

시판 홍삼농축액의 원산지 판별을 위한 LC-MS/MS 분석

문지영^{1,2} · 한현정¹ · 동혜민¹ · 박수원¹ · 김현정² · 방경환³ · 노봉수^{1,*}

¹서울여자대학교 식품공학과, ²농산물품질관리원 시험연구소 원산지검정과,
³농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Analysis of LC-MS/MS in Discrimination of the Origin of Commercial Red Ginseng Concentrates

Ji Young Moon^{1,2}, Hyun Jung Han¹, Hyemin Dong¹, Su Won Park¹, Hyun Jung Kim²,
Kyong-Hwan Bang³, and Bong Soo Noh^{1,*}

¹Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

²National Agricultural Products Quality Management Service, Experiment Research Institute

³Ginseng Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration

Abstract The geographical origin of commercial red ginseng concentrate was studied using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The ginsenoside content of domestic and Chinese red ginseng concentrates was determined. Four types of suspected origin samples could be selected this technique. The LC-MS/MS data were statistically analyzed on the basis of canonical function analysis and principal component analysis. Domestic and Chinese samples could be discriminated via canonical function analysis using posterior probability. In addition, the mixture ratio (Korean or Chinese origin) of the unknown origin specimen could be predicted based on the relationship between the mixing concentration of red ginseng concentrates and principal component 1.

Keywords: red ginseng concentrate, geographical origin, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, discrimination

서 론

인삼은 세계적으로 인기있는 약초이며, 수천 년 동안 아시아의 전통 의학에 다양한 용도로 사용되어왔으며(1), 인삼은 가공방법에 따라서 땅에서 캐내어 말리지 않은 수삼, 잔뿌리를 잘라내고 껍질을 벗겨내어 만든 백삼, 수삼을 수증기나 다른 방법으로 찌고 건조하여 만든 홍삼으로 구분하고 있다. 이 홍삼의 저장성을 높이기 위해 홍삼 농축액을 제조하는 방법은 수삼을 증기 또는 기타의 방법으로 익혀서 말린 홍삼을 물이나 주정 또는 물과 주정을 혼합한 용매로 추출 여과하여 가용성 홍삼성분을 그대로 농축시킨다. 따라서 홍삼 농축액의 적은 양으로도 홍삼의 기능을 기대할 수 있다(2).

Ginsenoside는 홍삼을 찌는 과정 중 열처리에 의한 가수분해 반응 때문에 생성되는 것이며, 이는 홍삼의 높은 약리적인 효능을 가져온다(3). 홍삼 안의 ginsenoside 성분은 항산화(4), 항스트레스(5), 항암(6) 및 면역활성(7)을 가지고 있다. 홍삼은 한국 인삼 시장에서 가장 인기있는 제품으로, 한국의 인삼류 전체 시장에서 59%를 차지하고 소비가 매년 지속적으로 증가하고 있다(8).

중국산 인삼은 국내산 인삼에 비하여 상당히 낮은 가격으로 판매되므로, 위조식품의 판매는 인삼 재배 농민과 소매 상인뿐만 아니라 국내의 소비자들까지 심각한 문제가 되었다. 또한 저가의 중국산 인삼은 불법으로 고려인삼으로 위조되어 다른 나라를 순환하여 판매되는 등 또 다른 문제를 야기하고 있다(9).

이러한 위조식품의 판별을 위해 많은 노력이 이루어져 왔으나 홍삼농축액과 같이 열처리 과정을 여러 번 반복하여 성분의 변화가 예상되는 경우 매우 어려운 한계에 이르렀다.

중국산인 전칠삼은 고려인삼과 비교 했을 때 특정 사포닌에 편중되어 있거나 사포닌 조성이 모두 다르며, 또한 페놀화합물, polyacetylene, 산성다당체와 같은 비사포닌 성분들의 함량이나 조성비율에도 차이가 있다(10).

인삼이나 홍삼의 ginsenoside의 분석이 가능한 방법은 TLC (thin layer chromatography)법(11), HPLC (high performance liquid chromatography)법(12), CE (capillary electrophoresis)법(13), GLC (gas-liquid chromatography)법(14) 등이 있다.

TLC방법은 재현성 및 정확성이 떨어지고(15), HPLC 방법의 경우 검출할 수 있는 ginsenoside의 한계가 존재한다. 또한 GC의 경우 시료를 가수분해와 methylation시켜야 하고, protopanaxadiol과 protopanaxatriol만 분석할 수 있다(16).

현재 전처리의 다양한 방법과 컬럼, 검출기를 사용하여 효율적으로 분석을 하기 위한 연구가 진행되고 있고, 최근에는 LC-MS/MS (liquid chromatography-tandem mass chromatography)를 이용한 분석법이 개발되어지고 있는데 이것은 ginsenoside를 포함한 홍삼 농축액에서 정량화와 특성을 분석할 수 있는 가장 민감한 방법이다(17).

*Corresponding author: Bong Soo Noh, Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea
Tel: 82-2-970-5636
Fax: 82-2-970-5977
E-mail: bsnoh@swu.ac.kr
Received June 25, 2014; revised September 29, 2014;
accepted September 29, 2014

따라서 본 연구는 LC-MS/MS를 사용하여 시중에 판매되고 있는 국내산과 중국산 홍삼 농축액 안의 ginsenoside 함량을 분석하였다. 여기서 얻은 데이터를 통계분석함으로써 원산지 판별이 어려운 국내산과 중국산의 홍삼 농축액을 판별할 수 있는지를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

홍삼시료

본 실험에서는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부와 국립농산물 품질관리원에서 수집한 국내산 54종과 중국산 47종 시판 홍삼 농축액을 제공받아 사용하였다.

LC-MS/MS 분석

Ginsenosides F11, 25OH-Rg3, Rg1, Re, Rf, Rh1, Rg2, Rc, Rd, Rh2, Rb2, Rb1, Rg3, Rk1, Rg5, Compound K, Ra1, F2, Ro, F1, Rg6, F4, Rk3, Rh4 표준물질은 엠보 연구소(Daejeon,

Korea)에서 구매하였다. 질량분석기는 Agilent HPLC 1200 series (Agilent, Santa Clara, CA, USA)가 연결된 Q Trap 3200 (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA)을 사용하였으며 column은 YMC C18 Column (reversed-phased column, I.D. 4.6×150 mm, particle size 3 μm, Allentown, PA, USA)을 사용하였다. 이동상은 5 mM ammonium acetate/distilled water와 5 mM ammonium acetate/acetonitrile을 사용하였고 표준용액은 메탄올에 녹인 후 희석하여 사용하였다. 시료 주입방식은 infusion 방식을 사용하였으며(18), 각각의 성분에 대한 최적의 compound parameter를 선택하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복하였고, 실험 데이터는 통계처리 프로그램인 SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 20.0, Chicago, IL, USA)와 MATLAB (MathWorks, version 8.3, Natick, MA, USA)을 사용하여 정준 판별 함수 분석과 주성분 분석을 시행하였다.

