

신공법에 의한 흑삼의 제조 및 항암활성

김의겸^{1#}, 이지현¹, 조수현¹, 신귀남¹, 김룡국¹, 명창선¹, 오한진², 김동희³, 윤재돈⁴,
노성수⁵, 박용진⁶, 서영배⁷, 송규용^{1*}

- 1: 충남대학교 약학대학, 2: 관동대학교 의과대학, 3: 대전대학교 한의과대학 병리학교실,
4: 충청남도 미래전략팀, 5: 대구한의대학교 한의과대학 본초학교실, 6: 백남한의원,
7: 대전대학교 한의과대학 본초학교실

Preparation of Black Panax Ginseng by New Methods and its Antitumor Activity

Eui-Keom Kim^{1#}, Jee-Hyun Lee¹, Soo-Hyun Cho¹, Gui-Nan Shen¹, Long-Guo Jin¹,
Chang-Seon Myung¹, Han-Jin Oh², Dong-Hee Kim³, Jae-Don Yun⁴, Seong-Soo Roh⁵,
Yong-Jin Park⁶, Young-Bae Seo⁷, Gyu-Yong Song^{1*}

- 1: College of Pharmacy, Chungnam National University
2: College of Medicine, Kwandong University
3: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University
4: Chungcheongnam-Do Provincial Government, Future Strategy Team
5: Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Daegu Hanny University
6: Baeknam Oriental Medical Hospital
7: Department of Herbalogy, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to efficiently make Black Panax Ginseng (BPG) and evaluate its antitumor activity.

Methods : Panax ginseng was steamed at 95°C for 3 h, dried and steamed again at 115°C for 6 h. The main ginsenosides of BPG were Rg₃, Rk₁ and Rg₅.

Results : Among the saponins in BPG, the amount of ginsenoside Rg₃ was determined by HPLC method. The 11.48 mg of ginsenoside Rg₃ was obtained from 1g of dried BPG. The crude saponin fraction (CSF) of BPG was tested in vitro for its cytotoxic activities against various human cancer cell lines, such as ACHN, NCI-H23, HCT-15 and PC-3. The CSF of BPG exhibited stronger cytotoxic activity than that of red Panax ginseng. CSF of BPG exhibited good cytotoxic activities against ACHN, HCT-15, and PC-3 cell lines with IC₅₀ values of 60.3-90.8 µg/ml. However, CSF of BPG did not show any cytotoxic activity against NCI-H23 cell line.

Conclusions : BPG produced by new manufacturing is more effective than BPG produced by existing

*교신저자 : 송규용, 대전시 유성구 대학로 79 충남대학교 약학대학

· Tel : 042-821-7304 · E-mail : gysong@cnu.ac.kr

#제1저자 : 김의겸, 대전시 유성구 대학로 79 충남대학교 약학대학

· Tel : 042-821-7304 · E-mail : keke846@naver.com

· 접수 : 2008년 2월 12일 · 수정 : 2008년 3월 12일 · 채택 : 2008년 3월 17일

processing in anticancer activity. And new BPG has a possibility of investigation because of high contents of Rg3, Rk1 and Rg5 that have various physiological activities.

Key words : Black Panax Ginseng, Antitumor effect, Ginsenoside Rg₃

서론

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 식물로서 어원을 보면 'Pan'은 모든 것, 'Axos'는 의학이라는 뜻으로 만병통치라는 의미를 뜻한다. 이러한 고려인삼은 수천년 동안 고귀한 생약제로 사용되어 왔으며 역사적으로 문화적으로 그리고 산업적으로 매우 중요한 우리민족의 유산이자 자원이다^{1,2)}. 특히 고려인삼은 타국의 인삼보다 탁월한 효능을 나타낸다고 알려져 있어 각국의 소비자들에게 많은 사랑을 받아왔다. Well-Being 시대를 맞이하여 현대인들의 천연물을 선호하는 추세와 고려인삼의 다양한 효능이 실험실적 결과뿐만 아니라 임상학적으로 점차적으로 입증되어 고려인삼은 세계적인 자연건강식품으로 각광을 받게 되었고 한방뿐만 아니라 현대의학에서도 의약품이나 건강기능성식품으로 그 수요가 점점 증가되고 있다.

