

## 인삼의 사포닌 함량 비율 조절과 효능평가

김 성 수  
한국식품연구원

### I. 서 언

인삼의 종류에 따라서 인삼 사포닌의 구성성분은 2~20% 정도 차이가 나타난다. 한국삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 다른 인삼종에 비해 가장 많은 종류의 사포닌이 분리되었으며 사포닌 성분 함유 조성 패턴에 차이가 있다. 미국삼의 경우 protopanaxadiol(PD) ginsenoside가 현저히 많고 protopanaxatriol(PT) ginsenoside가 적은 반면 고려인삼의 경우 이들 ginsenoside 함유조성이 균등한 편이다.

한국삼 ginsenoside는 PD(Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rg3, Rh2 etc)와 PT(Rc, Rg1, Rg2, Rh1 etc)로 나눌 수 있으며 인삼종류별, 생산지별, 연근별, 가공처리방법에 따라 차이가 있으며 생리활성이 서로 다르게 나타난다. PD/PT 분리·분획 및 비율조절 기술은 -OH 수에 따라 구분된 PD와 PT계열의 생리활성은 서로 다르나 이들 소재화를 위한 새로운 분리 및 비율조절 기술은 아직도 미흡하다. 인삼의 품질관리 강화를 위한 품질평가에서도 현행 인삼 품질은 외관, 섹택, 조직의 치밀도, 표피, 수분함량 등 물리적 요인에 의한 외부품질이 주된 평가요소이며, 인삼효능에 대한 품질평가요소 개발과 기준 정립이 시급히 요구된다. 또한 인삼 Ginsenoside 각각의 단일성분의

생리활성연구는 다양하나, 각 성분의 혼합효과나 시너지효과 및 비율조절에 따른 연구는 거의 이루어지지 않았다.

수삼의 대부분의 무게와 길이를 동체 부위에서 37.7% 차지하고 있었다. 4년근과 6년근 백삼의 조사포닌 함량은 동체, 지근, 세근 각각 1.65%, 3.11%, 5.98%으로 세근의 조사포닌 함량이 가장 높았다. 총 사포닌 함량도 큰 차이는 없으나, 1.51%, 2.25%, 5.02%로 가장 높은 함량은 부위별로 볼 때 세근에서 가장 높은 수치를 보였다. PD/PT비율에서 세근의 비율이 증가함에 따라 전체적인 조사포닌과 총 사포닌의 비율이 증가하였다. PD/PT의 비율에서 4년근 세근에서 가장 높은 함량을, 4년근 동체에서 가장 낮은 함량을 보였다. PD/PT 비율별 조사포닌 함량은 PD/PT=1은  $2.24 \pm 3.15$ , PD/PT=2는  $5.35 \pm 2.37$ 로서 PD/PT비율의 조절이 가능하였다. PD/PT비율별 시료의 이화학적 시험결과 모두 식품공전에 적합한 값으로 나왔다.

각각의 PD/PT비율별 인삼시료의 처리가 지방세포 분화에 미치는 영향을 조사한 결과 농도 의존적으로 3T3-L1의 지방세포 분화를 유의하게 억제하는 것으로 나타났다. 3T3-L1 지방세포에서 PD/PT비율별 포도당 흡수율 측정된 결과 R1, R2, R3 모두 insulin 보다는 낮지만 glucose uptake을 증가시켰으며 그 중 R2(PD/PT=1.5)가 가장 높았다.

고 콜레스테롤 식이에 의한 체중증가 억제와 식이효율의 증가가 PD/PT=1군에게서 유의하게 나타났으며, PD/PT=2군에서는 고 콜레스테롤 식이에 의해 발생한 간 손상에 대한 보호효과에 있어서 유의한 영향을 나타내었다.

### 1. 인삼의 형태별 분석

수삼의 대부분의 무게와 길이를 동체 부위에서 37.7% 차지하고 있었다. 4년근 수삼은 동체의 길이가 54.99±13.38mm로 전반적으로 6년근 동체에 비해 길이가 길게 측정되었다. 지근의 경우는 6년근과 크게는 차이가 나지 않아 4년근에서 6년근으로 갈수록 길이보다는 전체적으로 동체나 지근의 무게와 지름이 증가하는 것을 확인할 수가 있었다. 4년근에서 미삼(세근) 부분의 함량이 6년근에 비해 비교적 많을 것으로 보이며, Park 등의 연구에 의하면 부위별로 구분지어 saponin의 함량을 측정했을 경우 미삼의 사포닌 함량이 동체나 지근에 비해 높아 6년근에 비해 사포닌 함량이 더 높을 것으로 보인다.

