

연근별 산양삼의 일반성분 및 항산화 효과

이근 · 최광수¹ · 이주열¹ · 윤소정² · 김우기¹ · 이형재² · 백무열¹ · 황재관*

연세대학교 생물소재공학협동과정, ¹경희대학교 식품생명공학과, ²단국대학교 식품공학과

Proximate Analysis and Antioxidant Activity of Cultivated Wild *Panax ginseng*

Geun Lee, Gwang-Su Choi¹, Ju-Yeol Lee¹, So-Jung Yun², Wooki Kim¹,
Hyungjae Lee², Moo-Yeol Baik¹, and Jae-Kwan Hwang*

Graduate Program in Biomaterials Science and Engineering, Yonsei University

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University

²Department of Food Engineering, Dankook University

Abstract

Proximate analysis and antioxidant activity of cultivated wild *Panax ginseng* (CWPG) were investigated to provide fundamental information of CWPG with different ages and to increase its industrial application. Proximate analyses of CWPG with different ages were performed. Extraction of CWPG with different ages was carried out using heat-reflux extraction, and their extraction yield, crude saponin content, ginsenoside content, and antioxidant activity were analyzed. Moisture content decreased, but crude fat and crude protein were increased with aging. Extraction yield and crude saponin contents did not show a specific pattern while 5-year-old CWPG revealed the highest extraction yield and crude saponin content. All CWPGs showed typical ginsenoside profiles containing C-K and Rh2 ginsenosides, which are not found in ginseng. The 3-year-old CWPG showed the highest antioxidant activity including total phenolic content, total flavonoid content, and DPPH and ABTS radical scavenging activities. Moreover, 3-year-old CWPG also revealed the highest acidic polysaccharide content. Therefore, these results suggested that 3-year-old CWPG, which is the cheapest, can be used in industrial application due to its high antioxidant activity and acidic polysaccharide content with similar ginsenoside profile compared to 5- and 7-year-old CWPGs.

Key words: cultivated wild *Panax ginseng* (CWPG), proximate analysis, antioxidant activity, acidic polysaccharide

서 론

인삼은 동양에서 효능이 인정된 약용식물로 인삼의 구성 성분인 사포닌 성분과 비 사포닌 성분인 페놀, 플라보노이드, 산성다당체 등의 효과가 널리 알려져 있다(Lee et al., 2000; Yoo et al., 2000; Kim & Kim, 2005). 또한 인삼의 생리활성은 체계적인 약리학적 접근으로 심혈관계, 면역계, 신경계에 대한 효능과 해독작용, 항암작용 그리고 항당뇨 작용 등이 잘 알려져 있다(Kim et al., 2007; Kang et al., 2008). 한편 산양삼(cultivated wild *Panax ginseng*, CWPG)은 일반적인 인삼과는 다르게 산지에 산삼의 종자나 인삼의 종자를 파종하고 인위적인 비료나 농약을 사용하지 않고 방임하여 재배하고, 일반적으로 인삼에 비하여 약리적

인 활성이 높고 향이 강한 특징을 갖는다고 알려져 있으며, 형태적 차이로는 인삼에 비하여 가늘며 긴 지근을 가지며, 몸통에 여러 층의 둥그런 띠 형태를 갖는다(Bae et al., 2009). 이러한 산양삼의 ginsenoside 및 항산화능에 대한 연구는 소수의 연구자에 의하여 진행되어 왔으며(Pan et al., 2013), 이들의 연근에 따른 ginsenoside, 항산화능 및 산성다당체의 변화에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

Free radical의 위험성은 1954년 산소의 유해성이 최초로 제기된 이후(Gerschman et al., 1954), 1969년 ROS 등의 개념이 추가 되었고(McCord & Fridovich, 1969), 현재에 와서는 이러한 free radical이 각종 질병과 노화의 원인으로 알려지게 되었다(Valko et al., 2007). Free radical은 항산화제의 고갈 및 단백질 구조의 변화 등의 문제를 일으키기 때문에 이들을 효과적으로 제거하는 것이 중요하다. 산양삼의 경우 인삼보다 항산화 활성이 매우 높다고 보고되어 있지만(Jang et al., 2008), 이들의 연근에 따른 항산화활성의 변화는 보고된 바 없다. 또한 인삼의 비 사포닌 성분 중에 하나인 산성다당체 성분은 대식세포에 면역 증강 효

*Corresponding author: Jae-Kwan Hwang, Department of Biomaterials Science and Engineering, Yonsei University, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2123-5881; Fax: +82-2-362-7265
E-mail: jkhwang@yonsei.ac.kr
Received May 30, 2017; accepted June 13, 2017