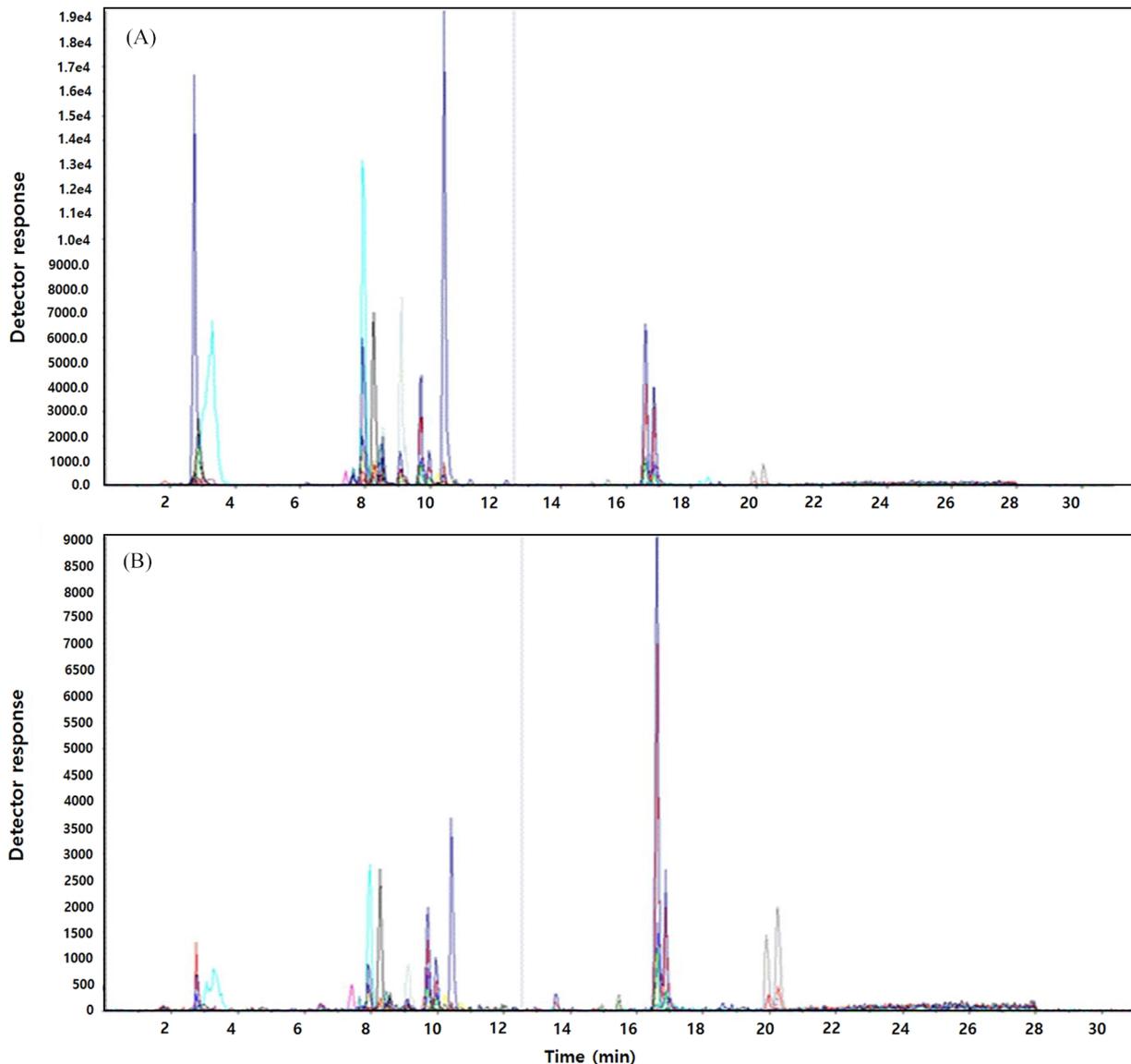


Fig. 1. Representative LC-MS/MS chromatograms of Chinese commercial red ginseng extract (A) and Korean commercial red ginseng extract (B).

Table 1. Ginsenoside contents of commercial red ginseng concentrate for domestic

(unit: mmol)

