

## 새로운 자동 구증구포방법에 의한 인삼사포닌의 변환 및 이화학적 특성

김 염, 김연주, 전지나, 왕 초, 민진우, 정선영, 양덕춘\*

경희대학교 고려인삼명품화사업단 및 인삼유전자원소재은행

## Changes of Ginsenosides and Physiochemical Properties in Ginseng by New 9 Repetitive Steaming and Drying Process

Yan Jin, Yeon-Ju Kim, Ji-Na Jeon, Chao Wang, Jin-Woo Min, Sun-Young Jung and Deok-Chun Yang\*

Korean Ginseng Center for Most Valuable Product, and Ginseng Resource Bank,  
Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea.

**Abstract** - This study was conducted to investigate the contents of ginsenosides and physiochemical properties of *Panax ginseng* after 9 times steaming and drying treatment by using the new auto steamer which is more fast and simple than previous report. In the process of steaming and drying, the content of six major ginsenosides such as Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2 and Rd were gradually decreased. On the other hand, the content of seven minor ginsenosides includes Rh1, 20(S)-Rg2, 20(R)-Rg2, 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1 and Rg5 were gradually increased. We observed the protopanaxadiol ginsenosides such as Rb1, Rb2, Rc and Rd were converted into 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1 and Rg5; similarly protopanaxatriol ginsenosides of Rg1 and Re were converted into Rh1, 20(S)-Rg2 and 20(R)-Rg2. Based on the result of fresh ginseng, the contents of reducing sugar, acidic polysaccharide and total phenolic compounds were gradually increased and reached to maximum at 7 times repetitive steaming process of the fresh ginseng. Whereas DPPH radical scavenging activities were gradually decreased to 68% at 7 times steaming. New auto 9 repetitive steaming and drying process has similar production with original methods, but content of benzo(a)pyrene were not almost detected comparatively taking less time. The present results suggested that this method is best for the development of value-added ginseng industry related products.

**Key words** - *Panax ginseng*, Ginsenoside, Steaming, Physiochemical properties

### 서 언

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과(Araliaceae)의 인삼 속이며, 다년생 초본류로서 약용으로 사용된 역사가 2,000년이 넘는 한국의 대표적인 생약이다(Hikino *et al.*, 1985; Chung *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2003; Okuda, 1992; Ha and Ryu, 2005). 인삼은 한국을 비롯한 중국, 일본 등에서 강장제로서 신경을 안정시키고, 장기 복용 시 몸의 활력이 증진되고, 수명이 연장된다고 널리 알려져 있다. 인삼의 생리활성물질로는 진세노사이드, 폴리사세틸렌, 페놀성화합물, 산성다당체, 알칼로

이드, 아미노산 및 무기원소 등이 존재한다(Namba *et al.*, 1974). 현재까지는 인삼사포닌인 진세노사이드에 대한 연구가 주로 진행되어 왔었지만 비사포닌계열 화합물질에서도 항암성분, 항산화성분, 항피로성분 등이 밝혀지면서 비사포닌계열 성분에 대한 연구도 점차 증가되고 있다.

인삼은 가공처리방법에 따라서 그 효능이 달라지는데 그 동안 열처리에 의한 방법, 염기처리에 의한 방법, 그리고 각종 유산균에 의한 방법과 미생물과 식물 등이 생산한 효소처리에 의하여 새로운 사포닌으로 전환됨으로서 그 효과를 더욱 더 높이고 있다(Sun *et al.*, 2009; Ogihara and Nose, 1986; Cheng *et al.*, 2006). 수삼의 열처리에 의한 방법은 major ginsenoside C-20 위치에 결합한 당이 이탈하거나, C-20 위치의 수산기의 이성화에 의하여 minor

\*교신저자(E-mail) : dcyang@khu.ac.kr

ginsenosides Rh1, Rg2, Rg3, Rk1, Rg5 등이 생성된다 (Shin *et al.*, 2003). 열처리한 홍삼은 백삼과 비교할 때 외피색과 내부조직에서 큰 차이를 보이며, 다당체의 함량에서도 큰 차이를 나타낸다고 하였다(Kwak *et al.*, 2005). 페놀성 물질로는 caffeic acid, vanillic acid, maltol, ferulic acids 등이 있으며, 약리작용으로는 항산화작용과 지질과산화억제 작용이 보고되었다(Han *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 1995).

구증구포(아홉번의 찌고 말림)의 예로는 생지황을 아홉 번 찌고 건조한 것이 가장 대표적이며, 이러한 숙지황은 증포 횟수가 증가함에 따라서 성분변화에 의한 악성빈혈 치료 효능이 증가한다고 보고 되었다(Ma *et al.*, 2000). 하지만 인삼을 아홉 번 찌서 건조하는 일반적인 방법을 기본으로 하지만, 어떤 온도에서 얼마 동안 찌고 건조하는지 등이 표준화되지 않은 채 가공 식품류로 유통되고 있다(Kim, 2008). 95-99°C에서 2.5-3 시간 증숙하고 열풍건조기에서 24시간 건조하는 기존의 방법(Kim *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011)은 증숙 및 건조 과정의 시간이 너무 많이 소요되고 매우 복잡한 단계를 거치게 된다. 특히 수삼을 고온에서 여러 번 찌고 말리는 과정에서 인삼이 탄화되어 벤조피렌이 생성되는 경우도 있다(Kim *et al.*, 2011). 본 연구에서는 새로운 증숙기를 이용하여 기존 구증구포 방식의 열풍건조를 활용하지 않고 습열 상태에서 냉각 건조하는 과정을 통해서 인삼을 자동 구증구포하였다. 새로이 개발된 자동화 기기를 개발하여, 홍삼제조의 표준화와 이에 따른 여러 가지 생리 활성물질 함량의 변화를 모니터링 하였고, 홍삼가공 최적화 조건을 탐색하였으며, 안전성조사를 위해 벤조피렌의 생성여부, 증포 횟수에 따른 진세노사이드의 함량변화 및 환원당, 산성다당체, 총 페놀 화합물, DPPH 라디칼 소거활성 등 이화학적 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 구증구포