표 1. 국내산 수삼의 연근별, 부위별 형태 분석

년근	항 목	전체 길이	전체 무게	동 체			지 근			세 근	뇌 두	
		mm	g	길이 (mm)	지름 (mm)	무게 (g)	길이 (mm)	지름 (mm)	무게 (g)	무게 (g)	길이 (mm)	무게 (g)
6년근	mean	313.3	62.7	52.52	27.7	30.9	229.0	15.2	14.76	10.11	26.1	5.76
	±S.D.	±51.7	±13.78	±16.48	±2.63	±8.29	±51.0	±3.01	±8.08	±4.34	±7.40	±1.50
4년근	mean	295.5	46.24	54.99	25.44	25.16	220.5	12.14	9.59	7.02	19.99	3.80
	±S.D.	±39.4	±7.13	±13.38	±1.96	±4.79	±40.5	±2.47	±4.42	±2.94	±3.96	±0.75

### 2. 시료 조제 및 조사포닌·총사포닌 함량

#### 2-1. 백삼의 조사포닌·총사포닌 함량

4년근 백삼의 조사포닌 함량은 동체, 지근, 세근 각각 1.654%, 3.110%, 5.982%으로 세근의 조사포닌 함량이 가장 높았다. 총사포닌 함량도 큰 차이는 없으나, 1.512%, 2.247%, 5.018%로 가장 높은 함량은 부위별로 볼 때 세근에서 가장 높은 수치를 보였다. 6년근 백삼의 조사포닌 함량은 동체, 지근, 세근 각각 1.790%, 2.374%, 5.900%이었고, 총사포닌 함량은 1.183%, 1.901%, 5.081%,를 나타냈다.

표 2. 백삼의 연근별, 부위별 조사포닌·총사포닌 함량

단위 : 건물중(%)

	백삼(4년근)			백삼(6년근)		
	동체	지근	세근	동체	지근	세근
조사포닌 함량	1.654	3.110	5.982	1.790	2.374	5.900
총사포닌 함량	1.512	2.247	5.018	1.183	1.901	5.081

### 2-2. 홍삼의 조사포닌·총사포닌 함량

전체적으로 홍삼의 조사포닌과 총사포닌의 함량이 높게 나타났으며 부위별로는 세근의 함량이 가장 높은 결과를 보였다. 또한 연근별로는 백삼·홍삼 모두에서 4년근이 높은 조사포닌 함량을 나타내었다.

표 3. 홍삼의 연근별, 부위별 조사포닌·총사포닌 함량

단위 : 건물중(%)

	홍삼(4년근)			홍삼(6년근)		
	동체	지근	세근	동체	지근	세근
조사포닌 함량	4.435	5.035	7.675	5.025	5.340	6.980
총사포닌 함량	2.518	3.574	5.722	2.778	3.420	5.343

### 2-3. 4년근 백삼과 홍삼의 연근별/비율별 총사포닌 함량

세근의 비율이 증가함에 따라 전체적인 조사포닌의 비율이 상승하고 있음을 알 수 있었다. 또한 총사포닌의 함량 역시 조사포닌의 함량과 마찬가지로 동체와 세근의 비율이 1:1, 1:2, 1:4로 세근의 비율이 증가할수록 증가하였다. 동체의 비율이 증가할수록 조사포닌과 총사포닌의 함량은 감소하였다. 홍삼에서의 총사포닌 함량도 4년근에서 더 높게 나타났고 동체나 지근보다는 세근에서 보다 높은 함량을 나타내고 있었다.

표 4. 4년근 백삼과 홍삼의 연근별/비율별 총사포닌 함량

단위 : 건물중(%)

	백삼 - 4년근			홍삼 - 4년근		홍삼 - 6년근	
	지근:세근	동체:지근	동체:세근	동체:세근	동체:세근	동체:세근	동체:세근
비율별	3:1	1:2	1:4	1:4	4:1	1:4	4:1
총사포닌함량	3.286	2.040	4.676	5.225	3.250	5.033	3.523

### 3. 사포닌 정성분석:TLC

그림 1에서 ①은 Ginsenoside 표준품 Rf값에 따라 Ginsenoside 개별성분들이 전개된 모습을 보여준다. ② 백삼시료의 경우, spot한 지점으로부터 순차적으로 전개되어 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rh1 등으로 구분되어졌다. 백삼시료와는 달리 그림 5-③ 홍삼시료의 TLC 결과는 백삼시료의 결과보다 추가로 몇 개의 spot을 알아보았다. 이 지점은 (20R)-Rg3, (20S)-Rg3와 Rh2, Rh1 등의 홍삼 특유 성분들이 검출되는 것도 확인할 수 있었다.