과를 가지고 있으며 이러한 능력이 암과 같은 질병의 치료를 위해 임상 적으로 사용될 수 있다고 알려져 있고(Shin et al., 2004), 대식세포의 기능적 활성화를 통한 면역 자극 치료제로 사용될 수 있다고 하였다(Byeon et al., 2012). 최근 산성다당체의 효능과 효과에 대한 연구가 많이 진행되고 있으나 산양삼의 연근에 따른 산성다당체의 변화에 대한 연구는 전무한 상황이다. 따라서 본 연구에서는 산양삼의 연근별 일반성분, 조사포닌 함량, 진세노사이드 성분, 항산화 효과 및 산성다당체 함량의 변화를 연구하여 이들 산양삼을 식품 또는 건강기능식품으로 산업화하는데 밑거름이 될 수 있는 기본적인 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

산양삼 및 시약

본 연구에 사용된 평창산 산양삼은 3년근, 5년근, 7년근을 농업회사법인 (주)우리두(Pyeongchang, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 산양삼은 흐르는 수돗물로 3회 수세 후 증류수로 최종 수세하고, paper towel이 깔린 테이블에서 표면을 건조한 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 추출에 사용된 용매는 주정용 에탄올을 사용하였고, 조사포닌 분석은 시약용 diethyl ether와 *n*-butanol은 Daejung Chemicals & Metals Co. Ltd. (Siheung, Korea)의 것을 사용하였다. HPLC 분석에는 HPLC grade의 acetonitrile과 water는 Daejung Chemicals & Metals Co. Ltd.의 것을 사용하였다. NaNO₂, AlCl₃, NaCO₃, Folin-Ciocalteu 용액, DPPH (α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl), AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride)와 ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), galacturonic acid, ascorbic acid, gallic acid, catechin, phosphate-buffered saline (PBS) 등의 시약은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)의 것을 사용하였다.

추출방법 및 추출수율

각각의 산양삼 시료를 원물기준 3년근 500 g (고형분 약 109.8 g), 5년근 200 g (고형분 약 51.0 g), 7년근 200 g (고형분 약 56.8 g)에 70% 주정용 에탄올(Ethanol Supplies World Co. Ltd., Jeonju, Korea)을 25배 가한 뒤, 70°C에서 24시간동안 환류 냉각 추출기(Glass Extractor JS980, Jung Sung Hascom, Seoul, Korea)를 이용하여 추출하였다. 또한 상온 추출은 시료를 환류 추출방법과 같은 용매비율인 1:25 로 설정하고 시료를 분쇄하여 상온에서 30분간 교반하여 추출하였다.

추출된 시료는 Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 번 filter paper (Whatman No. 2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 50°C의 수온에서 감압회전농축기(N-11 Eyela, Tokyo Rikakikai Co.

Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 감압 농축 하고, 추출물의 일부를 105°C의 열풍건조기(HB-502M, Hanbeak Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 건조하여 (1)번 식을 이용하여 추출 수율을 계산하였다.

$$\text{Extraction yield (\%)} = \frac{(W_2 - W_1) \times \frac{E}{E'}}{A} \times 100 \quad (1)$$

A: Weight of sample (g)

E: Total volume of extract (mL)

E': Used volume of extract (mL)

W₁: Initial weight of aluminum dish (g)

W₂: Weight of aluminum dish and solid (g)

일반성분

일반성분은 Association of Official Analytical Chemists (AOAC)법을 따라 분석하였다(AOAC, 2002). 수분함량은 105°C dry oven에서 24시간 건조하여 측정하였으며, 조지방은 soxhlet 추출법으로(Soxtec 243, Foss Korea, Sungnam, Korea), 질소함량은 digester (MBCM12, Raypa, Barcelona, Spain), distiller (DNP1500, Raypa) 및 titrator (Akkudiver, Hirschmann Laborgerate, Eberstadt, Germany)를 이용하여 semi-micro Kjeldahl법으로 측정하였다. 조회분은 550°C 회화법을 이용하여 분석하였다.