본 실험에 사용한 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 경희대학교 고려인삼 명품화사업단에서 생산된 4년근 수삼을 사용하였으며 크기가 일정한 시료를 골라서 사용하였다. 수삼의 구증구포는 각 증포 시 마다 4뿌리씩 사용하여 분석하였으며 무처리군과 증숙 횟수에 따른 개체군을 총 10개 그룹으로 분류하여 각 그룹별로 동체부위(지근으로

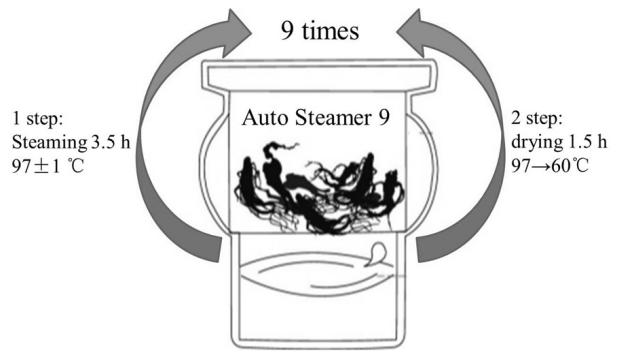


Fig. 1. New method for 9 repetitive times steaming and drying process by auto steamer 9.

갈라지는 부위까지)와 지근 및 미삼부위(지근부터 가는 세 근전체를 모아서 사용)로 분류하였고 개체간의 무게의 차이가 나지 않도록  $\pm 1$  g범위내에서 샘플을 수집하였으며 크기(부피)도 일정한 샘플을 이용하여 실험에 사용하였다. 구증증포는 최초  $97 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 3.5시간 증숙하였으며 이어서 1.5시간 냉각건조 즉 증발 방지기능과 냉각기능을 겸비한 2중 구조를 가진 증숙기에서 건조하였다. 이때 냉각 건조는 최초 온도  $97^\circ\text{C}$ 에서 점차 감소되어 1.5시간 동안 약  $60^\circ\text{C}$ 까지 내려가면서 진행되었다. 이러한 자체 증숙과 건조과정을 새로운 증숙기(Auto Steamer 9, 특히 번호 0751388)를 이용하여 자동 기기의 프로그램에 의해 계속적으로 9번 반복과정을 걸쳐 구증구포를 수행하였다(Fig. 1).

### 인삼 사포닌 성분 분석

상기 방법에 의하여 구증구포된 인삼시료 각 1 g에 80% 메탄올 20 mL 넣어  $80^\circ\text{C}$ 에서 2시간씩 3번 추출한 다음 여과지를 사용하여 여과한 후 모두 혼합하여 감압농축기로 농축하였다. 이를 동량의 증류수에 용해한 후 수포화 BuOH을 첨가하여 인삼사포닌을 추출하였다. 총 3회 반복 추출하여 이를 감압농축기를 이용하여 다시 농축, 건조한 후에 10 mL 메탄올에 용해시키고  $0.45 \mu\text{m}$  필터로 여과한 다음 HPLC(Agilent 1260, USA)를 이용하여 사포닌 함량을 분석하였다. 칼럼은 C18( $50 \times 3.0$  mm, ID  $2.7 \mu\text{m}$ ), 검출기는 UV detector, 파장은  $203$  nm에서 측정하였으며 이동상으로는 증류수(A)과 acetonitrile(B)의 gradient system을 사용하였으며 gradient는 0-6, 6-9, 9-14, 14-17, 17-18.5, 18.5-22, 22-22.5, 22.5-26 분마다 83:17, 71:29, 60:40, 30:70, 10:90, 10:90, 83:17, 83:17와 같이 조절하였고,

이동상의 유속은 1.0 mL/min이었으며 시료 주입량은 5 µL, 분석온도는 45°C로 하였다.

### 환원당 함량 분석

환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS)법(The Korean society of food science and nutrition, 2000)에 의해 측정하였으며, 시료 농도는 최적의 흡광도를 위해 0.2–2.0 mg/mL로 희석한 다음, 시료 용액 1 mL에 DNS reagent 1 mL를 혼합한 후 끓는 물에서 5분 동안 boiling한 후 ice 안에서 바로 냉각시켰다. UV-reader(Bio-Tek, Winooski, VT)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고 표준물질로 Glucose 사용하여 표준곡선을 작성한 후 환원당의 함량을 정량하였다.

### 산성다당체 분석

시료 1 g를 80°C에서 각각 1회 추출하여 얻은 물추출물에 에탄올을 가하여 다당체를 침전시킨 후, 5000×g에서 15분간 원심분리하였다. 상등액을 제거하고 침전된 다당체를 건조한 다음 이를 1 mg/mL 농도가 되게 증류수를 가하여 녹인 후, 산성다당체 분석용 시료로 사용하였다. 추출한 산성다당체 1 mL에 냉각한 tetraborate-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 시약 6 mL를 가하고 잘 혼합하여 6분간 끓는 물로 증탕 가열한 후 식힌 다음 0.15% m-hydroxydiphenyl-NaOH 시약 0.1 mL 첨가하여 상온에서 20분 동안 반응시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 galacturonic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하고 산성다당체의 함량을 계산하였다.

