

발효처리가 인삼잎의 진세노사이드 및 페놀산 조성 변화와 생리활성에 미치는 영향

이가순^{1*} · 성봉재¹ · 김관후¹ · 김선익¹ · 한승호¹ · 김현호¹ · 백남두²

¹충남농업기술원 금산인삼약초시험장

²(주)보문피엔에프

Ginsenoside, Phenolic Acid Composition and Physiological Significances of Fermented Ginseng Leaf

Ka-Soon Lee^{1*}, Bong-Jae Seong¹, Gwan-Hou Kim¹, Sun-Ick Kim¹,
Seung-Ho Han¹, Hyun-Ho Kim¹, and Nam-Doo Baik²

¹Geumsan Ginseng & Medicinal Crop Experiment Station, CNARES, Chungnam 312-804, Korea

²Bomun Pharmacy & Food Co., Ltd., Chungnam 312-940, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the compositional changes of ginsenosides and phenolic acids of ginseng leaf by fermentation in order to promote the utilization of ginseng leaf. The chief ginsenosides in non-fermented ginseng leaf (NFGL) were ginsenoside-Rg1 (26.0 mg/g), -Re (47.3 mg/g) and -Rd (23.9 mg/g). By fermentation, ginsenoside-Rg1, -Rb1, -Rb2, -Rb3, -Rc and -Re were decreased tremendously and new ginsenoside-Rh2, -Rh1, -Rg2 and -Rg3 appeared. Especially, ginsenoside-Rg3 (3.7 mg/g) on FGL was increased 15-fold compared to that of NFGL (0.2 mg/g). Total phenolic compound content of NFGL and FGL measured by colorimetric analysis was 350.4 and 312.5 mg%, respectively. There were 8 free and 6 ester forms of phenolic acids in NFGL. Among them, content of ferulic acid was the highest, comprised of 12.6 and 50.7 mg%, respectively. In FGL, total content of protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, and vanillic acid were increased by 28, 5 and 7.8 fold and ferulic acid was decreased greatly. Tyrosinase inhibitory activity of FGL was stronger than NFGL, while electron donating abilities of FGL were similar to NFGL.

Key words: ginseng leaf, ginsenoside, phenolic acid, fermentation, physiological significances

서 론

자연계에 존재하는 대부분의 식물체는 폴리페놀성 물질을 함유하고 있다. 페놀물질은 구조상 phenolic acids, coumarins 및 flavonoids로 대별되며 이들은 식물체내에서 각각의 특성에 맞게 유리형, 에스테르형 또는 결합형으로 존재하게 된다. 특히 phenolic acid류는 benzoic acid와 cinnamic acid류로 나뉘며 이들은 신선과실류나 채소류의 맛과 향기에 관여하며 물질에 따라서는 생리기능성을 가지는 특성을 가지고 있다(1,2). 이에 따라 페놀성 물질에 대한 선행연구들을 보면, 울릉도산 산채류 추출물에서 폴리페놀성 물질에 대한 항산화능(3), 팥나무 잎의 페놀성 화합물(4), 검정콩의 페놀성 물질에 대한 항산화효과(5), 배의 페놀성물질의 변화, 특성 및 구조결정 등(6-8), 장뇌삼 잎에서 폴리페놀성 물질에 대한 항산화효과(9)를 검토한 보고가 있다. 특히 폴리페놀성 물질은 적절한 고온처리에 의하면 폴리페놀성 물질의 함량이 증가하게 되어 항산화효과도 동시에 향상된다고 보고한

바 있다(6,10). 그동안 인삼은 약용으로 알려져 최근까지 그 기능성을 진세노사이드 조성 및 함량에 대한 측면에서 연구한 보고가 가장 많은 비중을 차지하여 왔다(11). 그러나 사포닌 성분 이외에도 백삼 내 페놀산 조성과 항산화활성(12), 수삼 증숙 횟수에 따른 페놀산 함량변화와 라디칼 소거활성(10), 유기산 처리에 따른 홍삼추출물의 페놀성 물질의 변화(13)를 검토하는 등 인삼의 페놀성 물질에 대한 연구가 보고되어지고 있다. 현재까지 인삼은 주로 뿌리를 이용한 식품이지만 인삼 잎에서도 뿌리에 못지않게 많은 사포닌이 함유되어 있다고 보고되어짐으로써(14) 인삼 잎에 대한 관심도가 증가하고 있으며 최근 이를 활용하고자 하는 연구가 이루어지고 있는 실정이다(9,15-19). 이와 같이 인삼 잎은 인삼지하부보다 사포닌 함량이 더 높아 인삼 잎에서 사포닌을 추출한 액을 이용할 수 있도록 인삼뿌리 추출물과 같은 부류인 인삼추출물을 관세분류 품목으로 인정하게 된 바(20), 인삼 잎의 이용도가 높아지고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼 잎을 잎차로 활용하기 위한 일환으로 인삼 잎을 일정기간 자연