조사포닌

시료의 조사포닌 함량분석은 Ando et al. (1971)와 Namba et al. (1974)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 농축액에서 시료 2 g에 해당하는 추출액과 증류수 25 mL을 분액 깔때기에 넣고 diethyl ether 25 mL을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르 층으로 분리 될 때까지 방치시켰다. 분리된 에테르 층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 25 mL을 더하여 다시 잘 흔들어준 후 분리 될 때까지 방치시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층은 따로 모으고, 물 층에 다시 수포화 부탄올을 더하는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 물 50 mL를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 층 분리될 때까지 방치시킨 후 수포화부탄올 층을 감압회전농축기(N-11 Eyela, Tokyo Rikakikai Co. Ltd.)를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압 농축하였다. 감압 농축 후 105°C dry oven에서 2시간 건조하고 항량시킨 후 무게를 측정하여 (2)식을 이용하여 조사포닌 함량을 계산하였다.

$$\text{Crude saponin (mg/g ginseng)} = \frac{w_1 - w_2}{w_3} \times \frac{A}{B} \quad (2)$$

w₁: Weight of sample after drying the water saturated *n*-butanol layer (g)

w₂: Weight of flask (g)

w₃: Weight of cultivated wild *Panax ginseng* (g)
 A: Total volume of concentrate (mL)
 B: Used volume of concentrate (mL)

Ginsenosides

Ginsenoside 함량은 조사포닌을 HPLC grade 메탄올에 용해한 후 0.45 µm syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC (Agilent 1260, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)의 조건은 Table 1과 같다. 칼럼은 Kinetex사의 C18 (50 × 4.6 mm, ID 2.6 µm, Torrance, CA, USA)을 사용하였고, 검출기(G1314F, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)는 UV detector로 203 nm에서 측정하였다. 이동상으로는 증류수(A)와 acetonitrile (B)의 gradient system을 사용하였고, gradient는 Table 1에서 제시된 비율로 조절하였다. 이동상의 유속은 1.0 µL/min이었으며, 시료 주입량은 5 µL, 분석온도는 45°C로 하였다. Ginsenoside 표준품은 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd, Rg, Compound K, Rh₂를 사용하였다.

산성다당체

산성다당체 함량 분석은 Do et al. (1994)의 방법인 carbazole-sulfuric acid 방법을 이용하여 비색정량 하였다. 산양삼 추출물 0.05 mL에 에탄올에 녹인 0.01% carbazole 용액 0.25 mL과 H₂SO₄ 3 mL을 넣은 후 80°C 항온수조 (EYELA SB-1100, Tokyo Rikakikai Co. Ltd.)에서 반응시킨 후 상온에서 15분간 냉각시켜 주었다. 반응 후 분광광도계(UV-1200, Labentech, Incheon, Korea)를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였고 대조구로는 증류수를 사용하였다. 표준물질로는 galacturonic acid를 사용하였다.

총 페놀

총 페놀 함량(Total Phenolics, TP)는 Folin-Ciocalteu 방

법을 변형하여 측정하였다(Singleton et al., 1999). 시료 10 µL와 증류수 100 µL를 혼합한 후 Folin-Ciocalteu 용액 10 µL를 섞은 후 6분간 반응시켰다. 그 후 7% Na₂CO₃ 80 µL를 넣고 실온에서 90분간 반응 시킨 뒤 750 nm에서 96 well microplate reader (iMark, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 하여 표준곡선 구하였고, mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g sample로 표기하였다

총 플라보노이드

총 플라보노이드 함량(Total Flavonoids, TF)는 Zhishen et al. (1999)의 방법을 이용하여 측정하였다. 희석한 시료 17 µL와 증류수 96 µL를 혼합한 후 2.5% NaNO₂ 10 µL를 넣고 섞어주었다. 5% AlCl₃ 10 µL를 넣고 1M Na₂CO₃ 67 µL 넣어 균질화 한 후, 510 nm에서 96 well microplate reader (iMark, Bio-Rad Laboratories)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Catechin을 표준물질로 하여 표준곡선 구하였고, mg catechin equivalent (CE)/100 g sample으로 표기하였다.

항산화능

시료의 항산화능은 DPPH free radical scavenging activity (Brand-Williams et al., 1995)와 ABTS radical scavenging activity (Kim et al., 2003)의 방법을 변형하여 측정하였다. 80% Methanol을 사용하여 0.1 mM DPPH 용액을 제조하고 DPPH 용액과 시료를 섞어 30분간 실온에서 반응시킨 후 510 nm에서 96 well microplate reader (iMark, Bio-Rad Laboratories)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거능의 경우 1.0 mM AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride)와 2.5 mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)를 PBS와 혼합하여 70°C에서 반응 시킨 후 0.2 µm syringe filter로 여과한 후 ABTS 시약과 시료를 37°C에서 10분 동안 반응시켰다. 흡광도는 96 well microplate reader (iMark, Bio-Rad Laboratories)를 이용하여 750 nm에서 측정하였다. DPPH 및 ABTS radical 소거능 활성의 표준 물질은 vitamin C를 사용하였고, mg vitamin C equivalent (VCE)/100 g sample로 표기하였다.