### 총페놀 화합물 함량

시료의 총페놀 화합물 함량은 Folin-denis 방법(Nowak *et al.*, 1992)에 의해 측정하였다. 메탄올에 녹여 추출한 시료 1 mL와 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL를 혼합하고 2 N Folin-denis 시약 1 mL가하여 30분간 방치 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 화합물 함량은 garlic acid를 이용하여 검량곡선을 작성하고 이를 이용하여 총페놀 화합물 함량을 환산하였다.

### 벤조피렌 함량

인삼시료 1 g에 물 10 mL를 넣어 90분간 초음파 추출한 후 핵산 100 mL과 내부표준액 3-Methylcholanthren을 넣어 핵산층을 분리하였다. 핵산층에 물 50 mL을 넣어 세

척하고, 이 핵산층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 후 농축하였다. 폴포리실카트리지를 사용하여 추출용액을 로딩하고 핵산으로 washing한 후 핵산:디크로로메탄 혼합용액(3:1)을 가하여 용출시켰다. 용출된 액을 건조시킨 후 메탄올에 녹이고 여과한 후 HPLC(Agilent 1260, USA)를 이용하여 분석하였다. 칼럼은 supelcosil LC-PAH(4.6×250 mm, ID 5 µm), 검출기는 UV detector, 파장 294 nm, 404 nm를 사용하였다. 이동상으로는 ACN과 증류수(8:2) 혼합용액을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min이었으며 분석온도는 35°C로 사용하였다. 그러나 최초 인삼시료 1 g 사용 시에는 전혀 벤조피렌 함량이 검출되지 않아 추가로 상기와 동일한 방법으로 인삼시료 5 g을 사용하여 시험하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거활성은 Blois방법(Blois, 1958)에 의해 측정하였다. 추출된 각 시료는 일정한 농도로 희석한 후 96 well plate에서 시료 20 µL에 0.2 mM DPPH용액 180 µL를 혼합한 후 암조건하에서 30분간 반응한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 시료의 무첨가군과 첨가군의 값을 비교하여 다음과 같은 계산식에 의해 IC<sub>50</sub>로 환산하였다.

$$\text{Inhibition activity}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광}}\right) \times 100$$

## 결과 및 고찰

### 새로운 구증구포 방법에 의한 활성사포닌의 생성

새로운 자동 구증구포기(Auto steamer 9)를 사용하여 수삼의 동체와 미삼을 증포 한 것과 증포하지 않은 처리구의 사포닌의 변환과정을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 수삼에 온도처리를 하지 않을 경우에는 흡수가 어려운 major ginsenoside인 Rg1와 Re 그리고 Rb1, Rb2, Rc, Rd가 많이 검출되었으나 구증구포한 경우에는 이런 물질이 변환되고 대신 흡수가 빠르고 인체에 항암활성이 강한 minor ginsenoside인 새로운 사포닌 Rh1, 20(S)-Rg2, 20(R)-Rg2, 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1 그리고 Rg5등이 많이 형성되었다(Fig. 2). 이런 결과는 이미 Kim등(2008)이 증포 후 열풍건조 시 사포닌 변환과 변환된 사포닌 함량에 대해 보고한바 있다.

하지만 기존 방법에 의하면 시간이 최소 3.5시간 증포하고 8시간 열풍건조를 한다고 할 경우 약 4.5일 소요되나 본 방법으로 처리하면 2일이면 가능하여 사포닌 변환 능은 거의 유사하지만 소요 시간을 크게 단축 할 수 있었다.

처리횟수가 증가함에 따라 사포닌 성분변화를 조사한 결과는 Table 1과 2에 나타난 바와 같다. 1차 증포 시(홍삼과 같은 현상) 동체 및 미삼에서 모두 아직 많은 major 사포닌 함량이 남아있는 것을 볼 수 있고, 또한 미량이지만 Rh1, 20(S)-Rg2, 20(R)-Rg2, 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1, Rg5 등이 미량 검출되었다(Table 1, Table 2). 반면에 증포 처리 횟수가 증가함에 따라서 major ginsenoside는 현저하게 감소되었으며, 이에 반하여 minor ginsenoside는 점진적으로 증가하는 경향을 보였다.

본 실험에서는 수삼을 동체와 미삼으로 나누어 분석하였는데 동체와 미삼의 진세노사이드 함량을 비교한 결과 미삼에서의 사포닌 함량이 동체보다 많았고 동체에서 Rg1함량이 Re보다 많았지만 미삼에서는 Re의 함량이 Rg1보다 많았다. 열처리에 의하여 major ginsenoside의 C-20 위치에 결합한 당이 이탈하거나, C-20 위치의 수산기의 이성화에 의하여 Rh1, Rg2, Rg3, Rk1, Rg5 등이 생성된다. Park 등(2003)의 연구결과를 보면 Rg3, Rh1 등이 암세포 전이 효과 및 암종양 증식 억제 등의 약리효능을 가지는 것