현재 세계인삼 시장의 규모는 대략 40억 달러에 육박하고 있으며 점점 늘어나고 있는 추세이다. 우리나라 고려인삼의 해외 수출도 1,500여 년의 긴 역사를 가지고 있어 삼국시대부터 수출해온 세계적으로 유명한 상품으로 인삼의 종주국으로서 자부심을 가져왔으며 꾸준한 성장과 발전을 거듭하고 있다³⁾. 이렇듯 우리나라에서 인삼은 고부가가치 농산물이자 전통의약품의 원료로서 농가의 중요한 소득원인 동시에 건강증진과 외화획득의 수단이기도 했다. 그뿐만 아니라 부와 효도의 상징이자 세계에 자랑할 만한 우리 전통문화의 한 부분이기도 했다. 요컨대 오랫동안 한국인의 자긍심의 원천으로서 역할을 해 온 것이다.

그러나 최근들어 중국 삼뿐만 아니라, 미국과 캐나다 삼(화기삼)의 성장세가 두드러지면서 고려인삼의 수출을 위협하고 있다. 특히 미국에서는 위스콘신주를 중심으로 막대한 자본을 바탕으로 대량으로 화기삼을 생산할 뿐만 아니라 화기삼의 성분 및 여러 가지 생리활성에 대한 체계적인 연구를 수행함으로써 세계시장에서 화기삼의 영역을 넓혀가고 있

는 실정이다⁴⁻⁸⁾. 즉 1990년대에 접어들면서 미국과 캐나다 등이 국제인삼시장에 뛰어들어 지난 수 백년 동안 고려인삼의 독무대와 같던 홍공과 동남아시아 시장의 대부분을 장악하기 시작한 것이다. 더욱이 최근에는 중국이 아예 호시탐탐 국내시장을 넘보는 지경에까지 이르렀다. 실제로 우리나라의 인삼수출액은 1980년의 67.5백만 달러, 1985년에는 73.0백만 달러로 늘어나 1990년에는 사상 최고인 164.7백만 달러를 기록한 후 중국의 인삼생산 증가와 미국 및 캐나다의 공격적인 마케팅 등으로 인해 2002년에는 55.0백만 달러까지 떨어졌다.

더욱이 국내 인삼 시장 개방에 따라 최소시장접근(MMA)이 허용된 인삼류는 20%의 저율관세로 수입이 가능하며, 95년 34톤(국내 생산량의 0.3%)에서 2004년 56.8톤(국내 생산량의 0.5%)까지 시장을 개방하였으며 국내 시장을 더욱더 개방해야 하기 때문에 중국 및 화기삼과 같은 중저가 인삼 수입이 급증할 것으로 예상되므로 인삼을 경작하는 농민들에게 커다란 경제적 손실을 초래할 것으로 판단된다.

인삼을 전혀 경작하지 않는 나라인 스위스의 제약회사인 'Pharmaton'사에서 개발한 파마톤이나 진사나는 캡셀내 진세노사이드의 유효성분 함량을 표준화 한 것으로 우리나라 연간 총 인삼 수출액 5,600만 불의 2~3배인 1~2억 불 정도를 연간 세계시장에서 팔고 있다는 사실은 우리나라 인삼산업에 커다란 교훈을 주고 있다. 따라서 인삼 종주국으로서의 위상을 되찾기 위해서 많은 노력을 기울여야 할 것이다. 즉 기존의 수삼, 백삼 및 홍삼 이외의 새로운 고부가가치 가공인삼 제품을 개발한 후 이를 이용한 건강기능성 식품, 의약품 수준의 제품 개발 및 그 밖의 다양한 형태의 인삼제품을 개발할 필요가 있다고 판단된다.

중국의 경우 백삼에는 거의 존재하지 않으며 홍삼에 소량 존재하는 항암효과가 있다고 알려진 인삼사포닌 Rg₃^{9,10)}를 대량 생산하는 방법을 개발하여 'Shenyi'라는 상품명으로 항암치료를 위해 사용하고 있다.

국내의 경우 기능성 인삼의 대표 제품은 지난 98

년 바이오벤처기업 진생사이언스가 개발한 '선삼'으로서 지난 2001년 선삼정으로 개발돼 국내 건강기능성식품 시장에 본격 알려진 이후 국내는 물론 전 세계적인 발명품으로도 인정받으며 기능성 인삼의 선두주자로 자리매김한 상태이다¹¹⁾. 또한 '황삼EX', '평화홍삼', '바이오맥스', '식스플러스', '황삼' 등과 같은 여러 종류의 가공인삼이 개발되고 있다. 이와 같이 프리미엄 인삼 시대를 맞이하여 본 연구팀은 증숙법의 하나인 한약재의 가공방법 중 물과 불을 함께 사용하는 것으로 가장 대표적인 방법인 구증구포(九蒸九曝)의 원리를 이용한 새로운 가공인삼을 개발한 바 있다¹²⁾. 즉 인삼을 9번 찌고 말리는 과정을 반복하여 흑삼을 제조하였으며, 흑삼은 기존의 백삼이나 홍삼에 비해서 월등히 항암 효과 및 비만억제효과가 우수하다는 사실을 밝힌 바 있다^{12,13)}. 그러나 구증구포의 방법을 이용하여 흑삼을 제조할 경우 다단계를 거치기 때문에 대량으로 제조하기 어렵고, 제조소요시간 및 경비가 많이 든다는 단점이 있다.