class	Ro	Ra1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg1	Rf	Re	Rg2	25OH-Rg3	Rg3	Rg5	Rg6	Rh1	Rh2	Rh4	Rk1	Rk3	F1	F2	F4	C-K
Domestic 1	5.0	3.8	15.0	11.4	13.9	2.7	4.9	2.1	2.8	7.1	0.2	5.2	8.7	0.5	1.4	0.0	3.3	4.9	1.5	1.2	0.0	2.2	0.0
Domestic 2	7.3	5.4	21.5	16.5	17.2	4.0	6.2	2.7	3.6	8.5	0.2	5.6	9.3	0.7	1.7	0.0	4.0	5.8	1.8	1.2	0.0	2.4	0.0
Domestic 3	5.0	4.6	19.3	12.0	16.1	3.5	4.9	2.6	3.2	8.5	0.2	5.8	10.2	1.0	1.7	0.0	2.9	5.3	1.7	1.0	0.0	2.4	0.0
Domestic 4	6.0	5.9	19.2	12.9	19.5	3.8	5.9	3.3	3.9	9.5	0.2	5.6	9.5	1.0	1.7	0.0	4.3	4.4	1.6	1.3	0.0	2.4	0.0
Domestic 5	10.2	6.5	24.5	14.4	22.8	4.3	7.1	4.4	4.3	12.3	0.3	9.4	12.1	1.2	2.4	0.0	6.2	8.3	2.1	1.5	0.0	3.6	0.0
Domestic 6	10.7	7.4	25.4	17.8	21.1	5.6	5.7	4.7	3.1	9.5	0.5	16.2	23.4	1.6	3.3	0.0	7.1	13.7	1.9	2.7	0.0	5.7	0.0
Domestic 7	6.1	2.2	12.9	7.9	11.6	2.8	2.9	2.9	1.3	6.6	0.5	11.9	17.8	0.9	1.9	0.0	6.5	10.6	2.8	1.5	0.0	3.6	0.0
Domestic 8	4.5	4.5	16.0	11.3	14.0	3.0	5.3	2.5	3.3	4.2	0.2	4.0	7.2	0.3	1.0	0.0	3.2	3.7	1.2	0.7	0.0	2.0	0.0
Domestic 9	8.2	5.6	23.2	14.9	20.6	3.9	5.6	3.9	3.6	11.0	0.5	10.9	19.2	1.3	1.8	0.0	5.9	10.2	1.5	1.5	0.0	4.1	0.0
Domestic 10	7.7	5.3	18.8	11.7	0.0	2.5	6.1	2.5	3.3	5.4	0.3	5.7	10.8	0.3	1.2	0.0	2.8	4.2	0.5	0.5	3.5	2.2	0.0
Domestic 11	12.2	6.8	26.7	13.4	19.8	3.8	8.8	3.6	5.0	5.0	0.4	8.1	15.5	0.6	1.7	0.0	3.2	7.7	0.4	0.9	0.0	2.0	0.0
Domestic 12	8.1	5.8	17.1	10.6	16.4	2.9	7.6	2.8	3.3	4.1	0.1	5.8	8.8	0.4	1.5	0.0	2.6	4.5	1.0	0.9	0.0	2.4	0.0
Domestic 13	7.5	4.9	21.0	10.4	14.9	2.9	7.8	2.5	3.7	4.8	0.2	6.1	9.2	0.6	1.6	0.0	2.2	5.5	0.4	0.7	0.0	1.0	0.0
Domestic 14	6.1	4.0	15.9	9.7	11.6	2.3	5.5	2.3	2.9	4.9	0.1	5.3	7.0	0.4	1.3	0.0	3.2	3.5	0.8	0.9	0.0	1.0	0.0
Domestic 15	0.3	0.1	0.9	0.3	0.5	0.1	0.3	0.2	0.0	0.5	0.3	0.9	2.3	0.0	0.2	0.0	0.3	1.2	0.0	0.1	0.0	0.4	0.0
Domestic 16	3.7	4.1	14.5	9.0	10.7	2.8	3.5	1.7	2.2	3.6	0.2	1.7	7.7	0.3	0.5	0.0	1.8	4.0	0.3	0.3	0.0	1.1	0.0
Domestic 17	3.6	4.7	16.2	7.1	13.0	1.5	6.8	1.9	4.1	2.7	0.1	2.2	3.0	0.4	0.5	0.0	0.9	1.6	0.3	0.2	0.0	1.0	0.0
Domestic 18	2.0	1.8	7.4	4.3	6.3	1.9	1.1	1.2	0.6	3.2	0.3	5.1	14.0	0.8	0.8	0.0	2.8	9.2	0.3	0.5	0.0	2.2	0.0
Domestic 19	3.3	5.7	17.8	14.5	19.0	5.6	4.4	2.4	3.2	9.3	0.3	8.2	13.6	1.0	1.4	0.0	3.7	7.7	0.6	0.9	0.4	4.2	0.0
Domestic 20	4.0	2.8	11.3	9.1	9.8	3.0	2.7	2.2	1.6	7.6	0.2	7.5	10.5	0.6	1.6	0.0	4.1	5.3	1.3	1.2	0.0	2.5	0.0
Domestic 21	3.3	2.5	10.1	5.5	8.0	2.6	2.9	2.1	1.3	6.6	0.2	6.6	9.0	0.5	1.7	0.0	2.4	4.9	1.3	0.8	0.0	2.9	0.0
Domestic 22	4.2	3.2	12.7	6.3	10.6	3.2	3.0	2.6	1.6	10.2	0.3	8.7	11.5	0.7	1.7	0.0	3.8	4.8	1.6	1.3	0.0	2.6	0.0
Domestic 23	8.5	7.6	25.8	15.9	23.3	6.7	8.1	3.2	5.5	9.7	0.5	18.5	25.9	1.2	1.8	0.0	7.1	13.9	2.2	1.2	0.0	5.2	0.0
Domestic 24	10.2	7.4	25.9	17.6	24.4	6.4	8.2	3.3	5.0	10.7	0.5	16.4	24.3	1.2	1.7	0.5	4.6	14.0	2.1	1.6	0.0	5.2	0.0
Domestic 25	9.3	8.9	29.0	19.0	23.1	6.4	9.3	3.3	5.5	12.9	0.6	18.0	25.6	1.7	1.7	0.0	6.9	13.8	2.0	1.4	0.0	5.3	0.0
Domestic 26	7.8	6.7	25.3	17.0	19.9	5.9	7.4	3.4	4.8	9.3	0.5	15.3	22.6	1.8	1.6	0.0	7.4	12.2	1.5	1.6	0.0	5.4	0.0
Domestic 27	5.3	3.3	15.0	6.4	10.3	2.2	6.6	1.8	3.0	3.4	0.2	2.8	4.4	0.1	0.7	0.0	0.9	2.2	0.1	0.5	0.0	1.0	0.0