으로 보고 되었다. 본 실험에서 수삼 및 백삼에는 존재하지 않은 홍삼 특이 사포닌인 Rg3의 경우에는 동체에서 1번 증포 할 경우 함량이 0.31(S+R form) mg/g 이었으나 본 방법에 의하여 5회 증포 할 경우 2.68 mg/g로 약 9배 정도 증가하였으며 9 회 증포 할 경우에는 6.11 mg/g로 20배 증가되는 것으로 나타났다(Table 1). 더욱이 미삼에서는 사포닌 함량이 많아 수삼에서는 전혀 없던 Rg3가 1번 증포할 경우 0.7 mg/g으로 동체의 경우보다 2배정도 많았으며 9 번 증포 할 경우에는 13.54 mg/g로 1번 증포 할 때보다 역시 약 20배 증가되었고, 동체에 비해서는 2배정도 높은 결과를 보였다(Table 2). 특히 요즘 많은 각광을 받고 있는 Rk1+Rg5의 경우에는 1번 증포 할 경우 동체에서는 0.42 mg/g이던 것이 9번 증포 할 경우 8.44 mg/g로 1번 증포 할 때보다 20배정도 증가하였고(Table 1), 미삼에서는 1번 증포 시 0.80 mg/g이던 것보다 9회 증포 시 14.87 mg/g로 약 18배 이상 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Table 2). 따라서 본 연구결과 환원당, 총페놀함량, DPPH 라디칼 소거는 7회일 경우 가장 높은 함량 및 활성을 보였으며, 그 후 다소 감소하거나 동일한 수준을 보였다. 하지만 증포 횟수가 9회일 때 항암효과가 뛰어난 진세노사이드 Rg3, Rg5등 minor ginsenoside의 함량이 7회차에 비해 20% 더 증가하였기에 항암활성이 더 높을 것으로 사료되었다.

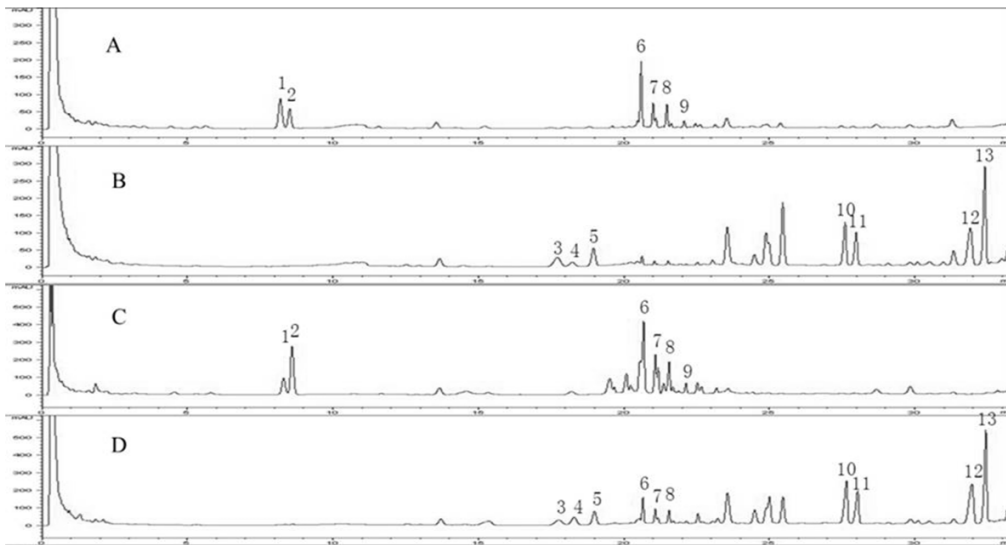


Fig. 2. HPLC analysis of the ginsenosides in ginseng produced by 9 repetitive steaming and drying process.

A: fresh ginseng main root extracts; B: fresh ginseng main root extracts by 9 times steaming; C: fresh ginseng fibrous root extracts; D: fresh ginseng fibrous root extracts by 9 times steaming.

1, Rg1; 2, Re; 3, Rh1; 4, 20(S)-Rg2; 5, 20(R)-Rg2; 6, Rb1; 7, Rc; 8, Rb2; 9, Rd; 10, 20(S)-Rg3; 11, 20(R)-Rg3; 12, Rk1; 13, Rg5.

그 동안 너무 고가로 판매되어 많은 효능실험들이 진행되지 못한 이들 특수 minor ginsenoside을 본 방법과 같이 자동 가공한다면 손쉽고, 대량으로 희귀 ginsenoside을 생산함으로써 향후 인삼의 기능성 연구에 기여 할 것이며, 국민 건강증진에도 도움이 되리라 사료되어진다.

**환원당 함량**

환원당이란 반응성이 있는 알데히드기와 케톤기를 가지며, 금속염 알칼리용액을 환원시키는 단당류와 이당류의 총칭이며 설탕을 제외한 포도당, 과당 그리고 맥아당 등이 포함된다. Son과 Ryu(2009)의 연구에서 백삼의 환원당 함

량은  $56.93 \pm 0.36$  mg/g으로 보고되었는데, 본 연구결과 수삼의 값과 비교하였을 때 비슷한 환원당 함량을 나타냈음을 알 수 있었다(Fig. 3). 그러나 수삼에서는 증포 횟수가 증가함에 따라 환원당 함량은 7회까지 유의적으로 증가하여 최대치 444.54 mg/g에 도달하였고 8회부터 소폭 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

**산성다당체 함량**

본 방법에 의하여 구증구포된 흑삼으로부터 추출된 총 다당체에 함유되어 있는 산성다당체 함량을 측정하였다(Fig. 4). 그 결과 구증구포 과정에 따른 산성다당체 함량

Table 1. Amounts of ginsenosides in fresh ginseng main root extracts after treatment by 9 repetitive steaming and drying process (mg/g)