이에 본 연구자는 구증구포의 방법에 비해서 제조단계를 획기적으로 개선함으로써 소량이 아닌 대량으로 품질이 우수한 표준화된 흑삼의 제조방법을 개발하고자 하였으며, 제조한 흑삼의 항암효과를 측정하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용한 시약은 메탄올, 에탄올, 부탄올, 초산, 아세트니트릴, 에테르 및 물 등은 Sigma 제품을, 기구는 HPLC(Shimadzu LC-6AD, Japan), ELSD 검출기(ELSD-LT, Shimadzu, Japan), 컬럼(Shiseido, 5 μm, 150×4.6 mm, Japan), 원심분리기(Beckman Co., GS-6R), inverted microscope(Nikon Co., Japan), rotary vacuum evaporator(Büchi 461), autoclave(Sanyo, Japan), micro-pipet(Gilson, U.S.A), conical tube, disposable pipet(5 mL, 10 mL, 25 mL, Falcon) 및 syringe filter(0.22 μm, 0.45 μm, Falcon), 제품 등을 각각 사용하였다.

1) 인삼의 전처리

충남 금산군에서 10월에 생산되어 유통되는 6년근 수삼을 구입한 후 수삼을 스크류 세척기에 넣고 세척과정 중에 거피가 되지 않도록 주의하면서 10

분간 총 3회 반복해서 세척하였다.

2) 인삼의 증숙 및 건조방법

① 1차 증숙 : 상기에서 세척한 수삼을 40℃에서 24시간 건조하였다. 24시간 저온에서 말린 인삼을 증숙기에 7리터의 상수를 넣은 후 수삼을 부드러운 무명천으로 다발모양으로 감싸서 놔두 부분을 아래로 향하게 하여 증숙기 안에 가지런히 세웠다. 예열시간은 증숙기에서 수증기에 세어 나오는 데까지의 시간으로 통상 30여 분 소요되었다. 이때 증숙온도는 95℃이며, 이 온도를 3시간 동안 일정하게 유지하였다. 1차 증숙한 인삼을 원적외선 열선이 내장된 건조기의 내부온도를 60℃로 유지시킨 후 15시간 동안 팬을 돌리면서 골고루 인삼을 건조시켰다.

② 2차 증숙 : 1차 증숙하여 건조한 인삼을 다시 115℃에서 6시간 동안 증숙하였다. 2차 증숙한 인삼을 원적외선 열선이 내장된 건조기의 내부온도를 60℃로 유지시킨 후 15시간 동안 팬을 돌리면서 골고루 인삼을 건조시켜 흑삼을 제조하였다.

3) 흑삼의 추출

상기의 방법으로 흑삼 40 g을 취하여 분쇄한 후 200 mL의 물을 넣고 실온에서 5시간 방치한 뒤 80% 에탄올 2리터를 넣고 3시간 3회 환류 추출하였다. 추출한 용액을 실온까지 냉각시킨 후 여과한 뒤 감압농축기를 이용하여 에탄올 추출물을 얻었다. 에탄올 추출물을 500 mL의 물에 현탁시킨 후 500 mL의 에테르로 3회 추출하여 비극성 물질을 제거하였다. 물층은 물로 포화된 부탄올 500 mL를 가하여 3회 추출하였으며, 이로부터 얻어진 부탄올 분액을 모아 감압 건조한 잔사를 HPLC 성분 분석을 위한 시료 및 생리활성 검증의 시료로 사용하였다.