Domestic 28	3.5	2.6	13.3	5.4	8.8	2.0	5.5	1.2	2.5	1.4	0.0	1.9	4.3	0.3	0.5	0.0	0.8	1.5	0.0	0.2	0.0	0.7	0.0
Domestic 29	4.8	3.8	15.4	7.7	9.9	2.4	6.8	1.8	3.4	3.7	0.2	2.1	4.3	0.3	1.2	0.0	2.2	2.1	1.2	0.6	0.0	1.2	0.0
Domestic 30	3.2	2.1	7.1	4.5	6.1	2.4	0.7	1.2	0.4	2.3	0.3	7.2	17.1	0.5	0.5	0.0	1.9	7.2	1.0	0.5	0.0	2.8	0.0
Domestic 31	4.8	2.2	7.3	6.0	8.0	3.0	1.3	2.0	0.4	5.4	0.5	8.9	22.6	0.9	1.2	0.0	3.9	11.2	1.4	0.6	0.0	3.2	0.0
Domestic 32	4.4	2.7	11.6	5.9	8.3	1.6	5.2	1.4	2.8	2.1	0.1	2.0	3.0	0.0	0.5	0.0	0.6	1.6	0.2	0.3	0.0	0.7	0.0
Domestic 33	4.2	2.7	13.0	7.0	8.6	2.3	5.7	1.6	2.6	2.3	0.1	2.4	3.5	0.0	0.4	0.0	1.1	1.8	0.1	0.2	0.0	0.8	0.0
Domestic 34	3.4	2.0	7.6	4.3	7.1	3.0	0.8	1.7	0.4	4.4	0.7	8.0	19.7	0.7	1.4	0.0	2.3	9.3	1.0	1.0	0.0	3.2	0.0
Domestic 35	5.6	6.0	23.2	12.3	18.8	4.1	7.3	2.6	4.2	4.2	0.2	6.2	6.5	0.4	1.3	0.0	1.6	4.0	0.3	0.8	0.0	1.5	0.0
Domestic 36	6.5	5.3	24.2	13.6	18.1	3.3	7.3	2.6	4.5	3.9	0.3	4.1	4.5	0.7	0.7	0.0	1.0	2.9	0.4	0.6	0.0	1.4	0.0
Domestic 37	13.4	9.7	46.5	25.2	32.4	5.2	16.6	5.1	8.7	9.1	0.4	6.0	8.9	0.6	2.0	0.0	1.9	4.8	0.9	1.0	0.0	3.0	0.0
Domestic 38	16.0	7.9	41.3	17.3	27.8	5.3	14.3	5.2	7.3	4.1	0.5	7.7	11.3	0.6	2.4	0.0	5.3	5.6	0.3	1.5	0.0	1.6	0.0
Domestic 39	11.4	9.1	35.7	18.2	29.9	5.1	12.2	4.2	7.0	3.6	0.5	5.7	7.7	0.8	2.4	0.0	1.1	4.3	0.4	1.6	0.0	2.0	0.0
Domestic 40	24.1	13.4	61.0	27.9	44.4	8.7	22.7	8.1	11.8	14.9	0.7	11.4	17.5	1.9	3.6	0.0	4.2	7.2	3.2	2.1	0.0	3.2	0.0
Domestic 41	15.0	15.1	54.5	29.0	38.6	7.5	20.7	5.8	10.0	9.8	0.4	7.8	10.1	1.2	2.5	0.0	3.4	4.7	1.3	1.2	0.0	3.2	0.0
Domestic 42	15.0	11.2	49.8	27.3	36.3	6.7	18.5	6.0	8.7	10.0	0.4	8.6	11.3	0.2	2.8	0.0	0.9	5.2	0.3	2.0	0.0	5.0	0.0
Domestic 43	6.3	4.6	22.6	11.4	12.6	2.6	7.6	2.1	4.7	2.9	0.2	1.7	4.0	0.1	0.7	0.0	0.0	1.7	0.1	0.2	0.0	0.3	0.0
Domestic 44	13.8	11.1	49.0	30.2	33.6	6.9	14.5	6.0	8.2	5.7	0.6	10.4	11.8	0.8	3.3	0.0	4.3	7.5	1.1	1.8	0.0	3.6	0.0
Domestic 45	14.1	11.0	44.4	25.3	31.1	6.6	15.3	5.1	8.1	5.6	0.6	8.5	11.2	1.5	3.6	0.0	6.6	5.8	1.8	2.5	0.0	1.7	0.0
Domestic 46	16.1	11.0	47.9	28.8	38.0	6.4	19.4	6.8	9.8	14.3	0.4	7.5	7.1	1.1	3.2	0.0	4.5	4.6	0.6	1.7	0.0	2.7	0.0
Domestic 47	12.9	11.6	45.6	26.5	34.3	7.4	13.2	4.7	7.2	13.9	0.5	11.1	16.5	1.2	2.7	0.0	6.6	8.1	1.3	1.8	0.0	5.5	0.0
Domestic 48	25.4	13.7	60.0	39.4	47.9	11.1	15.8	9.6	10.0	42.6	0.8	24.1	29.1	2.8	9.4	0.0	14.4	15.2	5.3	8.4	0.0	9.8	0.0
Domestic 49	17.8	15.8	55.6	34.7	42.0	8.4	19.2	6.4	10.1	13.3	0.4	7.8	10.0	1.1	3.4	0.0	5.5	5.2	1.9	1.7	0.0	4.3	0.0
Domestic 50	16.3	11.5	52.8	21.6	36.3	5.0	20.0	6.1	10.9	10.0	0.3	7.5	10.6	0.4	2.0	0.0	3.8	4.5	0.5	1.3	0.0	2.8	0.0
Domestic 51	20.2	14.5	69.7	39.0	50.8	9.4	21.6	7.6	12.1	5.8	0.4	11.3	14.5	1.2	3.9	0.0	6.4	10.1	2.2	2.2	0.0	5.3	0.0
Domestic 52	16.3	10.8	44.4	25.1	34.5	5.8	21.2	5.7	10.7	3.4	0.3	7.5	8.1	1.0	2.3	0.0	4.1	3.9	1.7	1.0	0.0	2.2	0.0
Domestic 53	8.5	8.1	36.3	20.5	26.4	5.2	10.9	3.3	6.8	7.2	0.1	3.7	7.1	0.6	1.5	0.0	0.0	3.6	0.4	0.8	0.0	2.8	0.0
Domestic 54	7.4	6.3	26.6	12.9	17.3	3.0	8.5	2.7	4.8	4.2	0.4	2.8	5.9	0.7	1.1	0.0	0.0	3.8	0.7	0.8	0.0	1.9	0.0