Process no.	Ginsenosides (mg/g)											
	Rg1	Re	Rh1	Rg2(S)	Rg2(R)	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg3(S)	Rg3(R)	Rk1+Rg5
0	2.84±0.11	1.25±0.20	0.00	0.00	0.00	3.80±0.10	1.14±0.04	0.51±0.01	0.34±0.01	0.00	0.00	0.00
1	2.20±0.09	1.10±0.12	0.12±0.02	0.15±0.01	0.16±0.01	3.22±0.01	1.08±0.04	0.50±0.00	0.34±0.03	0.25±0.01	0.06±0.00	0.42±0.01
2	2.13±0.20	0.88±0.04	0.25±0.10	0.21±0.01	0.32±0.03	3.02±0.03	1.03±0.01	0.50±0.01	0.55±0.02	0.53±0.04	0.20±0.01	1.23±0.00
3	1.78±0.02	0.75±0.15	0.35±0.04	0.23±0.02	0.37±0.01	2.96±0.03	0.76±0.01	0.35±0.03	0.50±0.02	0.86±0.02	0.34±0.00	2.01±0.01
4	0.70±0.12	0.31±0.15	0.40±0.05	0.26±0.03	0.49±0.02	2.03±0.11	0.60±0.01	0.32±0.02	0.38±0.03	1.43±0.06	0.52±0.01	3.01±0.01
5	0.50±0.04	0.30±0.09	0.53±0.10	0.36±0.02	0.74±0.02	1.83±0.09	0.52±0.03	0.30±0.01	0.35±0.00	1.92±0.11	0.76±0.03	4.15±0.10
6	0.34±0.04	0.20±0.04	0.84±0.06	0.42±0.03	1.08±0.02	1.22±0.05	0.40±0.03	0.20±0.00	0.27±0.01	2.35±0.07	0.97±0.02	5.78±0.07
7	0.11±0.03	0.11±0.01	0.86±0.06	0.44±0.02	1.25±0.02	0.70±0.02	0.28±0.02	0.20±0.04	0.25±0.03	3.41±0.03	1.39±0.04	6.67±0.07
8	0.00	0.00	0.78±0.10	0.42±0.05	1.11±0.04	0.60±0.03	0.20±0.01	0.14±0.01	0.24±0.01	3.22±0.03	1.27±0.05	7.47±0.19
9	0.00	0.00	0.66±0.04	0.36±0.01	0.92±0.03	0.41±0.03	0.18±0.01	0.13±0.03	0.24±0.01	4.37±0.09	1.74±0.01	8.44±0.20

Table 2. Amounts of ginsenosides fresh ginseng fibrous root extracts after treatment by 9 repetitive steaming and drying process (mg/g)

Process No.	Ginsenosides (mg/g)											
	Rg1	Re	Rh1	Rg2(S)	Rg2(R)	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg3(S)	Rg3(R)	Rk1+Rg5
0	2.89±0.20	5.19±0.34	0	0.57±0.01	0	14.54±0.10	8.85±0.09	3.24±0.03	1.70±0.02	0	0	0
1	2.81±0.32	4.98±0.22	0.10±0.01	0.73±0.01	0.15±0.01	10.66±0.03	6.17±0.03	2.35±0.02	2.81±0.03	0.47±0.01	0.23±0.01	0.80±0.01
2	2.29±0.11	4.36±0.11	0.25±0.02	0.96±0.02	0.40±0.01	10.04±0.02	5.70±0.04	2.30±0.04	4.43±0.03	1.60±0.02	0.58±0.01	2.53±0.01
3	2.25±0.01	3.51±0.09	0.33±0.01	0.97±0.00	0.58±0.00	8.69±0.02	3.71±0.02	1.59±0.02	3.68±0.01	1.91±0.02	0.64±0.02	3.46±0.03
4	1.26±0.31	1.50±0.01	0.42±0.02	0.76±0.01	0.70±0.01	8.35±0.03	3.63±0.01	1.46±0.01	2.89±0.03	2.24±0.01	0.81±0.02	3.97±0.01
5	0.85±0.12	1.47±0.11	0.57±0.01	1.31±0.02	1.23±0.02	5.28±0.01	2.59±0.03	1.43±0.04	2.56±0.02	4.54±0.03	1.62±0.04	8.21±0.03
6	0.54±0.10	0.71±0.09	0.73±0.01	1.48±0.03	1.63±0.01	4.68±0.03	3.14±0.04	1.43±0.02	2.23±0.04	5.40±0.02	2.03±0.02	10.60±0.08
7	0.20±0.02	0.22±0.02	0.86±0.00	1.54±0.01	1.69±0.03	4.41±0.06	2.76±0.02	0.98±0.00	1.98±0.02	8.14±0.09	3.14±0.03	14.68±0.10
8	0.16±0.02	0.30±0.01	0.90±0.01	1.56±0.03	1.75±0.02	3.31±0.02	2.07±0.01	0.84±0.01	1.67±0.01	9.21±0.02	3.44±0.04	17.69±0.09
9	0.13±	0.13±0.00	0.92±0.02	1.69±0.02	1.85±0.03	2.30±0.02	1.21±0.03	0.59±0.02	1.63±0.01	9.72±0.07	3.82±0.04	14.87±0.19

은 증포를 하지 않을 경우 5.98 mg/mL이던 것이, 홍삼과 같이 1회 증포 시에는 6.83 mg/mL로 증가하였으며, 4회 증포 시에는 8.21 mg/mL, 7회 증포 시 10.52 mg/mL로 증포하지 않을 때 보다 점차 증가하는 경향을 보였으며 7회 증포 시에는 2배정도 증가하였다, 그러나 9회 증포 시 7.76 mg/mL로 증포 과정이 반복될수록 산성다당체 함량이 7회까지 유의적으로 증가하였으며 8, 9회는 오히려 점차 감소되는 경향을 나타내었다(Fig. 4). 인삼에는 산성다당체 성분이 존재하는데 이것은 암세포 등의 독소 호르몬 작용을 억제하는 약리활성을 나타낸다고 하며, 콜레스테롤 에스트라제 활성억제 및 지방분해효소 활성이 있다고 밝혀졌다. 따라서 그동안 홍삼에서 많이 이루어졌던 산성다당체에 대한 연구들이 새로운 구증구포의 처리방법으로 생산된 인삼을 통해서 연구가 추가된다면 인삼의 다양한 효능 연구에 이바지 할 것으로 기대된다.