4) 흑삼사포닌 성분분석

신공법에 의해서 제조된 흑삼에 존재하는 인삼사포닌의 성분을 분석하기 위하여 제조한 흑삼 추출물 20 mg을 메탄올 1 mL에 녹인 후 0.45 μm 필터로 여과한 여액을 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. 사용한 HPLC 장치는 Shimadzu LC-6AD (Japan)이었으며, 컬럼은 Shiseido(5 μm, 150×4.6 mm)를 사용하였다. 이동상으로 사용한 A 용매는 CH₃CN:H₂O:5% acetic acid=15:80:5, B 용매는 CH₃CN:H₂O=80:20이었다. 용매는 gradient elution system으로 0분(0%B), 0~10분(30% B), 10~25분

(50% B), 25~40분(100% B), 40~50분(100% B), 50~53분(0% B), 53~56분(0% B)으로 조절하였다. 전개온도는 40°C이었고 유속은 1 mL/min이었으며, 검출기는 ELSD-LT(Shimadzu, Japan)를 사용하여 사포닌의 성분을 분석하였다.

2. 항암활성 측정

1) *in vitro* 세포독성 실험

MTT법¹³⁾으로 암세포에 대한 세포독성을 측정하였다. 세포독성 측정시 사용한 인체암세포주로는 신장암세포(ACHN), 폐암세포(NCI-H23), 결장암세포(HCT-15) 및 전립선암세포(PC-3)를 10% FBS가 첨가된 RPMI1640으로 5% CO₂, 37°C 배양기에서 배양하였다. 세포를 배양한 후 트립신-EDTA를 이용하여 세포를 배양용기로부터 분리하고 1×10⁴의 세포를 96웰 플레이트에 분주하고 24시간 배양한 후 시료를 농도별로 계대 희석하여 웰당 100 µL씩 분주하였다. 이를 48시간 배양한 후 MTT(5 mg/mL)를 10 µL씩 넣고 4시간 동안 배양한 후 PBS(phosphate-buffered solution)로 세척하였다. 이 세척한 플레이트를 DMSO 100 µL를 넣고 상온에서 20분 방치한 후 ELISA 570 nm에서 흡광도를 측정하였고 시료를 처리하지 않은 대조군을 100%로 하여 사멸률을 계산하였다.

2) *in vivo* 항암실험

Teruhiro의 방법¹⁴⁾으로 Lewis lung carcinoma cell을 마우스당 1×10⁶ cells/mL의 농도가 되도록 세포 부유액을 만들고 이 부유액을 BDF1 마우스의 왼쪽 겨드랑이에 이식하였다. 이식 후 24시간부터 각 군을 6마리로 배정하였다. 대조군은 생리식염수 0.2 mL를, 실험군은 흑삼 및 홍삼 추출물을 생리식염수에 현탁시킨 용액 0.2 mL를 20 mg/kg/day의 농도로 마우스 복강에 매일 1회 주사하였다. 시료는 대조군의 tumor volume이 약 2 cm³가 될 때까지 투여하였다(약 2주). 그 후 tumor 크기를 측정한 다음 아래의 계산식으로 tumor 면적을 구하여 inhibition of tumor volume을 측정하였다.

$$TV = \frac{L \text{ (cm)} \times W^2 \text{ (cm}^2\text{)}}{2}$$

$$IRTV \text{ (\%)} = \frac{\text{Mean of TV of control group} - \text{Mean of TV of treated group}}{\text{Mean TV of control group}} \times 100$$

TV: tumor volume, L: tumor length, W: tumor width, IRTV: inhibition ratio of tumor volume

결 과

1. 흑삼의 제조

충남 금산에서 10월 중에 생산한 6년근 인삼을 1차 건조시킨 다음 증숙기에 넣고 95°C에서 3시간 동안 일정하게 유지하면서 1차 증숙한 후 건조기에서 60°C로 유지시킨 후 15시간 동안 팬을 돌리면서 골고루 인삼을 건조시켰다. 이렇게 1차 증숙한 인삼을 다시 115°C에서 6시간 동안 증숙한 후 내부온도를 60°C로 유지시킨 건조기에서 15시간 동안 건조시켜 흑삼을 제조하였다. Fig. 1에서와 같이 백삼은 1, 2차 증숙을 거치는 동안 색깔이 백색에서 흑색으로 변하는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 구중구포의 방법을 사용하여 흑삼을 제조하면 9회 반복되는 제조과정 중에 인삼의 잔뿌리와 같은 조직이 약한 부분들이 떨어져 나가지만 본 방법은 단 2회에 걸쳐서 흑삼이 제조되기 때문에 인삼의 원형을 그대로 유지한 채 흑삼을 제조할 수 있는 장점이 있다(Fig. 1).