Table 2. Ginsenoside contents of commercial red ginseng concentrate for Chinese

(unit: mmol)

class	Ro	Ra1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg1	Rf	Re	Rg2	25OH-Rg3	Rg3	Rg5	Rg6	Rh1	Rh2	Rh4	Rk1	Rk3	F1	F2	F4	C-K
Chinese 1	16.6	0.6	2.0	1.4	2.1	1.9	0.2	2.3	0.0	11.6	1.4	23.7	55.1	2.2	5.2	0.5	22.9	28.2	8.9	4.4	0.0	7.9	0.0
Chinese 2	13.6	0.4	2.1	1.6	2.1	1.7	0.0	2.1	0.0	10.6	1.0	24.2	45.0	2.1	3.6	1.1	16.6	27.3	5.2	3.8	0.0	8.4	0.0
Chinese 3	14.7	0.4	2.2	1.2	2.8	1.7	0.2	2.1	0.0	13.0	1.1	23.7	54.4	2.2	4.3	0.0	16.8	26.5	6.2	4.6	0.0	7.4	0.0
Chinese 4	14.2	0.2	2.3	2.5	2.3	1.7	0.4	2.1	0.1	9.2	1.1	22.2	47.0	1.2	3.5	0.0	16.9	23.0	5.6	3.1	0.0	7.7	0.0
Chinese 5	1.8	0.0	0.3	1.9	1.5	0.0	45.2	0.1	1.8	12.4	0.0	21.4	23.7	1.6	5.1	0.0	5.0	16.2	2.7	3.5	8.3	1.5	1.0
Chinese 6	2.3	0.0	0.2	2.5	0.5	0.0	53.8	0.0	2.4	16.1	0.0	26.2	29.3	1.7	6.8	0.0	4.7	15.2	4.4	4.9	12.1	2.5	1.3
Chinese 7	2.8	0.0	0.6	2.6	1.3	0.1	52.4	0.3	2.9	17.4	0.0	28.7	32.9	2.0	8.8	0.0	9.2	24.8	5.5	5.1	12.7	3.1	1.4
Chinese 8	2.0	0.0	0.0	1.9	1.0	0.0	42.4	0.0	2.2	12.3	0.0	21.6	23.6	1.4	7.0	0.0	6.4	19.6	4.1	4.0	8.5	1.7	1.1
Chinese 9	2.5	0.0	0.8	2.3	1.5	0.0	51.4	0.3	2.3	15.4	0.0	26.8	31.9	2.0	8.2	0.0	7.3	23.0	4.1	4.4	10.4	2.5	1.2
Chinese 10	5.4	0.0	11.3	40.3	35.1	7.4	7.7	12.9	48.1	46.0	0.3	8.1	4.1	17.9	2.9	1.2	2.4	3.5	1.3	2.6	12.7	1.3	0.2
Chinese 11	4.9	0.0	11.3	0.0	30.7	7.0	6.9	12.3	44.7	41.7	0.0	7.0	4.5	14.7	2.4	0.0	1.1	3.8	1.2	1.9	11.2	1.2	0.2
Chinese 12	4.7	0.0	8.1	31.7	31.9	6.2	6.7	10.0	39.9	37.4	0.0	6.5	3.9	14.2	3.0	0.0	1.9	3.1	1.1	1.7	9.8	0.7	0.1
Chinese 13	5.0	0.0	8.0	37.7	33.9	6.6	7.5	10.9	45.6	39.9	0.0	7.9	4.7	14.9	3.3	0.0	1.7	5.2	1.3	2.2	10.8	0.9	0.1
Chinese 14	4.3	0.0	9.1	33.3	29.6	6.8	6.5	9.7	36.3	37.7	0.0	6.9	3.6	14.0	1.4	0.0	2.1	2.8	1.2	1.8	9.2	0.9	0.2
Chinese 15	4.7	0.0	9.6	33.0	26.1	6.6	6.3	9.5	38.1	39.6	0.0	7.3	4.0	14.7	2.7	0.0	1.4	2.8	1.1	1.8	9.7	1.1	0.0
Chinese 16	4.5	0.0	10.0	35.4	29.4	0.0	6.0	10.5	39.5	37.5	0.0	6.9	3.7	14.9	3.2	0.0	1.5	3.3	1.0	1.9	10.5	0.8	0.0
Chinese 17	4.6	0.0	8.6	33.4	32.4	6.2	8.1	11.5	41.0	0.0	0.0	7.7	3.7	15.4	2.9	0.0	1.8	4.6	1.2	2.2	10.3	0.9	0.0
Chinese 18	5.0	0.0	7.8	36.9	28.6	6.7	7.9	10.6	45.4	38.8	0.0	7.6	4.2	14.9	3.2	0.0	1.3	3.4	1.1	1.8	10.9	1.2	0.0
Chinese 19	4.4	0.0	8.5	35.3	27.9	6.5	6.8	10.9	45.7	36.5	0.0	8.0	4.8	14.0	3.5	0.0	1.7	3.6	0.8	1.6	10.1	0.8	0.0
Chinese 20	4.5	0.0	7.6	34.8	25.7	6.3	6.2	9.7	39.0	37.3	0.0	7.3	3.7	13.4	2.5	0.0	1.5	3.4	0.8	1.5	9.6	0.6	0.0
Chinese 21	5.0	0.0	8.6	37.4	31.2	6.8	6.6	12.0	40.7	43.5	0.0	7.6	4.7	15.7	1.9	0.0	1.6	3.1	0.8	2.0	11.0	0.7	0.0
Chinese 22	5.4	0.0	11.2	42.2	37.2	7.5	9.1	11.9	43.3	45.0	0.0	9.7	5.4	16.2	3.1	0.0	1.2	4.1	1.4	2.4	13.0	1.2	0.0
Chinese 23	5.1	0.0	9.7	38.2	27.3	6.8	8.0	11.3	44.8	44.2	0.0	8.6	4.3	17.1	3.4	0.0	2.2	5.9	1.2	1.9	12.1	1.2	0.0
Chinese 24	4.9	0.0	9.3	36.9	29.0	6.6	6.3	10.9	40.0	41.4	0.0	8.4	4.2	15.3	3.6	0.0	1.7	3.2	1.3	1.8	11.1	0.7	0.0
Chinese 25	4.3	0.0	7.3	29.8	27.6	5.8	6.6	10.0	33.8	35.8	0.0	7.8	4.6	13.8	2.6	0.0	1.6	2.9	1.2	2.0	10.0	0.8	0.1
Chinese 26	4.8	0.0	8.2	37.8	31.6	6.4	8.2	12.4	40.9	40.2	0.0	8.2	4.5	15.9	3.9	0.0	0.8	2.6	1.2	2.1	9.8	1.2	0.0
Chinese 27	4.3	0.0	7.1	34.4	24.5	6.4	6.1	10.4	37.6	35.8	0.0	6.7	4.1	14.2	2.4	0.0	1.5	1.9	0.9	1.6	8.7	0.9	0.0
Chinese 28	4.8	0.0	9.2	38.9	35.4	7.1	6.2	10.8	43.5	40.8	0.0	7.8	3.9	15.2	3.6	0.0	1.5	3.7	1.0	1.7	12.9	1.2	0.0
Chinese 29	5.3	0.0	8.6	36.9	35.5	6.9	7.1	11.7	45.2	43.1	0.0	8.3	4.2	15.8	4.0	0.0	1.7	5.1	1.0	2.1	12.4	0.9	0.1
Chinese 30	1.9	0.0	0.9	6.0	3.5	0.9	12.3	1.9	5.6	13.7	0.0	9.2	7.2	2.6	2.6	0.0	2.1	2.4	1.0	1.4	5.5	0.5	0.3
Chinese 31	2.0	0.0	3.0	13.3	9.9	3.3	2.7	7.4	13.2	9.3	0.0	3.0	2.3	5.5	0.7	0.0	0.8	2.1	0.8	1.0	4.3	0.3	0.1
Chinese 32	4.6	0.0	9.8	35.5	31.9	6.4	6.3	10.1	39.7	40.4	0.0	7.3	3.9	14.5	3.2	0.0	1.3	2.7	0.8	1.9	12.4	0.9	0.0
Chinese 33	5.3	0.0	9.3	37.9	37.0	7.4	7.9	11.6	48.3	44.7	0.0	8.4	4.6	15.6	3.9	0.0	0.9	4.9	1.2	1.7	11.8	0.9	0.0
Chinese 34	3.4	0.0	3.7	22.9	14.4	5.1	7.6	12.1	21.3	16.8	0.0	5.8	4.5	8.4	2.0	0.0	1.2	3.4	1.4	2.2	9.1	0.6	0.1
Chinese 35	1.9	0.0	2.3	15.3	12.0	3.8	3.4	8.0	15.5	9.6	0.0	2.3	2.2	5.2	1.1	0.0	0.4	1.1	0.8	1.0	3.4	0.4	0.1
Chinese 36	2.3	0.0	2.8	16.5	11.9	4.3	4.3	9.5	20.1	11.8	0.0	3.3	2.2	6.6	1.7	0.0	0.8	1.4	0.8	1.5	5.0	0.4	0.0
Chinese 37	1.8	0.0	1.3	7.0	5.5	0.9	14.8	1.4	6.9	13.1	0.0	9.5	7.6	3.8	2.2	0.9	2.2	6.6	1.0	2.1	8.1	0.8	0.4
Chinese 38	4.8	0.0	8.8	36.5	29.4	6.2	5.9	10.3	43.4	41.0	0.0	6.3	3.6	14.1	3.6	0.5	1.2	2.3	1.2	1.8	11.8	0.5	0.0
Chinese 39	1.7	0.0	0.8	6.0	3.6	0.9	11.6	1.8	5.0	12.7	0.0	8.3	6.8	2.9	2.1	0.5	2.4	4.0	1.0	1.4	6.5	0.7	0.4
Chinese 40	4.2	0.0	8.0	32.8	30.8	5.8	5.4	9.9	34.3	35.0	0.0	6.4	2.9	14.0	3.8	0.5	1.5	3.9	0.9	1.4	9.4	0.8	0.0
Chinese 41	4.2	0.0	8.6	38.7	34.4	6.8	6.0	10.9	38.8	37.8	0.0	6.9	2.7	14.7	3.0	0.0	1.7	4.0	1.2	1.8	11.0	0.8	0.0
Chinese 42	5.0	0.0	10.3	38.7	29.0	7.4	6.4	9.8	39.1	41.0	0.0	7.4	4.2	15.5	3.4	0.0	0.9	5.6	0.8	2.2	11.4	0.9	0.1
Chinese 43	1.9	0.0	2.7	14.5	8.1	3.5	2.9	8.4	12.6	9.2	0.0	2.3	1.7	4.7	0.7	0.0	0.3	0.0	0.5	1.1	3.8	0.1	0.1
Chinese 44	5.0	0.0	8.9	37.2	31.7	6.8	7.5	10.4	43.4	39.7	0.0	7.7	4.1	15.9	2.9	0.0	2.1	3.4	0.9	2.1	12.6	1.1	0.1
Chinese 45	7.0	0.0	14.3	42.0	38.9	5.9	41.7	7.9	54.1	26.5	0.0	29.2	22.3	25.9	13.5	0.0	4.3	15.4	2.2	4.7	31.2	4.2	0.5
Chinese 46	12.2	0.0	25.3	93.4	84.4	11.0	64.1	11.8	112.2	60.6	0.0	56.6	45.0	62.1	24.6	0.0	8.5	18.5	5.0	7.8	61.6	8.2	0.8
Chinese 47	2.3	0.0	2.5	15.4	8.1	3.8	3.3	8.0	13.6	8.4	0.0	2.2	2.2	5.5	0.9	0.0	0.4	0.8	0.3	1.0	3.7	0.1	0.1