*Corresponding author. E-mail: lkasn@korea.kr
Phone: 82-41-753-8823, Fax: 82-41-753-1323

발효시킨 후 진세노사이드와 페놀산 물질의 조성의 변화 및 그 침출액에 대한 DPPH radical 소거능과 tyrosinase 저해 활성에 대한 생리기능성을 살펴보았다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 인삼 잎은 충남 금산군 소재 유기농 재배농가에서 재배한 4년근 인삼밭에서 채배되어진 인삼 잎을 9월 말경에 수확하여 세척한 후 건조한 것을 실험에 사용하였다. Ginsenosides와 phenolic acids의 표준품으로는 Sigma 사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였으며 ginsenoside는 ginsenoside-Rg3를 포함한 12종 표준품을, phenolic acid는 benzoic acids로 gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, *p*-hydroxy benzoic acid, vanillic acid, syringic acid 및 salicylic acid 등 7종과 cinammic acids로 caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, trans-cinnamic acid 등 5종을 이용하여 총 12종에 대하여 비교 분석하였다.

발효 인삼잎 제조

발효 인삼잎은 건조한 인삼잎을 수분함량이 $20 \pm 2\%$ 가 되도록 살수한 다음 일정한 중량의 크기로 압착한 것에 발효종균(P&F-1, (주)보문 피엔에프, Geumsan, Korea)을 접종하여 37°C 에서 15일간 발효하였다. 발효한 인삼잎을 다시 냉풍건조 하여 최종 발효인삼잎의 수분함량을 13% 이하가 되도록 건조하여 제조하였다.

Ginsenosides 조성 및 함량

In 등(21) 및 Ando 등(22)의 수포화부탄을 추출법으로 조사포닌을 추출 정량하였으며, 진세노사이드 조성 및 함량은 조사포닌 추출한 것을 HPLC용 MeOH에 용해한 후 이를 membrane filter(0.20 μm pore size)로 여과, HPLC(Agilent 1200, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)에 10 μL 씩 주입하여 분석하였으며, 분석조건은 Lee 등(23)의 방법과 같이 Carbohydrate ES column을 장착한 HPLC system(Agilent 1200 series system with DAD detector at 203 nm and ELSD)을 이용하여 분석하였다. 분석조건은 이동상으로 용매 A(acetonitrile 80 : water 5 : isopropyl alcohol 15)와 용매 B(acetonitrile 80 : water 25 : isopropyl alcohol 15)를 이용하여 용매 A를 0분(75%), 28분(15%), 35분(0%), 50분(75%)의 조건하에 유속 0.8 mL/min으로 흘려주었다.

총 폴리페놀 화합물의 함량 및 phenolic acids 조성

인삼잎의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(24)으로 표준물질 tannic acid를 이용하여 비교분석하였고, 인삼잎의 phenolic acid의 추출은 Krygier 등(25)의 방법을 이용하여 유리형, 에스테르형 및 결합형의 phenolic acid를 추출 분리하였다. 우선 분말의 인삼 잎을 hexane으로 탈지처리한 후 분석시료로 이용하였다. 즉 유리형은 탈지한 인삼 잎 10 g을

증류수로 3회 반복추출 하여 추출액을 얻은 다음, 이 여과액을 1 N HCl을 이용하여 pH를 2.0으로 조정하여 다음 diethylether : ethylacetate(1:1) 혼합액을 이용하여 phenolic acid를 분리 용출하였고, 에스테르형 phenolic acid는 분쇄한 인삼 잎을 물로 3회 추출하여 얻은 여액에 NaOH를 첨가하여 최종 NaOH 농도가 2 N이 되도록 조절하여 다음 실온에서 4시간 이상 가수분해 시킨 후 가수분해 되어진 용액을 다시 HCl 용액으로 pH가 2.0이 되도록 조절하여 유리형 phenolic acid를 분리 용출하는 방법과 동일하게 분리 용출하였으며, 결합형 phenolic acid는 유리형 phenolic acids를 추출하고 남은 잔사를 가지고 2 N NaOH 250 mL를 가하여 실온에서 가수분해 한 후 HCl용액으로 pH를 2.0으로 조절하여 유리형 phenolic acid를 분리 용출하는 방법과 동일한 방법으로 용출하였다. 각각 분리 용출하여 얻어진 phenolic acid를 30°C 이하의 온도에서 감압 농축하여 건조한 다음 HPLC용 methanol 용액으로 일정량 용해한 후 membrane filter(0.20 μm pore size)로 여과하여 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 ZORBAX SB C-18을 장착한 HPLC system(Agilent 1200 series system with DAD detector at 280 nm, 320 nm)을 이용하여 분석하였으며, 이동상으로 용매 A(1% acetic acid)와 용매 B(methanol)를 이용하여 용매 A를 0분(100%), 25분(70%), 40분(40%), 50분(0%), 55분(100%)의 조건하에 유속 0.8 mL/min으로 흘려주었다.