또한 Fig. 2(A)에서와 같이 기존의 구중구포의 방법에 의해서 제조된 흑삼의 경우 9번 찢고 말리는 과정에서 인삼 내부의 조직이 변성되어 흑삼의 절단면을 살펴보면 일정한 형태가 아닌 다공질 형태의 단면을 보이며 조직이 약해서 잘 깨어지는 현상을 관찰하였다. 이에 비해서 Fig. 2(B)에서와 같이 신평법에 의해서 제조된 흑삼의 경우 흑삼의 절단면을 살펴보면 다공질 형태가 아닌 조직이 치밀하다는 것을 확인할 수 있었다.

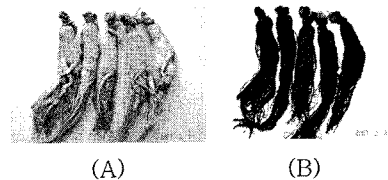


Fig. 1. Photography of black ginseng
(A) White ginseng, (B) Black ginseng

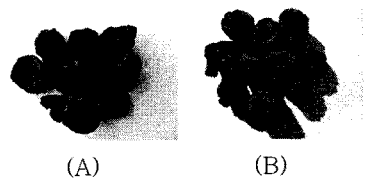


Fig. 2. Comparison of the two black ginseng manufactured by nine times steaming (A) and two times steaming (B)

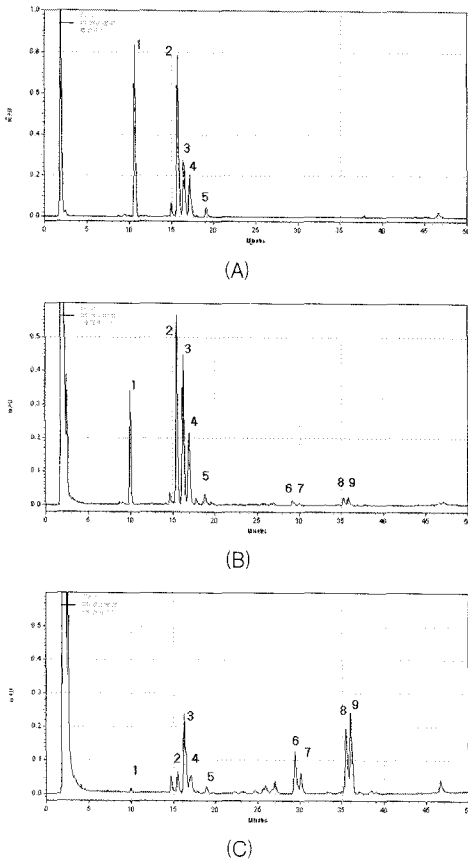


Fig. 3. HPLC analysis of black ginseng (A) white ginseng, (B) first steamed ginseng, (C) second steamed ginseng. 1: Rg₁ and Re, 2: Rb₁, 3: Rc, 4: Rb₂, 5: Rd, 6: Rg₃(S), 7: Rg₃(R), 8: Rk₁, 9: Rg₅.

2. HPLC에 의한 흑삼에 존재하는 사포닌의 성분 분석

Fig. 3에서와 같이 신공법에 의해서 제조된 흑삼에 존재하는 인삼사포닌의 성분을 분석한 결과 증숙을 하지 않은 백삼의 경우 Rg₁, Re 및 Rb₁이 주 성분임을 알 수 있었다.

3. 흑삼에 존재하는 사포닌 Rg₃의 함량

흑삼에 특이적으로 대량 존재하는 사포닌인 Rg₃, Rk₁ 및 Rg₅ 중에서 최근에 항암 및 뇌기능 개선 효과 등이 있다고 알려져 있어 많은 주목을 끌고 있는 Rg₃를 선택하여 그 함량을 측정하였다. 증숙하지 않은 백삼에는 Rg₃가 존재하지 않았으며 1차 증숙한 건조 인삼 1 g 중에는 Rg₃가 0.25 mg으로 소량

존재하였다. 이에 비해서 2차 증숙하여 얻은 흑삼의 경우 흑삼 1 g 중에 Rg₃의 양은 11.48 mg으로써 1차 증숙된 인삼에 비해서 무려 45배 정도 증가되었다(Table 1).