결과 및 고찰

국내산과 중국산 시판 홍삼 농축액의 LC-MS/MS 결과

중국산과 국내산의 홍삼 농축액이 원산지에 따라 ginsenoside 함유량이 얼마나 차이 나는지 흰눈에 보기 위하여 대표적인 중국산과 국내산의 홍삼 농축액 LC-MS/MS data를 Fig. 1으로 나타

내었다. 그 결과 원산지가 다른 두 가지의 홍삼 농축액에서 ginsenoside의 peak가 다르게 나타나는 것을 뚜렷하게 확인할 수 있었다.

원산지에 따른 홍삼 농축액의 ginsenoside 함량의 차이를 알아 보기 위하여 시중에 판매되고 있는 국내산 홍삼 농축액 54종과 중국산 홍삼 농축액 47종을 LC-MS/MS로 분석하였다. 그 결과

Table 3. Posterior probability of canonical discriminant function by LC-MS/MS for domestic and Chinese commercial red ginseng concentrates

Origin	Posterior Probability	
	Korea	China
Korea	1.00 (4)	
	0.99 (11)	
	0.98 (3)	
	0.97 (2)	
	0.96 (1)	
	0.95 (5)	
	0.94 (3)	
	0.93 (3)	
	0.92 (1)	
	0.91 (1)	
	0.90 (2)	
	0.87 (2)	
	0.85 (2)	
	0.84 (1)	
	0.80 (1)	
	0.70 (1)	
	0.69 (1)	
	0.63 (2)	
	0.61 (1)	
0.41 (1)		
0.13 (1)		
0.04 (1)		
China	1.00 (46)	0.66 (1)

() denotes the number of samples showing the corresponding probability

국내산 홍삼 농축액과 중국산 홍삼 농축액 간의 ginsenoside 함량에 차이가 나타났다(Table 1, 2).

Ginsenoside Ra1, ginsenoside Rb1, ginsenoside Rg2, ginsenoside Re 등은 국내산 홍삼 농축액과 중국산 홍삼 농축액의 값의 차이가 매우 크게 나타났고, 국내산 홍삼 농축액에서는 ginsenoside F2가 거의 대부분 검출되지 않은 반면에 중국산 홍삼 농축액의 경우에는 ginsenoside F2가 검출되었고, ginsenoside Rh2의 경우에도 ginsenoside F2와 같은 결과 값을 나타내었다. 이는 홍삼 농축액 제조 과정에서 생성된 것으로, ginsenoside F2와 Rh2는 국내산과 중국산의 원산지 판별에 있어서 강력한 지표역할을 하는 것을 볼 수 있었다.

위의 결과를 토대로 LC-MS/MS data를 분석하여 국내산 시판 홍삼 농축액에서 중국산이 혼합되었다고 생각되는 시료를 4가지 선별해내었다.

국내산 10 시료의 경우 국내산에서는 검출되지 않는 ginsenoside F2가 3.488 mmol 존재하였고, 국내산 15는 ginsenoside Ra1과 ginsenoside Rb1의 값이 국내산의 평균값에 월등하게 미치지 못하는 것을 확인할 수 있었다. 국내산 19 시료 역시 국내산에서 검출되지 않는 ginsenoside F2가 0.412 mmol 존재함을 볼 수 있었으며, 국내산 24 시료는 국내산에서 검출되지 않는 ginsenoside Rh2가 0.467 mmol만큼 존재하는 것을 확인할 수 있었다.

따라서 위의 국내산 10, 15, 19, 24의 4개 시료를 미지의 시료 1, 2, 3, 4로 선정하였다.

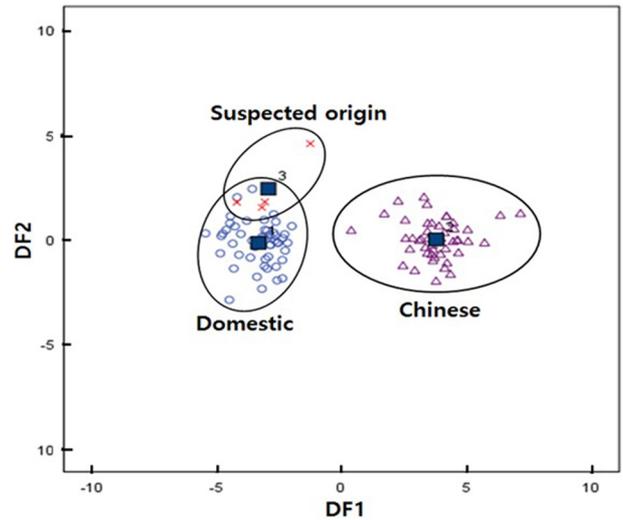


Fig. 2. Canonical discriminant analysis of the pattern obtained by LC-MS/MS of three grouped Korea, China and suspected origin commercial red ginseng extract separately. Round shape is domestic, triangular shape is Chinese, X shape is suspected origin sample.

일부 연구에서는 인삼의 ginsenoside를 분석하기 위하여 여러 가지의 HPLC 방법이 수행되었으며, 이러한 방법으로 분리, 확인한 인삼의 ginsenoside는 원산지를 판별하는데 사용되어왔다.

