산양삼>인삼>10년생 중국산 산양삼>자연산 산삼>5년생 한국산 산양삼의 순서로 나타났고, ginsenosides Rb₁의 함량은 자연산 산삼>10년생 한국산 산양삼>5년생 한국산 산양삼>인삼>10년생 중국산 산양삼의 순서로 나타났다. 특히 인삼과 중국산 산양삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁의 함량이 ginsenosides Rb₁에 비하여 높은 특징을 나타내었고, 국내산 산양삼이나 자연산 산삼은 ginsenosides Rb₁이 Rg₁보다 많이 함유되어 있거나 거의 유사한 함량을 지니고 있음을 알 수 있었다.

이상 수종의 삼류에 대하여 부위에 따른 사포닌의 극성별 패턴 분석을 종합해보면 국내산 산양삼의 뿌리에서 항암효과가 알려진^{25,26} ginsenoside-Rh₂가 검출되어 인삼과 중국산 산양삼을 감별하는데 지표로 사용될 수 있음을 알 수 있었고, 줄기에서도 인삼과 중국산 산양삼에서는 ginsenoside Rb₁이 검출되지 않아 국내산 산양삼과 감별하는데 중요한 지표로 사용될 수 있으리라 추정되었다. 또한 각 부위에 따라 나타나는 시료별 패턴 분석 자료는 향후 산삼이나 산양삼류의 진위 판정 유무의 분석방법으로 활용할 수 있을 것으로 추정된다.

본 연구를 수행하면서 최대한 동일한 시기에 객관성이 확보된 시료를 동일한 방법으로 연구를 수행하여 비교하고자 노력하였다. 그러나 선행연구에서 자연산 산삼이나 산양삼에서 ginsenoside Rh₂와 Rg₃가 검출되었음을 확인한 바 있으나 본 연구에 사용된 시료에서는 국내산 산양삼에서 ginsenoside Rh₂가 검출되는 차이를 나타내었다. 이와 같이 삼류는 계절이나 수확시기에 따라 부위별 함량 변화를 나타내는 경향이 있으므로 이에 대한 보완실험이 수행되어야 보다 정확한 감별 기준으로 의미를 부여할 수 있으리라 생각되었다. 향후 지속적인 연구를 통하여 과학적이고 체계적인 삼류의 감별기준이 확립되기를 희망한다.

V. 결 론

인삼과 5년 및 10년생 국내산 산양삼, 중국산 산양삼, 그리고 자연산 산삼을 80% MeOH extract와 n-BuOH 분획물을 제조한 후 비극성 사포닌인 ginsenoside Rg₃와 Rh₂, 그리고 극성 사포닌인 ginsenoside Rb₁과 Rg₁의 패턴 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 잎의 함량 비교에서는 인삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁의 함량이 매우 높게 나타났고, 자연산 산삼이 상대적으로 ginsenosides Rg₁과 Rb₁ 모두 비교적 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.
2. 줄기의 함량 비교에서는 인삼과 10년생 중국산 산양삼에서 ginsenosides Rb₁이 검출되지 않았고, 자연산 산삼이 다른 시료에 비하여 ginsenosides Rg₁과 Rb₁의 함량이 높았다.
3. 뿌리의 함량 비교에서 ginsenoside Rh₂는 5년생과 10년생 국내산 산양삼에서만 검출되었다.
4. 부위별 함량 분포는 전체적으로 인삼과 중국산 산양삼이 유사하게 나타났다.
5. 모든 시료에서 ginsenoside Rg₃는 검출되지 않았다.

Acknowledgement

“This study was supported by a grant of the Oriental Medicine R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea. (B050054)”

참고문헌

1. 신순식, 김경철, 최영현, 이용태, 엄현섭, 김창식. 산삼 감정 기준의 객관성. 한의학연구소 동의 한의연 제 5집. 2001; 107-114.
2. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 영림사. 1994; 531.
3. 이상인. 한약임상응용. 정보사. 1982; 345-350.
4. 하대유. 인삼에 대한 세포학 및 면역학적 연구. 대한 면역학회지. 1979; 1(1): 45-52.
5. 山田昌之. 朝鮮人蔘의 研究. 日本藥理學會誌. 1955; 51: 390.
6. Brekhman. I.I, Panax ginseng, Gosudarst Isdat et Med, Lit. Leningard, 1957; 1.
7. 최진호. 인삼의 신비, 서울, 교문사, 1984; 13-14.
8. 남기열. 최신 고려인삼, 천일인쇄소, 1996; 56.
9. Takagi, K, Proceedings International Ginseng

- Symposium, The Central Research Institute, Office of Monopoly, Seoul, Korea, 1974; .119.
10. 권기록, 서정철. 산삼과 장뇌삼 중 고려삼과 서양삼의 Pyrosequencing법에 의한 감별. 대한본초학회지. 2004; 19(4): 45-50.
11. 고려인삼학회, 고려삼의 이해, Advances in Ginseng Research, 1998; 127-137.
12. Chen, X., Lee, T.J. Ginsenosides-induced nitric oxide-mediated relaxation of the rabbit corpus cavernosum. Br. J. Pharmacol. 1995; 115: 15-18.
13. Jin, S. H., Park. I. K., Nam, K. Y., Park, S. N. and Jung, N. P. Korean red ginseng saponins with low ratios of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponin improve scopolamin-induced learning disability and spatial working memory in mice. J. Ethnopharmacil. 1999; 66: 129-129.
14. Hikokichic, O., Hia, S., Odaka, Y., and Yokozawa, T. Studies on the biochemical action of ginseng saponin: purification from ginseng extract of the active component stimulating serum protein biolynthesis. J. Biochem. 1975; 77: 1057.
15. Byung Sam Yoo, Moon Sik Chang, and Sang Yo Byun. Characterization of cell culture and ginsenoside production by cultured ginseng and wild mountain ginseng. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 2003; 18(2): 133-139.
16. Shibata, S., Tanaka, O., Soma, K., Iita, Y., Ando, T. and Nakamura, H. Studies on saponins and sapogenins of ginseng. The structure of panaxatriol. Tetrahedron Lett., 1965; 3: 207-213.
17. Ko, S. R., Choi, K. J., Kim, S. C. and Han, K. H. Content and composition of saponin compounds of Panax species. Korean J. Ginseng Sci. 1995; 19: 254-295.
18. Morita, T. Chemical studies on Panax genus plants grown in Asia. Hiroshima univ. Doctoral Thesis, 1986; 6-7.
19. Fuzzati, N., Gabetta, B., Jayakar, K., Pace, R. and Peterlongo, F. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric identification of ginsenosides in Panax ginseng roots. J. Chromatogr., 1999; 854: 69-79.

20. Wang, H., Zou, H., Kong, L., Zhang, Y., Pang, H., Su, C., Liu, G., Hui, M. and Fu, Li. Determination of ginsenoside Rg3 in plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for pharmaco-kinetic study. *J. Chromatogr.*, 1999 ; 731 : 403-409.
21. Kwon, S. W., Han, S. B., Park, I. H., Kim, J. M., Park, M. K. and Park, J. I. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. *J. Chromatogr.*, 2001 ; 921 : 335-339.