발효 인삼잎의 생리활성

인삼잎의 전자공여능과 tyrosinase 저해활성을 측정하기 위하여 발효 전후의 인삼잎 분말 1 g을 $90 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 온도에서 10분간 침출시킨 것을 검액으로 사용하였다. 전자공여능은 DPPH radical에 대한 소거능을 이용하여 측정하였다. 즉, 1.5×10^{-4} M DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)용액 mL 당 인삼잎 침출액을 50, 125 및 250 μL 의 농도가 되도록 첨가 혼합하여 37°C 의 온도에서 30분간 방치한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하여 전자공여능을 비교 검토하였다(26). Tyrosinase 저해활성은 Yagi 등(27)의 방법에 준하였다. 즉, 2.0 mL의 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.0)에 침출액이 250 및 500 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 가 되도록 첨가하고 기질로서 0.2 mL의 10 mM L-DOPA와 100 unit의 tyrosinase를 0.1 mL 첨가하여 35°C 에서 5분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하여 침출액 무첨가구와 비교하여 표시하였다. 대조구로 시판되는 S사의 녹차를 인삼잎과 같은 방법으로 침출시켜 전자공여능과 tyrosinase 저해활성을 비교하였다.

$$\text{Activity}(\%) = \left(1 - \frac{\text{absorbance of added sample}}{\text{absorbance of no added sample}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

Ginsenoside 조성 및 함량

인삼잎과 발효 인삼잎의 진세노사이드 조성 및 함량을 분

Table 1. Changes of ginsenosides composition in ginseng leaf by fermentation

Ginseng leaf ¹⁾	Ginsenosides (mg/g, drybasis)											
	Rh2	Rh1	Rg2	Rg3	Rg1	Re	Rd	Rc	Rb2	Rb3	Rb1	Total
NFGL	-	1.3±0.2 ²⁾	3.6±0.8	0.2±0.0	26.0±1.3	47.3±2.4	23.9±1.1	3.0±1.2	6.0±0.9	0.5±0.3	2.8±0.4	114.6±1.2
FGL	1.4±0.2	6.6±0.4	17.0±1.1	3.7±0.4	0.5±0.2	-	11.0±0.5	1.8±0.2	0.2±0.1	0.1±0.1	-	42.3±0.2

¹⁾NFGL: non fermented ginseng leaf, FGL: fermented ginseng leaf.

²⁾Values are mean±SD of triplicate determinations.

석한 결과는 Table 1과 같다. 인삼잎은 일반적으로 많이 식용되고 있는 뿌리부분보다 진세노사이드 함량이 높은 것으로 보고(14)되어 있는데, 본 연구에서 분석한 결과도 뿌리보다 그 함량이 높은 것을 알 수 있었으며(date not shown) 또 뿌리에서는 인삼의 재배조건에 따라 진세노사이드 조성에 따른 함량에 차이가 나타난다고 보고되고 있지만(28,29) 대부분 Rg1, Rb1, Rb2, Rc 및 Re를 주로 함유하고 있다고 보고되어지고 있다(11). 본 연구결과 인삼잎에서 주된 진세노사이드는 Re로 분석된 진세노사이드 조성 중 약 50%를 차지할 정도로 높은 함량을 가지고 있었고 그 다음이 Rg1, Rd를 많이 함유하고 있었다. 이는 Seog 등(15)이 장뇌삼 잎에 대한 진세노사이드 함량을 분석한 결과, Re의 함량이 높았다고 보고하였으며 Chang(17)은 인삼잎의 채엽 시기에 따른 사포닌 성분의 함량을 분석한 결과 Re, Rd, Rg1 등이 전체 사포닌의 70% 이상을 차지한다고 보고한 것 등과 같은 결과를 나타내었다. 또한 본 연구에 사용된 인삼잎에는 홍삼 뿌리에서 검출되는 진세노사이드인 Rh1, Rg2 및 Rg3가 각각 1.3, 3.6 및 0.2 mg/g의 함량으로 검출되었다. 이는 Eom 등(30)이 보고한 인삼잎 중 진세노사이드를 분석한 결과와 같은 결과를 보여주었다. 발효한 인삼잎에서는 대부분 인삼 뿌리에서 많이 검출되는 Rg1, Rb1, Rb2, Rb3, Rc 및 Re의 함량은 대부분 소실되었으며, 홍삼에서 검출되는 특유 진세노사이드인 Rh2, Rh1, Rg2 및 Rg3의 함량이 증가되는 것을 볼 수 있었다. 특히 Rh2는 일반 인삼잎에서는 검출되지 않던 것이 생성되었으며, Rh1, Rg2 및 Rg3는 각각 5, 4 및 15배 정도로 상당량 증가됨을 볼 수 있었다. 이 발효는 균의 특성상 수삼에서 많이 검출되는 진세노사이드 조성은 감소하면서 홍삼 특유 진세노사이드 조성 물질이 증가되었다고 보고한 바 있는데(31), 인삼잎에서도 같은 결과를 보여주었다. Kim 등(32)은 *Bacillus* 균주와 lactic acid bacteria 균주를 이용하여 인삼을 발효시킨 결과, *Bacillus* 균의 몇 종이 Rc, Rb1 및 Rb2의 ginsenoside가 Rd로 전환되는 것을 보고하였으며, Kim 등(33)은 ginsenoside Rg3를 강화시킬 수 있는 효모를 제조하는 등 미생물을 이용하여 진세노사이드를 전환한 것을 보고하였으며, Quan 등(34)은 *Lactobacillus brevis* LH8을 이용하여 진세노사이드 Rd를 compound K로 전환한 연구가 보고되어지고 있는 것 등을 보면 특정 미생물 균주를 이용한 새로운 제품 개발이 가능할 것으로 본다. 본 실험결과, 발효한 인삼잎에서 검출되어진 Rh2, Rh1, Rg2 및 Rg3의 대표적인 기능성으로는 각각 암세포증식억제작용, 간상해