통계분석

수행한 모든 실험은 3회 이상 반복 측정을 한 결과 값을 바탕으로 SAS version 9.40 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 통계 프로그램을 이용하여 5% 유의 수준에서 Duncan's multiple range test로 평균 값 간의 다중비교를 실시하였다.

Table 1. HPLC conditions for analysis of cultivated wild *Panax ginseng*

Time (min)	H ₂ O	Acetonitrile
0-6	82	18
6-11	74	21
11-15	68.5	31.5
15-25	66.1	33.9
25-26.5	60	40
26.5-29	44	56
29-31	30	70
31-32.5	15	85
32.5-34.5	15	85
34.5-35.5	82	18
35.5-40	82	18

결과 및 고찰

형태

연근별 산양삼의 모습을 Fig. 1에 나타내었다. 3년근 산양삼 뿌리의 길이와 폭은 동체가 작고 잔뿌리의 수가 대체로 적었으며, 5년근과 7년근 산양삼에 비하여 눈에 띄게 작았다. 5년근과 7년근의 경우, 동체의 둘레 길이가 차이가 났으며 잔뿌리의 수 역시 7년근에서 많이 나타났다. 인삼은 2년생까지는 주로 길이로 성장하고, 4년생 이후부터는 지근이 발달하면서 주근과 함께 측면으로 비대해져 근직경이 커지기 시작한다. 6년근에 가서는 비로소 지근과 주근의 균형이 맞추어 지는 것으로 알려져 있다(Han et al., 2013a). 산양삼의 경우 인삼에 비하여 상대적으로 낮은 성장속도를 나타내는 것으로 알려져 있는데, 그 이유는 인삼은 성장 조건을 최적화하여 재배하지만 산양삼의 경우 그렇지 않기 때문에 조건이 부적합한 경우 생장이 더딘 경향이 있다.

일반 성분

연근별 산양삼의 일반성분 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 연령이 증가함에 따라 수분함량이 낮아졌지만, 조지방과 조단백질의 함량은 증가 하였다. 조지방과 조단백질 함량은 7년근에서 가장 높게 나타났고 뒤를 이어 5년근, 3년근 순으로 나타났으며, 3년근과 5년근간의 유의적 ($p < 0.05$) 차이는 없는 것으로 나타났다. 회분 함량은 연근에 따라 유의적($p < 0.05$) 차이가 나타나지 않았다. 이는 인



Fig. 1. Morphology of cultivated wild *Panax ginseng* by age.

삼이 성장하면서 인삼의 동체중심부 즉 목부가 비후되고, 동시에 단백질 생합성량도 함께 증가되어 조단백질 함량이 증가한다는 결과(Yang et al. 2006)와 유사한 경향을 나타내었다.

추출 수율 및 조사포닌 함량

연근별 산양삼을 환류 추출 했을 때의 추출 수율은 Table 2와 같다. 추출 수율은 5년근에서 가장 높았고, 7년근, 3년근 순으로 나타났다. 조사포닌 함량의 경우 3년근과 5년근의 유의차($p < 0.05$)는 없었고 7년근의 조사포닌 함량이 상대적으로 낮게 나타났다. 산양삼의 추출 수율과 조사포닌 함량은 연근에 따라 상관관계를 가지지 않는 것으로 나타났다. 조사포닌 함량이 연령이 증가함에 따라 감소하는 것은 사포닌 성분이 낮은 연령근에서 가장 많이 생합성이 이루어 지기 때문이며, 연령이 증가하면서 중량이 증가하는 것에 비례하지 않고 인삼 사포닌이 크게 증가 하지 않기 때문에 이러한 변화가 나타난다고 보고(Lee et al., 2004)와 일치하는 결과를 나타내었다. 또한 인삼의 직경이 증가 할 수록 목질부의 부피가 피층보다 크기 때문에 ginsenoside 함량은 감소하고(Li et al., 2009), 근 직경이 작을수록 ginsenoside 함량이 증가한다고 보고(Han et al., 2013b)된 바 있다.

Ginsenosides

산양삼의 연근별 ginsenoside profile과 함량을 각각 Fig. 2 및 Table 3에 나타내었다. Fig. 2의 ginsenoside profile은 연근에 따라 큰 차이가 나타나지 않는 것으로 분석되었으며, 본 연구에서 분석한 ginsenoside는 총 11종으로 모든 ginsenoside들이 분석되지 않았으며, Table 4에 명시된 total ginsenoside는 분석된 11종의 ginsenoside 함량의 합을 나타낸다. Total ginsenoside는 7년근, 3년근 및 5년근 순으로 높은 것으로 나타났다. 특이적으로 compound K와 Rh2는 인삼에서는 발견되지 않고 산삼에만 미량 검출되는 ginsenoside로 알려져 있는데, 7년근에서 Rh2만 발견되지 않았고 나머지 시료에서는 모두 검출되었다. Fig. 2에서 볼 수 있듯이 7년근의 경우 HPLC chromatogram에서는 Rh₂의 peak이 미세하게 나타났지만 정량적으로 분석될만한 양이 아니기 때문에 검출되지 않은 것이라 판단된다. 이런 결과는 어린 연근에서 사포닌합성이 활발히 일어나고 연근의 증가함에 따라 부피의 증가가 우세하게 발생함에 따라