**총 페놀 화합물 함량**

새로운 구증구포에 의하여 생성된 추출물에 대한 총 페놀 화합물 함량의 측정 결과는 Fig. 5에 나타냈다. 구증구포 과정에 따른 총 페놀 화합물 함량은 미처리시 9.0 mg/mL, 4회 증포 시 18.43 mg/mL, 7회 증포 시 26.9 mg/mL, 9회 증포 시 22.8 mg/mL로 증포 과정이 반복될수록 총 페놀 화합물 함량이 7회까지 증가하였으며 8, 9회는 점차 감소되는 것으로 나타났다. 인삼의 산성다당체와 총 페놀 화합물 함량은 유사한 패턴을 보였다. 페놀성 물질의 phenolic hydroxyl이 거대분자와 결합하여 항암, 항균, 혈압강화작용, 항산화 작용, 간 보호작용 등 생리활성기능을 갖는 것으로 알려져 있다(Park *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2006). 따라서 증포하지 않은 일반 인삼에 비해 구증구포에 의한 인삼의 생리활성 및 항산화 능력이 증대되는 것으로 사료된다.

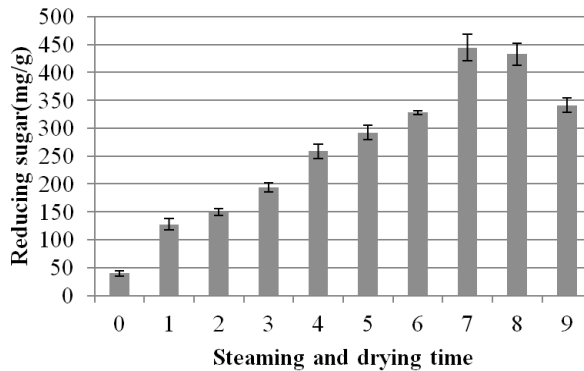


Fig. 3. Reducing sugar contents in the ginseng by 9 repetitive steaming and drying process. 0: raw ginseng, 1~9: the number of steam and dry-process.

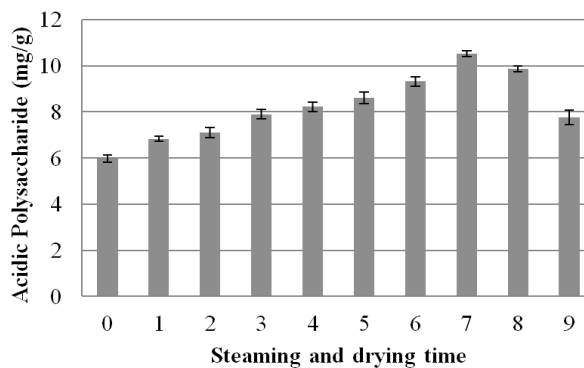


Fig.4. Acidic polysaccharide contents in the ginseng by 9 repetitive steaming and drying process. 0: raw ginseng, 1~9: the number of steam and dry-process.

### DPPH 라디칼 소거활성

일반적으로 페놀계 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 BHA (Butylated hydroxyanisole)와 BHT(Butylated hydroxytoluene)는 많이 사용해 왔지만, 합성 식품첨가물의 일반적인 기피 현상뿐만 아니라 과량 섭취 시 위장, 간, 신장, 폐, 순환계 등에 심각한 독성 작용을 일으키는 것으로 알려졌다. 따라서 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제에 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으며 식물추출물로부터 radical 소거 기능을 탐색함으로써 천연 항산화제를 개발할 수 있다. 본 연구에서는 수삼의 DPPH 라디칼 소거활성을 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었고 산화제 butylated hydroxyanisole (BHA)와 비교분석하였다(Fig. 6). BHA의 IC<sub>50</sub>값은 0.084 mg/mL이었고 수삼에서는 0.037 mg/mL으로 증포횟수가 증가함에 따라 7회까지 점차적으로 감소하였으며 7회부터 9회까지는 큰 유의적 차이가 없었다. 수삼은 7회 증포 시

IC<sub>50</sub>값이 68% 감소되는 것으로 나타났다.

DPPH 라디칼 소거활성 효과는 phenolic acids, 플라보노이드 및 기타 페놀성 화합물에 의한 항산화 작용이며, 이런 물질의 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거활성이 크다고 하였다. 본 연구에서 수삼은 페놀성 화합물 함량이 가장 높았던 증포횟수가 DPPH 라디칼 소거활성이 가장 높게 나타나 페놀성 화합물의 환원력에 따른 항산화 활성의 증가를 추측할 수 있었다.

### 벤조피렌 함량

벤조피렌은 다환 방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 이하 PAHs) 화합물 중 하나로써 내분비계 장애를 일으키는 물질이다. 이것은 최근 IARC(International Agency for Research on Cancer)에서 그룹 1(인체 발암물질)로 분류하고 있으며 폐암, 간암, 피부암 등을 일으키는 강력한

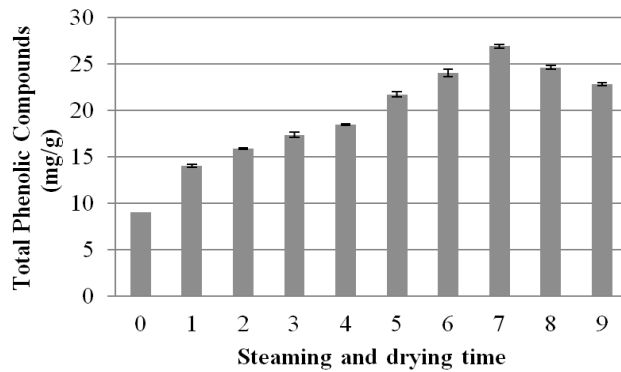


Fig. 5. Total polyphenol contents in the ginseng by 9 repetitive times steaming and drying process. 0: raw ginseng, 1-9: the number of steam and dry-process.