Table 2. Total polyphenol compound content in ginseng leaf by fermentation

	Ginseng leaf ¹⁾	
	NFGL	FGL
Total polyphenol compound content (mg%, dry basis)	350.4±32.1 ²⁾	312.5±20.7

¹⁾NFGL: non fermented ginseng leaf, FGL: fermented ginseng leaf.

²⁾Values are mean±SD of triplicate determinations.

억제작용, 혈소판응집억제작용 및 암세포전이억제작용 등이 있다고 보고되어진다(11). 따라서 Rg3와 같은 특정 진세노사이드 물질을 다량 생산하기 위하여 본 실험에 이용된 발효종균의 생리적 특성을 면밀하게 검토할 필요가 있을 것으로 생각된다.

총 폴리페놀 함량

인삼잎의 총 폴리페놀 함량은 Table 2와 같다. 인삼잎에서는 350.4 mg%, 발효 인삼잎에서는 312.5 mg%를 함유하는 것으로 발효과정에 의하여 총 폴리페놀 함량은 다소 감소하는 것으로 나타났다. Seog 등(9,15)이 보고한 바에 의하면 장뇌삼 잎의 총 폴리페놀 함량이 856 mg%이라고 보고한 것에 비하면 상당히 낮은 함량을 보여주었다.

Phenolic acids의 조성 및 함량

인삼잎 중 유리형, 에스테르형 및 결합형 phenolic acids의 조성 및 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 인삼잎에서는 결합형 phenolic acid는 검출되지 않았고, 유리형과 에스테르형의 phenolic acid만 검출되었다. 유리형에서는 8종, 에스테르형에서는 6종이 검출되었으며 두 형태 모두 ferulic acid가 각각 12.6 및 50.7 mg%로 가장 많이 검출되어 있었으며 뒤이어 유리형에서는 *p*-hydroxybenzoic acid가 3.7 mg%, caffeic acid가 2.3 mg%, vanillic acid가 2.2 mg% 및 protocatechuic acid가 1.2 mg%를, 에스테르형에서는 caffeic acid가 9.2 mg%, *p*-hydroxybenzoic acid가 5.7 mg%, vanillic acid가 3.8 mg%를 함유하고 있었다. 이는 Seog 등(9)은 장뇌삼에서 주된 유리형 phenolic acid는 syringic acid와 sinapic acid이라고 보고한 것과는 차이가 크게 남을 볼 수 있었고, Table 2에서 나타낸 비색법에 의한 총 폴리페놀 함량과 phenolic acid 조성간의 함량에는 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 발효를 한 인삼잎에서는 유리형 phenolic acid가 79.7 mg%, 에스테르형 phenolic acid가 57 mg%로, 발효에

Table 3. Changes of phenolic acid composition in ginseng leaf by fermentation. (mg%, drybasis)

	Ginseng leaf ¹⁾							
	NFGL				FGL			
	FPA ²⁾	EPA	BPA	Total	FPA	EPA	BPA	Total
Gallic acid	—	—	—		1.3±0.3 ³⁾	—	—	1.3±0.3
Protocatechuic acid	1.2±0.2	0.7±0.2	—	1.9±0.4	29.8±2.4	18.8±3.0	4.4±1.7	53±2.5
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	3.7±1.0	5.7±1.1	—	9.4±1.1	21.5±1.9	15.6±1.3	10.3±1.1	47.4±1.6
Vanillic acid	2.2±0.2	3.8±0.1	—	6.0±0.2	20.1±1.1	16.1±0.9	10.9±1.2	47.1±1.0
Caffeic acid	2.3±0.4	9.2±1.0	—	11.5±0.8	1.2±0.4	0.6±0.2		1.8±0.5
Syringic acid	0.2±0.1	0.6±0.3	—	0.8±0.3	1.2±0.2	1.0±0.3		2.2±0.2
<i>p</i> -Coumaric acid	0.8±0.2	—	—	0.8±0.2	0.6±0.1	1.0±0.2	1.1±0.1	2.7±0.1
Ferulic acid	12.6±2.4	50.7±7.6	—	63.3±6.4	1.0±0.1	3.9±0.0	2.8±0.1	7.7±0.1
Salicylic acid	—	—	—		2.5±0.2	—	—	2.5±0.2
trans-Cinnamic acid	0.6±0.1	1.0±0.2	—	1.6±0.2	0.5±0.2	—	—	0.5±0.2
	25±1.4	71.7±3.8		93.7±3.6	79.2±1.2	57.0±0.8	29.5±0.7	165.7±1.3

¹⁾NFGL: non fermented ginseng leaf, FGL: fermented ginseng leaf.