Table 2. Proximate component, extraction yield (%) and crude saponin contents of cultivated wild *Panax ginseng*

	Moisture content (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)	Ash (%)	Extraction yield (%)	Crude saponin content (mg/g dried ginseng)
3 years	78.04±2.26 ^{a1)}	0.83±0.14 ^b	8.77±0.14 ^b	5.04±1.43 ^a	38.29±0.17 ^c	78.57±3.25 ^a
5 years	74.47±1.43 ^{ab}	0.85±0.12 ^b	9.58±3.12 ^b	5.14±1.42 ^a	52.56±0.63 ^a	75.72±0.17 ^a
7 years	71.58±0.98 ^b	1.36±0.28 ^a	11.66±1.51 ^a	5.92±0.99 ^a	47.67±0.68 ^b	65.50±3.92 ^b

¹⁾Values with the same letter in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

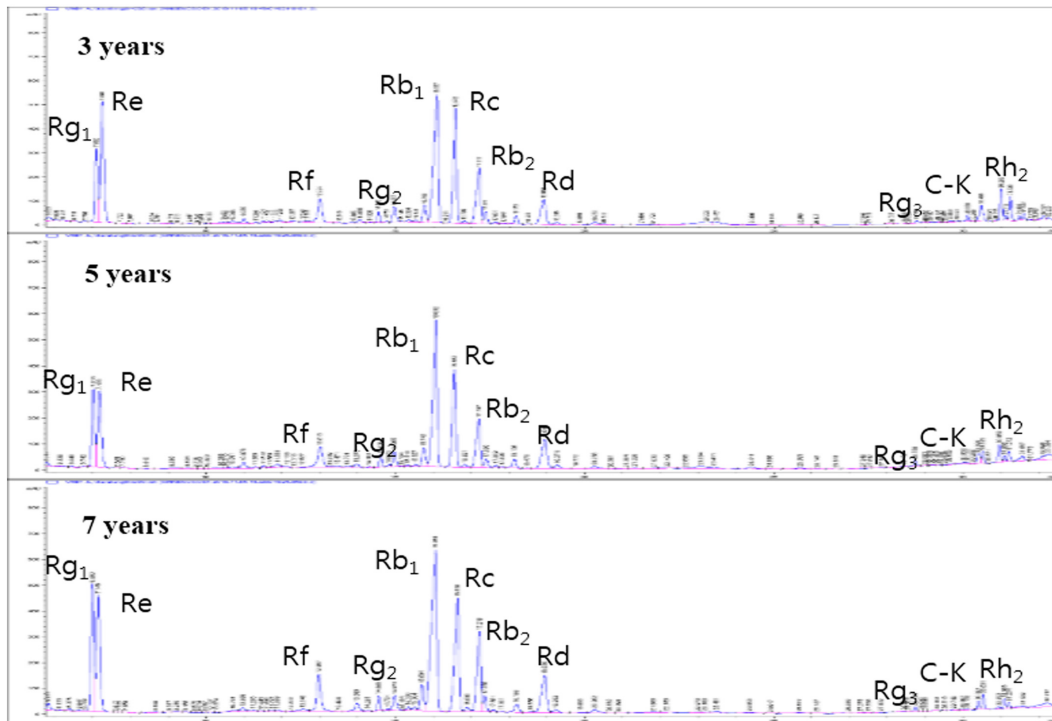


Fig. 2. HPLC chromatograms of cultivated wild *Panax ginseng* by age.