Table 1. The amount of ginsenoside Rg₃ in 1g of dried ginseng

	백삼	1차 증숙인삼	2차 증숙인삼
mg	-	0.25	11.48

4. 흑삼의 여러 가지 인체암세포에 대한 세포독성

흑삼 조사포닌은 실험에 사용된 100 mg/mL의 농도에서 4종의 암세포에 대해서 세포독성을 나타내지 않았다. 그러나 흑삼 조사포닌은 기존의 항암제인 adriamycin보다는 약했지만, 실험에 사용된 4 종류의 암세포에 대해서 비교적 강한 세포독성을 나타내었다. 즉, 신장암세포(ACHN), 결장암세포(HCT-15) 및 전립선암세포(PC-3)에 대해서 IC₅₀값이 각각 60.3, 61.2 및 90.8 mg/mL로써 비교적 강한 세포독성을 나타내었다. 그러나 폐암세포(NCI-H23)에 대해서는 세포독성 효과를 나타내지 않았다(Table 2).

Table 2. Cytotoxic effect of black ginseng against human tumor cell lines

시 료	IC ₅₀ (μg/mL)			
	ACHN	NCI-H23	HCT-15	PC-3
흑삼 조사포닌	>100	>100	>100	>100
흑삼 조사포닌	60.3	>100	61.2	90.8
Adriamycin	0.1	0.1	0.1	0.3

Table 3. Anti-tumor activity of black ginseng and red ginseng on BDF1 mice bearing Lewis lung carcinoma

Group	Concentration (mg/kg/day)	Tumor volume(mm ³)	% of inhibition
대조군	-	2,547	-
흑삼추출물	20	1,975	22.4
흑삼추출물	20	1,612	36.7
Taxol	12.5	1,365	46.4

5. 흑삼의 *in vivo* 항암효과

대조군의 tumor volume은 2,547mm³인데 비해서 비교물질로 사용된 항암제인 taxol 투여군의 tumor

volume은 1,365 mm³으로써 46.4%의 항암효과를 나타내었다. 이에 비해서 흑삼 조사포닌 20 mg을 투여한 군의 tumor volume은 1,612 mm³로서 36.7%의 항암효과를 나타내었다. 또한 홍삼 조사포닌 20 mg을 투여한 군의 tumor volume은 1,975 mm³로 22.4%의 항암효과를 나타내었다. 즉 흑삼의 항암효과는 비교물질로 사용한 기존의 항암제인 taxol에 비해서는 항암효과가 낮았지만, 홍삼에 비해서는 우수한 항암효과를 나타냄을 알 수 있었다(Table 3).

고찰

인삼은 가공방법에 따라서 크게 백삼과 홍삼으로 분류되는데 홍삼은 수삼을 수증기 또는 기타 방법으로 찐 후 건조한 것을 말하며, 백삼은 수삼을 햇볕이나 열풍 또는 기타 방법으로 익히지 않고 말린 것을 말한다. 인삼의 역사는 2,000여 년이 넘으며 오랜 세월 동안 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 원료로 한 다양한 형태의 인삼제품이 개발되고 있다.

본 연구팀은 이러한 시대적 흐름에 따라서 새로운 고부가가치 신기능성 가공인삼을 개발하기 위하여 구중구포의 원리를 이용하여 흑삼을 개발한 바 있다. 즉 5년근 인삼을 95℃에서 증숙과 60℃의 건조과정을 9번 반복하여 흑삼을 제조하였다. 그러나 이 방법은 9번을 찌고 건조해야만 하므로 최소한 2주 이상의 제조시간이 소요되며 대량으로 흑삼을 제조하는데 한계가 있는 단점이 있다. 이와 같은 단점을 보완하고자 본 연구팀은 95℃에서 1차 증숙한 후 115℃와 같은 고온에서 6시간 동안 2차 증숙하여 흑삼을 제조할 수 있었다(Fig. 1). 이 방법을 사용하면 흑삼제조시간을 2주에서 이를 정도로 줄일 수 있어 아주 경제적인 방법이라 판단되며 대량으로 흑삼을 제조할 수 있는 장점이 있다.

또한 한국을 포함한 중국의 인삼소비자들은 원형삼을 선호하는 경향이 있기 때문에 고부가가치 가공인삼으로 인정받기 위해서는 원형흑삼의 외형 및 내부 상태가 상당히 중요할 것이다. 따라서 기존의 구중구포 및 신공법에 의해서 제조된 흑삼을 비교 분석한 결과 구중구포의 방법으로 제조된 흑삼의 절단면을 보면 Fig. 2에서와 같이 9번을 찌고 말리는 단계에서 조직의 변성이 일어나 다공질 형태라는 것을 알 수 있었다. 이와는 달리 제조공정을 획기적으로 줄인 신공법에 의해서 제조된 흑삼의 절단면을 보면 조직이 치밀하고 다공질이 아닌 품질이 우수한 흑삼이라는 것을 확인할 수 있었다.