국내산과 중국산 시판 홍삼 농축액의 정준 판별 함수 분석 결과

본 실험에서 국내산 시판 홍삼 농축액과 중국산 시판 홍삼 농축액의 LC-MS/MS를 통하여 얻어진 data를 토대로 판별함수분석을 시행하였다.

그 결과(Table 3) 국내산 시판 홍삼 농축액을 국내산 시판 홍삼 농축액으로 판별한 확률이 1.00인 경우가 4개, 0.99인 경우가 11개, 0.98인 경우가 3개 등 총 50개의 시료 중에 47개로 90% 이상의 확률이 36개, 80% 이상의 확률이 6개, 80% 미만의 확률이 총 5개로 나타났다. 반면 국내산 시판 홍삼 농축액을 원산지가 의심된다고 생각되는 시료로 판별한 경우는 3가지가 나타났다.

또한 중국산 시판 홍삼 농축액을 중국산 시판 홍삼 농축액이라고 판별할 확률은 1.00이 46개, 0.66인 경우가 1개로 총 47개의 시료 중 47개로 판별되었다.

Fig. 2는 위에서 얻은 data를 2차원의 그래프로 나타낸 것으로, x축에는 DF1, y축에는 DF2로 나타내었다. 원산지에 따른 홍삼 농축액의 위치를 보면 국내산 시판 홍삼 농축액은 DF1의 왼쪽 방향으로 모여있는 것을 확인할 수 있었으며 집단 중심점은 DF1의 F값 -3.328, DF2의 F값 -0.182이었다. 반면에 중국산 시판 홍삼 농축액은 DF2의 오른쪽 방향으로 위치하고 있는 것을 확인할 수 있었으며, 집단 중심점은 DF1의 F값 3.790, DF2의 F값 -0.011이었다. 원산지가 의심되는 미지의 시료는 국내산 시판 홍삼 농축액의 위치보다는 DF2의 위쪽 방향으로 위치하는 것을 볼 수 있었으며, 집단 중심점은 DF1의 F값 -2.928, DF2의 F값 2.405이었다.

국내산과 중국산 시판 홍삼 농축액의 집단 중심점은 DF1의 방향으로 확연하게 분리되는 것을 확인할 수 있었으며, 미지의 시료의 집단 중심점은 국내산 홍삼 농축액의 집단 중심점과 가까웠지만 DF2 방향으로 분리되는 것을 확인할 수 있었다. 이때, 국내산 시판 홍삼 농축액 중 미지의 시료의 집단 중심점과 가까운

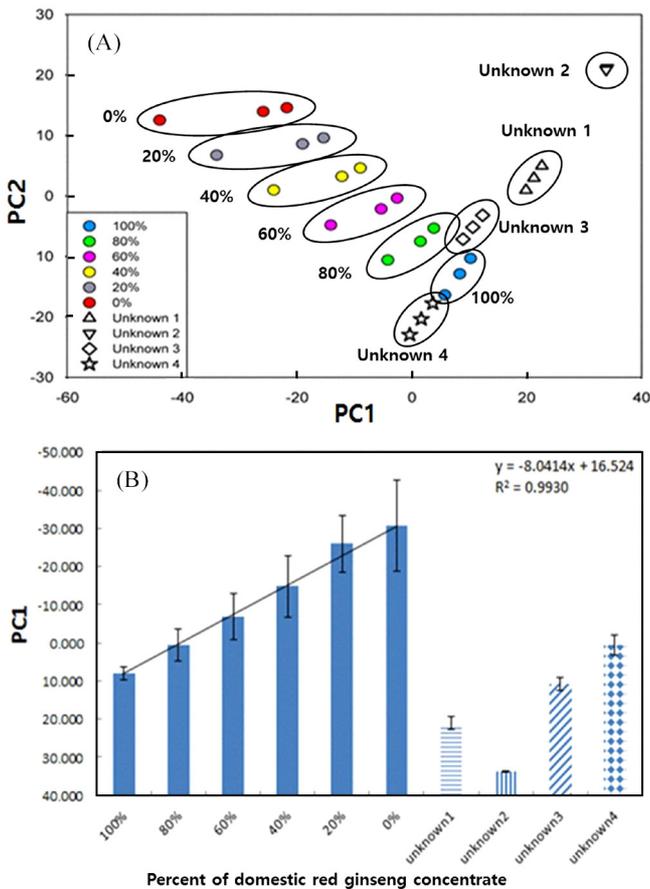


Fig. 3. Principal component analysis of the obtained data from LC-MS/MS data for mixing ratio of different geographical origin of commercial red ginseng extracts (A). The relationship between DF1 of Fig. 3(A) and mixing ration of different geographical origin of red ginseng extracts (B).

3가지의 시료는 원산지가 의심된다고 판별되었음을 Fig. 2로 확인할 수 있었다.

혼합 비율에 따른 의심시료의 주성분 분석 결과

의심시료의 혼합 비율을 판별하기 위해서 LC-MS/MS 데이터를 국내산과 중국산의 ginsenoside 함량을 각각 평균을 내어 각 혼합 비율대로 0에서 100%까지 20%의 비율로 섞어주었다. 이때, 혼합비율은 국내산과 중국산이 각각 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, 0:10으로 섞인 것이다. 지난 연구에서 Kim (19) 등은 전자코를 사용하여 직접 제조한 중국산과 국내산 홍삼농축액의 혼합비를 사용하여 국내산과 중국산이 얼마나 혼합되었는지 판별하는 연구를 시행한 바 있다. 본 연구에서는 원산지가 분명한 직접 제조 홍삼 농축액이 아닌 시중에 판매되고 있는 홍삼 농축액으로 실험을 진행하였다.

따라서 위의 data를 주성분 분석 통계처리를 통하여 의심시료의 혼합비율을 알아내고자 하였다. Fig. 3(a)는 위의 data를 토대로 의심시료와 주성분 분석을 한 결과이다. Fig 3(b)를 보면 중국산 시료의 %가 높아질수록 제 1주성분의 값이 일정하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 따라서 제 1 주성분의 값으로 추세선을 그려봄으로써 의심시료가 얼마나 혼합되었는지를 판별할 수 있었는데, 혼합비율에 따른 반응식 $PC1 = -8.0414X(\text{국내산 홍삼 농축액의 \% 농도}) + 16.524$ 로 나타났으며 상관계수(r^2)는 0.9930으

로 1에 근접하여 높은 정확도를 나타내었다. 미지의 시료 4가 0-20% 사이에 제 1 주성분 값이 위치하는 것으로 보여졌다. 이 관계식을 이용하여 계산한 결과 중국산 홍삼농축액의 혼합비율이 약 12%로 나타났다. 따라서 미지의 시료 4이 중국산이 12% 정도 섞인 원산지 혼합 의심 시료라고 여겨진다. 반면 미지의 시료 1, 2, 3은 제 1 주성분 값이 국내산 100%의 값보다 크게 나타났으므로 국내산이라고 여겨진다.