Table 3. Ginsenoside contents of crude wild *Panax ginseng* (mg/g ginseng)

	Rg ₁	Re	Rf	Rg ₂	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	Rg ₃	C-K	Rh ₂	Total
3 years	1.92±0.02 ^{c1)}	8.90±0.16 ^a	1.260±0.11 ^b	0.69±0.04 ^a	9.05±0.04 ^b	8.31±0.12 ^b	1.12±0.04 ^b	1.08±0.02 ^c	N.D. ²⁾	0.13±0.14 ^a	0.36±0.06 ^a	32.81±0.50 ^b
5 years	2.08±0.08 ^b	6.02±0.08 ^b	1.17±0.04 ^b	0.54±0.06 ^b	8.49±0.04 ^a	7.45±0.13 ^c	0.804±0.04 ^a	1.18±0.04 ^b	N.D.	0.05±0.01 ^a	0.29±0.09 ^b	28.09±0.42 ^c
7 years	3.22±0.09 ^a	7.85±0.20 ^c	1.72±0.10 ^a	0.70±0.04 ^a	12.67±0.04 ^a	10.26±0.23 ^a	1.27±0.04 ^a	1.44±0.05 ^a	N.D.	0.05±0.03 ^a	N.D.	39.19±0.90 ^a

¹⁾Values with the same letter in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

²⁾N.D. = Not Detected

중량대비 compound K와 Rh₂의 함량이 낮아졌기 때문으로 생각된다(Lee et al., 2004).

추출방법에 따른 추출 수율, 조사포닌 함량 및 ginsenoside 추출방법에 따른 추출 수율, 조사포닌 함량 및 ginsenoside 차이를 알아보기 위해 3년근 산양삼을 이용하여 환류추출과 상온추출과의 차이를 비교하였다. 산양삼의 추출방법에 따른 추출 수율과 조사포닌 함량을 Table 4에 나타내었다. 환류 추출한 산양삼의 추출 수율이 38.29%로 나타났고, 상온 추출한 산양삼의 추출 수율은 이보다 유의적($p < 0.05$)으로 낮은 24.16%로 나타났다. 이러한 차이는 환류 추출의 경우 상온추출에 비하여 장시간 동안 진행되기 때문인 것으로 판단된다. 또한 추출과정에서 환류 추출은 비교적 높은 온도에서 이루어지는 반면 상온추출은 낮은 온도에서 이루어지기 때문에 환류 추출의 경우 열에 의해 많은 성분들이 용매로 이행이 되기 때문에 더 높은 추출 수율을 나타냈을 것으로 생각된다. 조사포닌 함량 역시 환류 추출한 3년근 산양삼에서 78.57 mg/g dried ginseng로 상온

Table 4. Effect of extraction method on extraction yield and crude saponin contents

	Extraction yield (%)	Crude saponin contents (mg/g dried ginseng)
HRE ²⁾	38.29±0.17 ^{a1)}	78.57±3.25 ^a
RTE ³⁾	24.16±0.24 ^b	67.60±8.43 ^b

¹⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p < 0.05$).

²⁾HRE: heat reflux extraction

³⁾RTE: room temperature extraction

추출한 3년근 산양삼 67.60 mg/g dried ginseng 보다 유의적($p < 0.05$)으로 높은 함량을 나타냈다.

산양삼의 추출방법에 따른 ginsenoside 함량을 Table 5에 나타내었다. Ginsenoside 함량도 추출 수율과 조사포닌 함량과 마찬가지로 compound K를 제외한 모든 ginsenoside 함량이 환류 추출한 산양삼에서 높게 나타났다. 환류 추출은 인삼의 최적의 추출방법으로 알려져 있다. 환류 추출은 비교적 높은 온도에서 장시간 이루어지는 반면 상온추출은

Table 5. Effect of extraction method on ginsenoside contents of cultivated wild *Panax ginseng*

	Rg ₁	Re	Rf	Rg ₂	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	Rg ₃	C-K	Rh ₂	Total
HRE ²⁾	1.92±0.02 ^{a1)}	8.90±0.16 ^a	1.26±0.11 ^a	0.69±0.04 ^a	9.05±0.04 ^a	8.31±0.12 ^a	1.12±0.04 ^a	1.08±0.02 ^a	N.D.	0.13±0.14 ^b	0.36±0.06	32.81±0.50 ^a
RTE ³⁾	1.67±0.07 ^b	8.12±0.35 ^b	1.11±0.05 ^b	0.47±0.04 ^b	4.91±0.24 ^b	5.01±0.26 ^b	0.64±0.04 ^b	0.36±0.03 ^b	N.D.	0.27±0.05 ^a	N.D.	25.56±0.29 ^b

¹⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p<0.05$).