²⁾FPA: free type phenolic acid, EPA: ester type phenolic acid, BPA: bounded type phenolic acid.

³⁾Values are mean±SD of triplicate determinations.

의하여 유리형은 약 3.4배 증가하였고, 에스테르형은 약 20% 감소하였으나 발효하지 않은 인삼잎에서 검출되지 않던 결합형 phenolic acid가 29.5 mg%로 총 phenolic acid의 함량이 166.2 mg%를 함유하고 있어 발효에 의하여 총 함량이 약 1.7배 이상 증가함을 볼 수 있었다. 또 각각의 phenolic acid의 변화를 보면 인삼잎에 가장 많이 함유하고 있던 ferulic acid는 발효에 의하여 급격히 감소하여 그 함량이 상당히 적은 값을 가지는 경향이었으나, protocatechuic acid는 약 28배, *p*-hydroxybenzoic acid는 약 5배, vanillic acid는 약 7.8배가 증가되는 것을 볼 수 있었으며 Fig. 1에 나타난 바와 같이 RT 32분대에서 미지의 phenolic acid가 상당히 증가하는 것을 볼 수 있었다. 일반적으로 ferulic acid는 진통작용, 평활근 이완작용 등(35), protocatechuic acid는 항산화작용(36) 및 항혈전작용 등(37), *p*-hydroxybenzoic acid는 혈당저하작용, 지혈작용 등(38), vanillic acid는 항암작용 등(39), 생리적으로 기능성이 우수하다고 보고한 바 있다. 따라서 인삼잎을 발효함으로써 얻어지는 protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid 및 vanillic acid 등의 phenolic acid의 함량이 증가된 것을 보면 발효 인삼잎이 가지는 생리적 특성도 또한 넓어질 것으로 생각되어 이러한 기능성을 검토할 필요성이 요구되어진다.

전자공여능 및 tyrosinase 저해활성

발효 전후의 인삼잎을 시판 녹차와 같은 방법으로 90±2 °C의 온도에서 10분간 침출한 액을 이용하여 DPPH용액을 이용한 전자공여능과 tyrosinase 억제활성을 측정한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이, 전자공여능은 DPPH용액에 대하여 침출액 50 µL를 첨가할 경우는 전자공여능이 30% 정도로 미약한 결과를 보여주었으나 250 µL 첨가 시는 시판 녹차보다는 약간 낮았지만 거의 비슷한 활성을 나타내 첨가량의 증가에 따라 전자공여능이 비례적으로 증가함을 볼 수 있었으며, 발효처리에 의한 전자공여능의 증가 효과는 인정되지

않았다. 이는 Table 3에서 보는 바와 같이 페놀산 함량이 발효에 의하여 증가하였으나 Table 2에서 총 폴리페놀성 함량이 무발효 인삼잎에서 높은 것을 보면 인삼잎에 함유되어있는 총 폴리페놀성 물질이 전자공여능에 관여함을 알 수 있었고, 발효 후 증가된 종류의 페놀산 물질보다 그 외의 다른 플라보노이드 물질이 더 관여할 수 있을 것으로 생각되어 이를 더 검토할 필요가 있을 것으로 생각된다. 또 tyrosinase 활성은 시판녹차를 대조구로 비교한 결과 시판녹차보다는 억제활성이 낮은 결과를 보여주었으나 발효 처리를 한 인삼잎을 500 µL/mL로 첨가하였을 경우 시판녹차는 48.6%, 발효 인삼잎은 46.5%로 거의 비슷한 결과를 보여주어 발효처리에 의하여 활성이 증가됨을 볼 수 있었다. 이에 따라 인삼잎에 대한 활용도가 식품개발측면에서 뿐만 아니라 화장품 개발 소재에도 필요할 것으로 보이며 이에 대한 연구가 더 검토되어야 할 것으로 보인다.