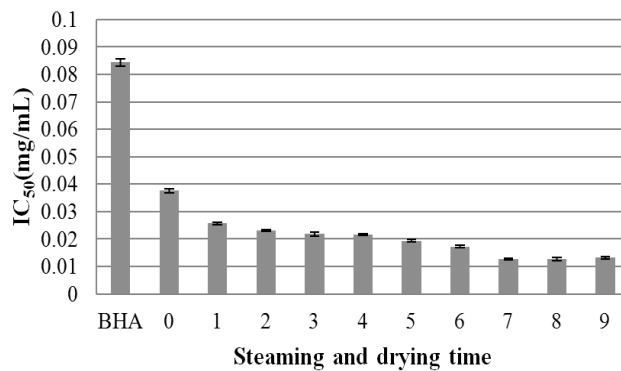


Fig. 6. DPPH radical scavenging activity of the ginseng by 9 repetitive times steaming and drying process. 0: control, fresh ginseng, 1-9: the number of steam and dry-process.

발암물질이다(Jay *et al.*, 1984; Kulkarmi and Anderson, 1984). 식품에 미량 검출되는 벤조피렌은 주로 음식을 조리, 가공할 때 식품의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지방 등이 불완전연소 과정에서 생성되는 것으로 알려져 있다(ATSDR, 1995). 본 연구에서 사용된 자동 구증구포에 의해서 제조된 인삼의 안정성을 확인하기 위하여 벤조피렌 분석 결과 다른 실험들과 마찬가지로 최초 1 g에서 분석한 결과 전혀 벤조피렌이 검출되지 않았다(테이타 미제시). 따라서 추가로 5배가 더 많은 총 5 g에서 벤조피렌을 추출하여 검사한 결과 구증구포 과정중 8회 증포 시 0.06 ppb, 9회 증포 시 0.07 ppb이 검출되었다. 그러나 우리나라에서는 벤조피렌의 허용 기준치가 식용유, 올리브유, 옥수수유, 참기름 등의 식물 유지류에서 2 ppb 이하로 규정하고 있고 숙지황에서 5 ppb 이하로 규정하고 있다(Korea Food & Drug Administration, 2010). 따라서 본 자동 구증구포에 의해 제조된 인삼에서는 기준치보다 28배나 적게 검출되었으며 이 정도의 함량은 가정에서 일반 조리시 나타나는 함량 정도로 본 방법에 의하여 제조된 인삼은 벤조피렌 함량이 낮아 안전한 식품 소재로 사료된다. 한때 신문지상과 TV에서 거론된 흑삼에서의 벤조피렌함량(2-14 ppb)은 제조공정중 열풍건조시 관리부족으로 나타날 수 있으나 본 방법으로는 자동으로 증포되고 습열냉각으로 건조되었기 때문에 인위적 관리 과정시 발생하는 벤조피렌 생성 확률이 극히 낮을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 차세대 바이오 그린 21사업(SSAC, grant#: PJ008204)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 적 요

구증구포방법은 기존의 홍삼제조방법에서와 같이 9회 반복 과정으로 새로운 신규사포닌 등 성분변화가 일어나지만 시간이 오래 걸리고 복잡하며 어떤 특수 성분이 얼마나 증가 되는지 보고 되어 있지 않다. 또한 기존의 구증구포방법은 제조공정 중 건조시 보통 60℃에서 열풍건조를 하기 때문에 건조시 관리의 부족으로 간혹 벤조피렌에 노출되는 경우가 있다. 본 방법은 새로운 자동 구증구포방법으로 제

조시간이 약 2배정도 단축되며 특히 건조시 습열냉각건조를 통하기 때문에 벤조피렌함량이 거의 검출되지 않았다. 또한 사포닌 변환 등은 기존 구증구포방법과 같이 사포닌 변화가 일어나 홍삼에서만 나타나는 Rg3와 기타 효능활성물질 등이 분석되었다. 인삼사포닌의 경우에는 증포횟수가 증가함에 따라 흡수가 어려운 major ginsenoside(Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2 및 Rd)의 함량이 점차적으로 감소되고 대신 흡수가 빠르고 항암활성이 강한 minor ginsenoside (Rh1, 20(S)-Rg2, 20(R)-Rg2, 20(S)-Rg3, 20(R)-Rg3, Rk1 및 Rg5)의 함량이 점차적으로 증가하였다. 특히 diol계 사포닌인 ginsenosides Rb1, Rb2, Rc 및 Rd는 Rg3, Rk1 및 Rg5로 전환되었고, triol계 사포닌인 ginsenosides Rg1 및 Re는 Rh1, Rg2로 전환되었다. 수삼에서의 환원당, 산성다당체 및 총 페놀 화합물 함량은 7회까지 유의적으로 증가하였고 8회부터 점차 감소하는 경향을 보였다. DPPH 라디칼 소거활성은 7회까지 점차적으로 감소하여 IC<sub>50</sub>값이 68% 감소되는 것으로 나타났으며 7회부터 9회까지는 큰 유의적 차이가 없었다. 결론적으로 본 자동 구증구포방법은 기존의 방법과 물질생성은 거의 비슷하지만 시간이 단축되고 벤조피렌 함량이 거의 검출되지 않아 앞으로 고부가가치 인삼산업에 많은 도움을 줄 것으로 생각된다.