지표물질로 생각한 ginsenoside의 F2와 Rh2등의 성분에 의하여 구분이 가능한 것으로 판단하였으나 통계 분석에서는 국내산 시료 중에서 중국산이 일부 혼입된 것으로 판단되는 시료가 존재하거나 지표물질로 구분한 성분들 중에서도 의심시료가 아닌 국내산으로 판별되는 시료가 있었다. 향후 이에 대한 추가 반복 실험을 통하여 이에 대한 검증을 지속해야 할 것이다.

선행 연구에서의 ginsenoside 분석 결과 Rg, Re, Ro, Rb, Rc, Rb, Rd는 동양삼과 미국삼에 모두 존재하였지만 각각 다른 비율로 존재하였다. 또한, Rf는 오직 동양 인삼에서만 발견 되었으며(20), 미국삼에서는 F₁₁이 발견되었지만 동양삼에서는 발견되지 않았다고 밝혀졌다(21). 동양삼과 미국삼에 대하여 ginsenoside의 분석으로 원산지 판별을 수행한 연구는 많지만 동양삼 내에서 국내산과 중국산을 구분하기 위하여 ginsenoside를 분석한 연구는 부족한 실정이다. 또한 LC로 ginsenoside를 분석하여 함량의 유무나 양의 차이를 비교한 연구는 많았으나, 이러한 data로 통계 분석 처리한 연구는 미미한 실정이다.

본 실험에서 사용된 시료는 모두 시중에서 판매되고 있는 국내산 홍삼 농축액과 중국산 홍삼 농축액이었다. 그러나 LC-MS/MS 분석 data를 토대로 통계분석을 시행한 결과 국내산 홍삼 농축액에서 원산지가 의심되는 홍삼 농축액이 있을 것이라고 판단 된다. 이러한 결과를 볼 때, 한가지 분석방법으로 판정하기 보다는 전자코나 NIR이나 기타 다양한 분석기기를 통하여 원산지 판별을 상호 보정 한다면 열처리 과정이 많이 이루어지는 시료의 원산지 판별이 어려운 홍삼 농축액에 대한 좀 더 정확한 실험결과를 얻을 수 있을 것이라고 사료된다.

요 약

국내산과 중국산 시판 홍삼 농축액의 원산지 판별을 위하여 LC-MS/MS의 data를 통계 처리해 보았다. 국내산 시판 홍삼 농축액과 중국산 시판 홍삼 농축액은 LC-MS/MS의 ginsenoside 함량 비교 결과 특정 ginsenoside에서 함량 차이를 크게 보여주었고, 이를 토대로 의심시료를 선정할 수 있었다. 또한, LC-MS/MS data를 정준 판별 분석과 주성분 분석을 통하여 원산지가 의심되는 시료를 검출할 수 있었고, 그 혼합 비율까지 추정할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008395022013)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사 드립니다.

References

- Attele AS, Wu JA, Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* 58: 1685-1693 (1999)
- Jung BY. Microencapsulation of Korean red ginseng extract and the storage stability of the microcapsules. MS thesis. Sejong Univ., Seoul, Korea (2010)

3. Park CK, Jeon BS, Yang JW. The chemical components of Korean ginseng. *Food Ind. Nutr.* 8: 10-23 (2003)
4. Bae HM, Kim SS, Cho CW, Yang DC, Ko SK, Kim KT. Antioxidant activities of ginseng seeds treated by autoclaving. *J. Ginseng Res.* 36: 411-417 (2012)
5. Kim CS, JO YJ, Park SH, Kim HJ, Han JY, Hong JT, Cheong JH, Oh KW. Anti-stress effects of ginsenoside Rg3-standardized ginseng extract in restraint stressed animals. *Biomol. Ther.* 18: 219-225 (2010)
6. Lee MJ, Kim EH, Rhee DK. Effects of *Panax ginseng* on stress. *J. Ginseng Res.* 32: 8-14 (2008)
7. Quan FS, Compans RW, Cho YK, Kang SM. Ginseng and *Salviae* herbs play a role as immune activators and modulate immune responses during influenza virus infection. *Vaccine* 25: 272-282 (2007)
8. Baeg IH, So SH, The world ginseng market and the ginseng (Korea). *J. Ginseng Res.* 37: 1-7 (2013)
9. Lee SG. Sensory and chemical analyses of characteristic aromas of ginseng and development of an electronic nose method for the discrimination of red ginseng origin. PhD thesis, Seoul National Univ., Seoul, Korea (2001)
10. Korea Ginseng Tobacco Research Institute. Korean Ginseng. Daejeon, Korea. p. 103 (1994)
11. Oura H, Hiai S, Odaka Y, Yokozawa T. Studies on the biochemical action of ginseng saponin: I. purification from ginseng extract of the active component stimulating serum protein biosynthesis. *J. Biochem.* 77: 1057-1065 (1975)
12. Zhu S, Zou K, Cai S, Meselhy MR, Komatsu K. Simultaneous determination of triterpene saponins in ginseng drugs by high-performance liquid chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* 52: 995-998 (2004)
13. Ligor T, Ludwiczuk A, Wolski T, Buszewski B. Isolation and determination of ginsenosides in *American ginseng* leaves and root extracts by LC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 383: 1098-1105 (2005)
14. Sticher O, Soldati F. HPLC separation and quantitative determination of ginsenosides from *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and from ginseng drug preparations. *Planta Med.* 39: 348-357 (1980)
15. Fuzzati, N. Analysis methods of ginsenosides. *J. Chromatogr. B* 812: 119-133 (2004)
16. Cui J. F, Garle M, Björkhem I, Eneroth P. Determination of aglycones of ginsenosides in ginseng preparations sold in Sweden and in urine samples from Swedish athletes consuming ginseng. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.* 56: 151-160 (1996)
17. Chen W, Dang Y, Zhu C. Simultaneous determination of three major bioactive saponins of *Panax notoginseng* using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and a pharmacokinetic study. *Chin Med.* 5: 12 (2010)
18. Han HJ, Park SW, Dong HM, Moon JY, Kim HJ, Bang KH, Choi JY, Noh BS. Discrimination of the origin of commercial red ginseng concentrates using LC-MS/MS and electronic nose analysis based on a mass spectrometer. *Korean J. Food Sci. Technol.* in press
19. Kim KH, Dong HM, Han HJ, Lee YH, Moon JY, Bang KH, Noh BS. Analysis of geographical origin of red ginseng extract using mass spectrometer-based electronic nose. *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 652-656 (2013)
20. Chuang WC, Wu HK, Sheu SJ, Chiou SH, Chang HC, Chen YP. A comparative study on commercial samples of ginseng radix. *Planta Med.* 61: 459-465 (1995)
21. Chen SE, Staba EJ, Taniyasu S, Kasai R, Tanaka O. Further study on dammarane-saponins of leaves and stems of American ginseng, *Panax quinquefolium*. *Planta Med.* 42: 406-411 (1981)