요 약

본 연구에서는 인삼잎이 인삼뿌리보다 사포닌 함량이 높은 부위로서 식품 소재로 이용가치가 있을 것으로 생각되어 인삼잎을 이용하여 차 제품을 개발하기 위한 방안으로 인삼잎을 발효시켜 진세노사이드 조성 및 형태별 페놀산 조성의 변화를 분석하고 인삼잎을 침출시켜 침출액에 대한 전자공여능과 tyrosinase 저해활성을 측정하였다. 인삼잎에서 진세노사이드는 10종이 검출되었고 주된 진세노사이드는 ginsenoside-Rg1(26.0 mg/g), -Re(47.3 mg/g) 및 -Rd(23.9 mg/g)이었고 발효에 의하여 ginsenoside-Rh2, -Rh1, -Rg2 및 -Rg3는 증가하였으며 특히 Rg3는 15배가 증가하였다. 인삼잎의 총 폴리페놀성 함량은 350.4 mg%이었고 발효인삼잎은 312.5 mg%으로 발효에 의해서는 약간 감소하였다. 인삼잎의 페놀산은 결합형은 검출되지 않았고, 유리형과 에스테르형이 각각 8 및 6종이 검출되었으며 그중에서 ferulic

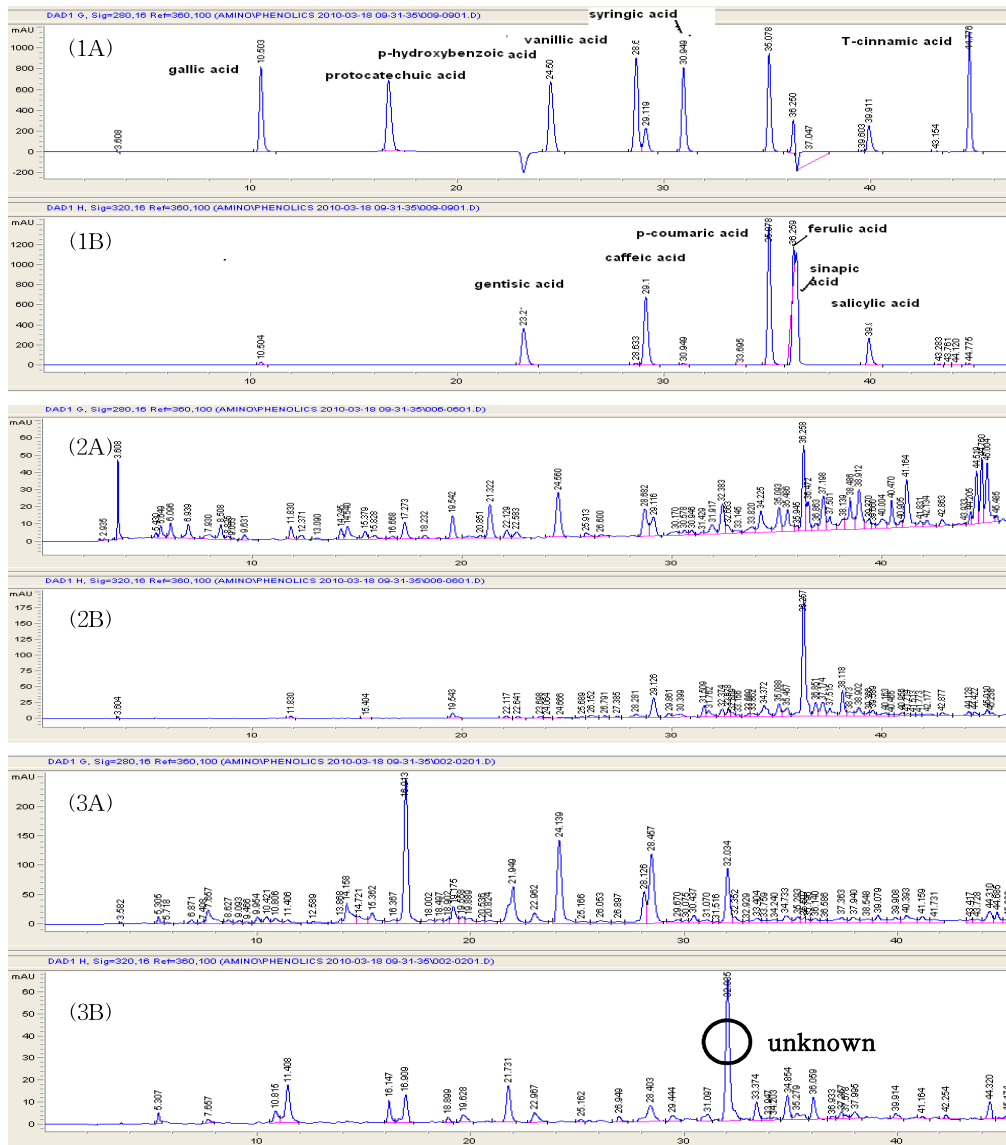


Fig. 1. Chromatogram of phenolic acid on standard phenolic acids, free type phenolic acid of non-fermented and fermented ginseng leaf. (1A) and (1B): Std chromatogram. (2A) and (2B): Chromatogram of free type phenolic acid on non-fermented ginseng leaf. (3A) and (3B): Chromatogram of free type phenolic acid on fermented ginseng leaf at 280 nm (A) and 320 nm (B), respectively.