²⁾HRE; heat reflux extraction

³⁾RTE; room temperature extraction

Table 6. Acidic polysaccharide, total phenolics, total flavonoids and antioxidant activity of cultivated wild *Panax ginseng*

	3 years	5 years	7 years
Acidic polysaccharide contents (mg galacturonic acid/g dry ginseng)	531.09±6.07 ^{a1)} (2,419.49±18.95 ^{a2)})	251.03±0.61 ^b (1,143.62±2.78 ^b)	153.41±0.28 ^c (698.89±1.28 ^c)
Total phenolics (mg GAE/100 g)	62.60±0.91 ^a (285.19±4.16 ^a)	58.28±0.75 ^b (228.27±2.93 ^b)	52.78±1.37 ^c (185.73±4.80 ^c)
Total flavonoids (mg CE/100 g)	18.77±1.02 ^a (85.51±4.64 ^a)	16.85±1.02 ^a (65.99±3.99 ^b)	13.26±1.24 ^b (46.64±4.35 ^c)
DPPH radical scavenging activity (mg VCE/100 g)	17.21±0.27 ^a (78.42±1.23 ^a)	12.99±0.41 ^b (50.90±1.62 ^c)	13.26±1.24 ^b (52.87±3.34 ^b)
ABTS radical scavenging activity (mg VCE/100 g)	41.90±1.64 ^a (190.89±7.49 ^a)	33.46±0.88 ^b (131.04±3.45 ^b)	34.46±2.60 ^b (121.00±9.16 ^c)

¹⁾Values with the same letter in the same line are not significantly different ($p<0.05$).

²⁾Values in parentheses are expressed in dry basis.

낮은 온도에서 짧은 시간 동안 진행하였기 때문에 환류 추출의 경우 많은 성분들이 용매로 이행되어 ginsenoside 함량이 높은 것으로 판단된다. 흥미로운 것은 compound K의 경우 상온 추출에서 유의적으로 높은 값이 나타나 상온 추출에 적합한 것으로 보이는 반면 Rh₂는 상온 추출한 산양삼의 경우 검출이 되지 않아 ginsenoside들이 추출 방법에 따라 달라지는 것을 확인할 수 있었으며 이에 대한 보완 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

산성다당체, 총 페놀, 총 플라보노이드 및 항산화능

연근별 산양삼의 산성다당체의 함량, 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량을 각각 Table 6에 나타내었다. 산성다당체의 경우 3년근에서 가장 높은 값인 531.09±6.07 mg galacturonic acid/g dry ginseng로 나타났고 5년근에서 251.03±0.61 mg galacturonic acid/g dry ginseng, 7년근에서 153.41±0.28 mg galacturonic acid/g dry ginseng로 연근에 따라 큰 폭으로 줄어든다는 것을 확인할 수 있었다. 저연근 일수록 건조 중량 당 산성다당체의 양이 많은 것은 다당체성분의 생합성량이 부피 성장보다 커서 단위 중량당 산성다당체의 양이 많은 것 때문으로 생각된다.

총 페놀 함량의 경우 3년근은 62.60±0.91 mg GAE/100 g으로 가장 높은 값을 나타내었으며 5년근 및 7년근보다 유의적($p<0.05$)으로 큰 값을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량도 총 페놀 함량과 마찬가지로 3년근이 18.77±1.02 mg CE/100 g으로 가장 높은 값을 나타내었으며 5년근 및 7년근보다 유의적($p<0.05$)으로 큰 값을 나타내었다. 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량 모두 건조무게로 환산 하였

을 때 그 차이는 더욱 커지는 것으로 나타났는데, 그 이유는 3년근의 경우 수분함량이 5, 7년근에 비하여 높기 때문인 것으로 판단된다.

연근별 산양삼의 DPPH radical 소거능 및 ABTS radical 소거능도 TPC와 TFC와 마찬가지로 3년근이 17.21±0.27 mg VCE/100 g 및 41.90±1.64 mg VCE/100 g로 가장 높게 나타났으며, 이를 건조 산양삼 기준으로 환산하였을 때 그 차이는 더욱 커졌다. 3년근 산양삼의 경우 원물과 건조물로 볼 때 항산화능에서 5년근, 7년근보다 유의적($p<0.05$)으로 큰 값을 나타내어 3년근 산양삼으로도 충분한 항산화능을 발휘할 수 있음을 확인하였다.

요 약

산양삼의 연근별 특징을 분석한 결과 3년근에서는 ginsenoside 등의 성분이 활발하게 생성되고, 연령이 늘어갈수록 부피 성장이 중점적으로 일어나는 것으로 나타났다. 또한 산성다당체 함량, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 및 항산화능 모두 3년근 산양삼이 다른 연근보다 유의적($p<0.05$)으로 높은 결과 값을 나타내었다. 결과적으로 3년근의 경우 단위 중량당 더 많은 양의 성분들을 가지고 있으므로 파종 후 장기간 재배보다는 단시간에 수확하는 것이 재배를 하는 임업인이나 제품을 개발하는 기업인 모두에게 유리 할 것으로 판단된다. 따라서 ginsenoside의 함량 및 다른 생리활성 성분들의 양으로 연근별 산양삼의 특징을 비교 할 경우 비록 부피는 작지만 가격이 싸고 개체 수가 많은 3년근을 이용하여 제품을 개발하는 것이 산업적