## 인용문헌

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry(ATSDR). 1995. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs). U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Cheng L.Q., M.K. Kim, J.W. Lee, Y.J. Lee and D.C. Yang. 2006. Conversion of major ginsenoside Rb1 to ginsenoside F2 by *Caulobacter leidyia*. *Biotechnol Lett.* 28:1121-1127.
- Chung, Y.S., Y.H. Chang and J.H. Sung. 2006. The effect of ginseng and caffeine products on the antioxidative activities of mouse kidney. *J. Ginseng Res.* 30(1):15-21 (in Korean).
- Ha, D.C. and G.H. Ryu. 2005. Chemical components of red, white and extruded root ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(2):247-254 (in Korean).
- Han, B.H., Y.N. Han and M.H. Park. 1985. Chemical and biochemical studies on the antioxidant components of ginseng. *Advances in Chinese medicinal materials research.* World



- Scientific Publishing, Singapore. pp. 485-498.
- Hikino, H., Y. Oshima, Y. Suzuki and C. Konno. 1985. Isolation and hypoglycemic activity of Panaxans F, G and H, glycans of *Panax ginseng* roots. *Shoyakugaku Zasshi* 39(4):331-333.
- Jay, H.L., J.B. Wiliam, B. Franco, F. Robert, R.G. Charles, K. Michael, S. Dietrich and V. Giuseppe. 1984. Patterns of lung cancer risk according to type of cigarette smoked. *Int. J. Cancer* 33:569-576.
- Kim, D.W., Y.J. Kim, Y.J. Lee, J.W. Min, S.Y. Kim and D.C. Yang. 2008. Conversion of ginsenosides by 9 repetitive steaming and dryings process of Korean ginseng root and its inhibition of BACE-1 activity. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 22(6):1557-1561 (in Korean).
- Kim, H.J., J.Y. Lee, B.R. You, H.R. Kim, J.E. Choi, K.Y. Nam, B.D. Moon and M.R. Kim. 2011. Antioxidant activities of ethanol extracts from black ginseng prepared by steaming-drying cycles. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40(2):156-162.
- Kim, S.N. 2008. Study on ginsenoside patterns on the steam processing of Korean ginseng and hypoglycemic action on streptozotocin induced diabetic rats of 9 time-steaming ginseng. Ph. D Dissertation. Joongbu University, Chungnam, Korea (in Korean).
- Korea Food & Drug Administration. 2010. Korean Food Standard Codex 10:48-51.
- Kulkarni, M.C. and M.W. Anderson. 1984. Persistence of benzo(a)pyrene metabolite: DNA adducts in lung and liver of mice. *Cancer Res.* 44:97-101.
- Kwak, Y.S., H.J. Shin, Y.B. Song, J.S. Kyung, J.J. Wee and J.D. Park. 2005. Effect of oral administration of red ginseng acidic polysaccharide(RGAP) on the tumor growth inhibition. *J. Ginseng Res.* 29:176-181 (in Korean).
- Lee, D.W., H.O. Sohn, H.B. Lim and Y.G. Lee. 1995. Antioxidant action of ginseng: an hypothesis. *Korean J. Ginseng Sci.* 19(1):31-38 (in Korean).
- Lee, S.J., D.W. Park, H.G. Jang, C.Y. Kim, Y.S. Park, T.C. Kim and B.G. Heo. 2006. Total phenol content, electron donating ability and tyrosinase inhibition activity of pear cut branch extract. *Kor. J. Hort Sci. Technol.* 24:338-342 (in Korean).
- Ma, J.Y., C.S. Ha, H.J. Sung and O.P. Zee. 2000. Hemopoietic effects of *Rhizoma Rehmanniae Preparata* on cyclophosphamide-induced pernicious anemia in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* 31(3):325-334 (in Korean).
- Namba, T., M. Yoshizaki, T. Tomimori, K. Kobashi and K. Mitsui. 1974. Chemical and biochemical evaluation of ginseng and related crude drugs. *Yakugaku Zasshi* 94:252-260.
- Nowak, H., K. Kujawa, R. Zadernowski, B. Rocznik and H. Kozłowska. 1992. Antioxidative and bactericidal properties of phenolic compounds in rapeseeds. *European J. Lipid Sci. Technol.* 94:149-152.
- Ogihara Y. and M. Nose. 1986. Novel cleavage of the glycosidic bond of saponins in alcoholic alkali metal solution containing a trace of water. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 18:1417-1417.
- Okuda, H. 1992. Inhibitory substances in Korean red ginseng toward toxohormones-L: A toxic substance secreted from tumor cells. *The Ginseng Review* 15:34-37.
- Park, C.K., B.S. Jeon and J.W. Yang. 2003. The chemical components of Korean ginseng. *Food Industry and Nutrition* 8(2):10-23 (in Korean).
- Shin, J.E., E.K. Park, E.J. Kim, Y.H. Hong, K.T. Lee and D.H. Kim. 2003. Cytotoxicity of compound K (IH-901) and ginsenoside Rh2, main biotransformants of ginseng saponins by bifidobacteria, against some tumor cells. *Ginseng Res.* 27:129-134.
- Son, H.J. and G.H. Ryu. 2009. Chemical compositions and antioxidant activity of extract from a extruded white ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38:946-950 (in Korean).
- Sun B.S., L.J. Gu, Z.M. Fang, C.Y. Wang, Z. Wang, M.R. Lee, Z. Li, J.J. Li and C.K. Sung. 2009. Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC?ELSD. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 50:15-22.
- The Korean society of food science and nutrition. 2000. Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition. Hyoil Publishing Co., Seoul, Korea. pp. 151-152.

(Received 17 July 2012 ; Revised 14 August 2012 ; Accepted 21 August 2012)