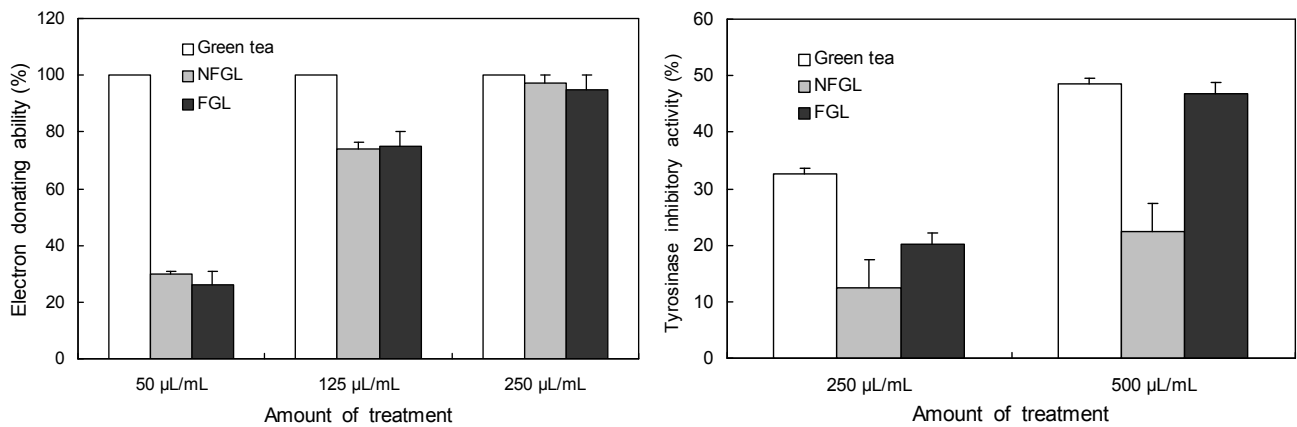


Fig. 2. Electron donating abilities and tyrosinase inhibitory activities of ginseng leaf by fermentation. NFGL: non fermented ginseng leaf, FGL: fermented ginseng leaf.

acid가 각각 12.6 및 50.7 mg%로 가장 많은 함량을 차지하고 있었다. 발효인삼잎에서는 ferulic acid는 상당량이 감소하였으나 protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid의 3종의 페놀산이 유리형, 에스테르형 및 결합형 모두에서 상당량 증가하여 총 함량이 각각 28배, 5배 및 7.8배 증가하였다. 인삼잎을 침출시킨 액을 이용하여 전자공여능과 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 전자공여능은 발효에 의하여 활성이 증가하지는 않았으나, tyrosinase 저해활성은 증가하여 500 µL/mL 농도로 첨가 시 46.5%를 나타내어 무발효인삼잎에 비하여 2배 이상 증가하여 시판녹차와 비슷한 결과를 보여주었다.