으로 이득이 될 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구의 결과는 평창산 산양삼에 한정된 항산화 결과로서 국내 다른 지역에서 자생하는 연근별 산양삼에 대한 세부적인 기능성 연구가 추가적으로 필요하다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 부가식품기술개발사업(과제번호: 16021032HD020)에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Ando T, Tanaka O, Shibata S. 1971. Chemical studies on the oriental plant drugs. (XXY) Comparative studies on the saponins and sapogenins of ginseng and related crude drugs. *Yakugaku Zasshi* 25: 28-32.
- AOAC, 2002. Official methods of analysis of AOAC International 17th edition, Arlington, VA, USA.
- Bae MJ, Kim SJ, Ye EJ, Nam HS, Park EM. 2009. Antioxidant activity of tea made from Korean mountain-cultivated leaves and its influence on lipid metabolism. *Korean J. Food Culture* 24: 77-83.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30.
- Byeon SE, Yi YS, Oh J, Yoo BC, Hong S, Cho JY. 2012. The role of Src kinase in macrophage-mediated inflammatory responses. *Mediators Inflamm.* 2012.
- Do JH, Lee HO, Lee SK, Jang JK, Lee SD, Sung HS. 1993. Colorimetric determination of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, its extraction condition and stability. *Korean J. Ginseng Sci.* 17: 139-144.
- Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. 1954. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 119: 623-626.
- Han JS, Tak HS, Lee GS, Kim JS, Woo RJ, Choi JE. 2013a. Comparison of ginsenoside content and ratio of root tissue according to root age and diameter in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean J. Med. Crop Sci.* 21: 342-347.
- Han JS, Tak HS, Lee KS, Kim JS, Choi JE. 2013b. Comparison of ginsenoside content according to age and diameter in *Panax ginseng* C. A. Meyer cultivated by direct seeding. *Korean J. Med. Crop Sci.* 21: 184-190.
- Jang HY, Park HS, Kwon KR, Rhim TJ. 2008. A study on the comparison of antioxidant effects among wild ginseng, cultivated wild ginseng, and cultivated ginseng extracts. *J. Pharmacopuncture* 11: 67-78.
- Kang KS, Yamabe N, Kim HY, Park JH, Yokozawa T. 2008. Therapeutic potential of 20(S)-ginsenoside Rg(3) against streptozotocin-induced diabetic renal damage in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 591: 266-272.
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.* 81: 321-326.
- Kim JH, Kim JK. 2005. Effect of extracting conditions on chemical compositions of Korean mountain ginseng extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 862-868.
- Kim KT, Yoo KM, Lee JW, Eom SH, Hwang IK, Lee CY. 2007. Protective effect of steamed American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) on V79-4 cells induced by oxidative stress. *J. Ethnopharmacol.* 111: 443-450.
- Lee CR, Whang WK, Shin CG, Lee HS, Han ST, Im BO, Ko SK. 2004. Comparison of ginsenoside composition and contents in fresh ginseng roots cultivated in Korea, Japan, and China at various ages. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 847-850.
- Lee HJ, Yoo BS, Byun SY. 2000. Differences in free amino acids between Korean ginsengs and mountain ginsengs. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 323-328.
- Li XG, Kang SJ, Han JS, Kim JS, Choi JE. 2009. Effects of root diameter within different root parts on ginsenoside composition of Yunpoong cultivar in *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean J. Med. Crop Sci.* 17: 452-457.
- McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244: 6049-6055.
- Namba T, Yoshizaki M, Tomimori T, Kobashi K, Mitsui K. 1974. Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs. 3. Chemical and biochemical evaluation of ginseng and related crude drugs (author's transl). *Yakugaku Zasshi* 94: 252-260.
- Pan HY, Qu Y, Zhang JK, Kang TG, Dou DQ. 2013. Antioxidant activity of ginseng cultivated under mountainous forest with different growing years. *J. Ginseng Res.* 37: 355-360.
- Shin JY, Song JY, Yun YS, Yang HO, Rhee DK, Pyo S. 2002. Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of *Panax ginseng* on macrophage function. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 24: 469-482.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 299: 152-178.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39: 44-84.
- Yang BW, Im BO, Ko SK. 2006. Comparison of non-saponin composition and contents in fresh ginseng roots cultivated in different areas and at various ages. *Yakhakhoe Chi.* 50: 215-219.
- Yoo BS, Lee HJ, Byun SY. 2000. Differences in phenolic compounds between Korean ginseng and mountain ginseng. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 15: 120-124.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64: 555-559.