한편 본 방법에 의해서 제조한 흑삼의 성분을 분석한 결과 백삼의 주요한 사포닌은 Rg₁, Re, Rc, Rd 및 Rb₁인데 1차 증숙 및 2차 증숙과정을 거치면서 백삼이나 홍삼에 미량 또는 존재하지 않는 사포닌인 Rg₃, Rk₁ 및 Rg₅가 다량으로 흑삼에 존재함을 알 수 있었다(Fig. 3). 이러한 이유는 백삼에 존재하는 사포닌의 aglycon에 결합되어 있는 sugar 부분이 증숙 과정 중에 열에 의해서 분해되며 또한 탈수반응이 일어나기 때문이다(Fig. 4).

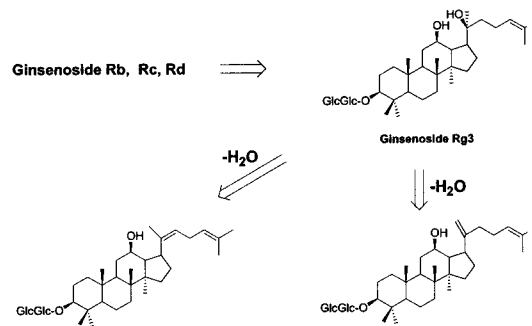


Fig. 4. Chemical structures of ginsenosides

최근의 연구에 따르면 Rg₃가 항암효과를 포함하여 여러 가지 생리활성을 나타낸다는 보고가 있으며^{9,10)}, Rk₁ 및 Rg₅도 여러 가지 생리활성을 나타낸다는 보고가 있다^{16,17)} 본 방법에 의해서 제조한 건조 흑삼 1 g당 Rg₃의 양은 무려 11.48 mg이었으며 백삼에는 존재하지 않았다(Table 1). 홍삼은 실험에 사용한 100 mg/mL의 농도에서 4가지 인체암세포에 대해서 세포독성효과를 나타내지 않았지만, 흑삼은 신장암세포(ACHN), 결장암세포(HCT-15) 및 전립선암세포(PC-3)에 대해서 IC₅₀값이 각각 60.3, 61.2 및 90.8 mg/mL로서 비교적 강한 세포독성을 나타내었다. 그러나 폐암세포(NCI-H23)에 대해서는 세포독

성 효과를 나타내지 않았다(Table 2). 이와 같은 결과는 앞서 설명한 바와 같이 흑삼에는 다량의 Rg₃가 존재하기 때문일 것이라고 판단된다. 또한 동물 실험을 통하여 흑삼의 항암효과를 측정된 결과 홍삼의 항암효과(22.4%)보다 강한 항암효과(36.7%)를 나타내었다.

흑삼에는 Rg₃외에 Rk₁ 및 Rg₅도 다량 존재하기 때문에 항암효과 외에 당뇨억제, 고혈압 억제효과 등과 같은 다양한 생리활성에 대한 검증이 필요할 것으로 판단된다. 또한 Rg₃, Rk₁ 및 Rg₅와 같이 다량 존재하는 사포닌 외에 여러 가지 소량의 사포닌이 존재하기 때문에 이들 사포닌의 구조를 밝히는 연구도 필요할 것이다.

결론

구중구포의 방법이 아닌 새로운 방법에 의해서 흑삼을 제조하고자 하였던바 다음과 같은 결론을 얻었다. 금산에서 10월에 채집한 6년근 수삼을 증숙기에서 95℃에서 증숙한 후 원적외열선이 내장된 건조기에서 60℃에서 건조하여 1차 증숙을 한 후 다시 115℃에서 6시간 증숙하여 흑삼을 제조하였다. 신공법에 의해서 제조된 흑삼은 다공질이 아닌 조직이 치밀한 우수한 품질이었다. 또한 건조 흑삼 1g 중에 백삼에는 존재하지 않고 홍삼에는 미량 존재하는 Ginsenoside Rg₃가 11.48 mg 함유되어 있었다. 또한 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 흑삼의 우수한 항암효과를 검증하였다. 이상의 결과로 보아 신공법에 의해서 제조된 흑삼은 구중구포의 방법에 의해서 제조된 흑삼에 비해서 품질이 우수할 뿐만 아니라 항암효과 등 다양한 생리활성을 나타내는 Rg₃ 뿐만 아니라 Rk₁ 및 Rg₅도 다량 함유하고 있어 새로운 가공인삼으로 개발 가능성이 충분하다고 판단된다. 특히 본 방법은 제조단계를 9단계에서 획기적으로 2단계로 줄이므로 경제적이며 시간절약은 물론 대량으로 생산할 수 있는 방법이다. 따라서 향후 흑삼의 개발 및 흑삼연구에 커다란 기여를 할 수 있으며 농가소득 증대에도 큰 기여를 할 수 있으리라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2005년 농림기술개발연구과제 현장적