문 헌

- Nollet LML. 1996. *Handbook of food analysis. Physical characterization and nutrient analysis*. Marcel Dekker Inc., New York, USA. p 821-894.
- Harborne JB, Mabry TJ. 1982. *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapman and Hall Ltd., New York, USA. p 135-640.
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
- Cho JO, Jung IC. 2006. Phenolic compounds of *Ligustrum japonicum* leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 713-720.
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Choung MG, Moon GS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean J Food Sci Technol* 37: 73-77.
- Hwang IG, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Yang MH, Jeong HS. 2006. Change of physicochemical characteristics of Korean pear juice with heat treatment conditions. *Korean J Food Sci Technol* 38: 342-347.
- Zhang X, Le FZ, Eun JB. 2007. Changes of phenolic compounds and pectin in Asian pear fruit during growth. *Korean J Food Sci Technol* 39: 7-13.
- Zhang YB, Choi HJ, Han HS, Park JH, Son JH, Bae JH, Seung TS, An BJ, Kim HG, Choi C. 2003. Chemical structure of polyphenol isolated from Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Korean J Food Sci Technol* 35: 959-967.
- Seog HM, Jung CH, Kim YS, Park HS. 2005. Phenolic acids and antioxidatives of wild ginseng (*Panax ginseng* C. M. Meyer) leaves. *J Food Sci Biotechnol* 14: 371-374.
- Kim YC, Hing HD, Rho JH, Cho CW, Rhee YK, Yim JH. 2007. Changes of phenolic acid contents and radical scavenging activities of ginseng according to steaming times. *J Ginseng Res* 31: 230-236.
- Nam KY. 1996. *The new Korean ginseng (constituent and its pharmacological efficacy)*. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Daejeon, Korea. p 1-134.
- Choi CS, Kim KI, Hong HD, Choi SY, Lee YC, Kim KT, Rho JH, Kim SS, Kim YC. 2006. Phenolic acid composition and antioxidative activity of white ginseng (*Panax ginseng* C. M. Meyer). *J Ginseng Res* 30: 22-30.
- Kong YH, Rho JH, Cho CW, Kim MH, Lee YC, Kim SS, Lee PJ, Choi SY. 2009. Variation of phenolic ingredient and ginsenoside content in red ginseng extract by acid treatment. *J Ginseng Res* 33: 194-198.
- Yahara S, Tanaka O, Komori T. 1976. Saponins of the leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Chem Pharm Bull* 24: 2204-2208.
- Seog HM, Jung CH, Choi IW, Choi HD. 2004. Changes in contents of ginsenosides and phenolic compounds in wild ginseng leaves during tea processing. *Food Sci Biotechnol* 13: 516-518.
- Choi JE, Li XG, Han YH, Lee KT. 2009. Changes of saponin contents of leaves, stem and flower-buds of *Panax ginseng* C. A. Meyer by harvesting days. *Korean J Med Crop Sci* 17: 251-256.
- Chang HK. 1998. Changes of saponin contents in *Panax ginseng* leaf by different harvesting months. *Korean J Food Nutr* 11: 82-86.
- Chang HK. 2003. Effect of processing methods on the saponin contents of *Panax ginseng* leaf-tea. *Korean J Food Nutr* 16: 46-53.
- Cho SH. 1977. Saponins of Korean ginseng C. A. Meyer (Part II) The saponins of the ground part of ginseng. *J Korean Agric Chem Soc* 20: 142-146.
- <http://www.customs.go.kr/kswwweb/search/search.jsp> Ginseng leaf extract. 2006. 3. 6. News.
- In JG, Park DS, Lee BS, Lee TH, Kim SY, Rho YD, Cho DH, Jin CW, Yang DC. 2006. Effect of potassium phosphate on growth and ginsenosides biosynthesis from ginseng hairy root. *Korean Med Crop Sci* 14: 371-375.
- Ando T, Tanaka O, Shibata S. 1971. Chemical studies on the oriental plant drugs (XXV). Comparative studies on the saponins and sapogenins of ginseng and related crude drugs. *Soyakugaku Zasshi* 25: 28-33.
- Lee KS, Kim GH, Kim HH, Seong BJ, Lee HC, Lee YG. 2008. Physicochemical characteristics on main and fine root of ginseng dried by various temperature with far-infrared drier. *Korean J Med Crop Sci* 16: 211-217.
- AOAC. 2005. *Official methods of analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Vol 45, p 21-22.
- Krygier K, Sosulski F, Lawrence H. 1982. Free esterified and insoluble-bound phenolic acids 1. Extraction and purification procedure. *J Agric Food Chem* 30: 330-334.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Med* 3981: 517-519.
- Lee SW, Kim GS, Lee MJ, Hyun DY, Park CG, Park HK, Cha SW. 2007. Effect of blue and yellow polyethylene shading net on growth characteristics and ginsenoside contents in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean J Med Crop Sci* 15: 194-198.
- Kwon SG, Lee CY, Oh DJ, Li GY, Cha SW, Lee SW. 2010. Changes of growth characteristics and ginsenoside content by growth stages and different planting position in *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J Med Crop Sci* 18: 51-55.
- Eom SH, Seo SH, Gimery AK, Jin CW, Kang EY, Kang WS, Chung IM, Cho DH. 2008. Changes of protopanaxadiol ginsenosides in ginseng leaves by far infrared and steaming heat treatments. *Korean J Med Crop Sci* 16: 332-336.
- Yoon JH, Baik ND, Baik SH. 2009. Fermented black ginseng and its processed method. *Korean Patent* 10-0910585.
- Kim HG, Kim KY, Cha CJ. 2007. Screening for ginseng-fermenting microorganisms capable of biotransforming ginsenosides. *Korean J Microbiol* 43: 142-146.
- Kim NM, Lee SK, Cho HH, So SH, Jang DP, Han ST, Lee JS. 2009. Production of ginsenoside-Rg3 enriched yeast biomass using ginseng steaming effluent. *J Ginseng Res* 33: 183-188.

34. Quan LH, Liang Z, Kim HB, Kim SH, Kim SY, Noh YD, Yang DC. 2008. Conversion of ginsenoside Rd to compound K by crude enzymes extracted from *Lactobacillus brevis* LH8. *J Ginseng Res* 32: 226-231.
35. Cho JY, Moon JH, Park KH. 2000. Isolation and identification of 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid and 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid from hot water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb and confirmation of their anti-oxidative and antimicrobial activity. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1403-1408.
36. Yoshimasa N, Koji T, Yoshimi O, Akira M, Takuji T, Hajimi O. 2000. A simple phenolic antioxidant protocatechuic acid enhances tumor promotion and oxidative stress in female ICR mouse skin. *Carcinogenesis* 21: 1899-1907.
37. Yun HS, Kang SS, Kim MH, Jung KH. 1993. Anti-thrombotic effects of analogs of protocatechuic acid and gallic acid. *Korean J Pharm Soc* 37: 453-457.
38. Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 32: 1141-1148.
39. Han GT. Anti-cancer effect of igongsan and vanillic acid in human leukemia cell line, HL-60 cells. *PhD Dissertation*. Wonkwang University, Iksan, Korea. p 13-25.

(2010년 4월 30일 접수; 2010년 5월 17일 채택)