용기술개발(과제번호 105061-3)에 의해 수행되었는 바 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 이상인. 한국인삼사. 서울 : 한국인삼경작조합 연합회. 1980 : 166.
2. 한국인삼연초연구원. 1994 ; 고려인삼. 천일인쇄사. 1994: 63-694. Natarajan KR. 1980. Peanut protein ingredients: preparation, properties and good uses. In *Advances in Food Research*. Gross E Meinhofer. New York : J eds. Academic Press Vol 26 : 125-220.
3. 임병욱. 국내외 인삼산업 동향 및 전망. 식품기술. 2005 ; 18(2) : 16-30.
4. Wang CZ, Zhang B, Song WX, Wang A, Ni M, Luo X, Aung HH, Xie JT, Tong R, Yuan CS. Steamed American ginseng berry:ginsenoside analyses and anticancer activities. *J Agric. Food Chem.* 2006 ; 54 : 9936-9942.
5. Christensen LP, Jensen M, Kidmose U. Simultaneous determination of ginsenosides and polyacetylenes in American ginseng root(*Panax quinquefolium* L.) by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem.* 2006 ; 54 : 8995-9003.
6. Corbit R, Ebbs S, King ML, Murphy LL. The influence of lead and arsenite on the inhibition of human breast cancer MCF-7 cell proliferation by American ginseng root (*Panax quinquefolius* L). *Life Sciences.* 2006 ; 78 : 1336-1340.
7. Barbara K, Ewa K, Jerzy K, Aleksander C. The effect of growth regulators on quality parameters and ginsenosides accumulation in *Panax quinquefolium* L roots. *Plant Growth Regulation.* 2006 ; 48 : 13-19.
8. Lim W, Mudge KW, Vermeylen F. Effects of population, age and cultivation methods on ginsenoside content of wild American ginseng(*Panax quinquefolium*). *J Agric Food Chem.* 2005 ; 53 : 8498-8505.
9. Wang W, Zhao Y, Rayburn ER, Hill DL, Wang H, Zhang R. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*.

Cancer Chemoth Pharmacol. 2007 ; 59 : 589-601.

10. Ni JS, Xin Y, Wang X, Chen D, Tian K, Chne LY, Wu J. Inhibitory effect of 20(S)-ginsenoside Rg3 on growth and metastasis of Lewis pulmonary carcinoma. *Zhongliu Fangzhi Yanjiu* 2006 ; 33 : 311-313.

11. Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.* 2000 ; 150 : 41-48.

12. 이지현, 신귀남, 김의검, 신현중, 명창선, 오한진, 김동희, 노성수, 조원, 서영배, 박용진, 강철우, 송규용. 흑삼의 제조 및 항암효과. *대한동의생리병리학회지.* 2005 ; 20 : 951-956.

13. 송규용, 오한진, 노성수, 서영배, 박용진, 명창선. Effect of black ginseng on body weight and lipid profiles in male rats fed normal diets. *약학회지.* 2006 ; 50 : 381-385.

14. Rubinstein LV, Paull KD, Shoemaker RH,

Simmon RM, Skehan P, Boyd MR. Correlation of screening data generated with a tetrazolium assay (MTT) versus a protein assay (SRB) against a broad panel of human tumor cell lines. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 1989 ; 30 : 2418.

15. Kim Y, Kim SB, You YJ, Ahn BZ. Deoxypodophyllotoxin: the cytotoxic and antiangiogenic component from *Pulsatilla koreana*. *Planta Med.* 2003 ; 68 : 271-274.

16. Shin YW, Bae EA, Kim DH. Inhibitory effect of ginsenoside Rg5 and its metabolite ginsenoside Rh3 in an oxazolone-induced mouse chronic dermatitis model. *Arch Pharm. Res.* 2006 ; 29 : 685-690.

17. Park SA, Kim EH, Na HK, Surh YJ. KG-135 inhibits COX-2 expression by blocking the activation of JNK and AP-1 in phorbol ester-stimulated human breast epithelial cells. *Ann NY Acad Sci.* 2007 ; 1095 : 545-553.