그림 2의 결과로 백삼시료 중 4년근 세근과 6년근 세근의 값이 더 진한 것으로 보여진다. 그리고 홍삼에서도 4년근 세근과 6년근 세근의 색이 더 진하고 확실하게 나온 것으로 관찰되며, 사포닌 함량에서도 세근에서도 높게 나타날 것이다.

### 4. Ginsenosides 조성분석

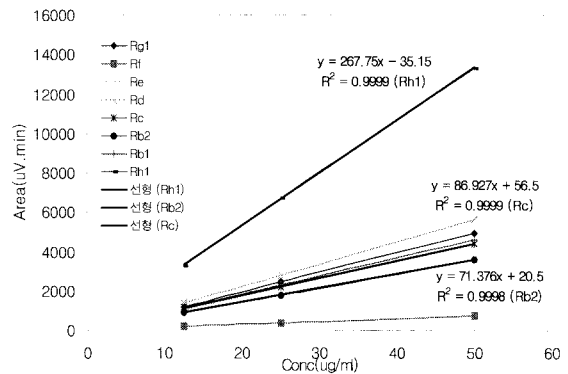


그림 3. 백삼의 Ginsenoside 표준물질 표준곡선

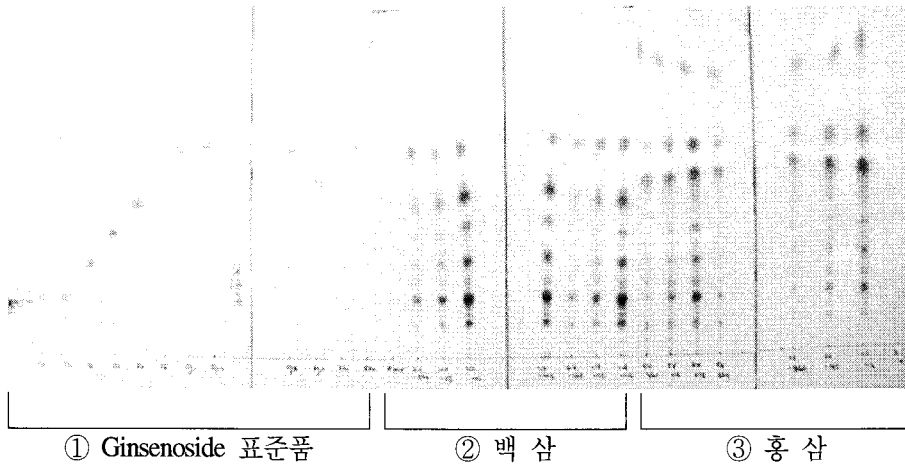


그림 1. Ginsenoside 표준품과 백삼, 홍삼의 TLC 비교결과

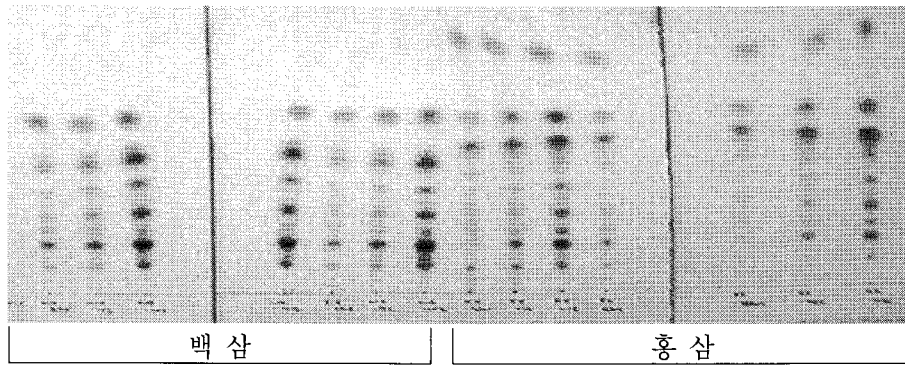


그림 2. 백삼과 홍삼의 Ginsenoside 표준품의 TLC결과 (시료 물질 중심으로)

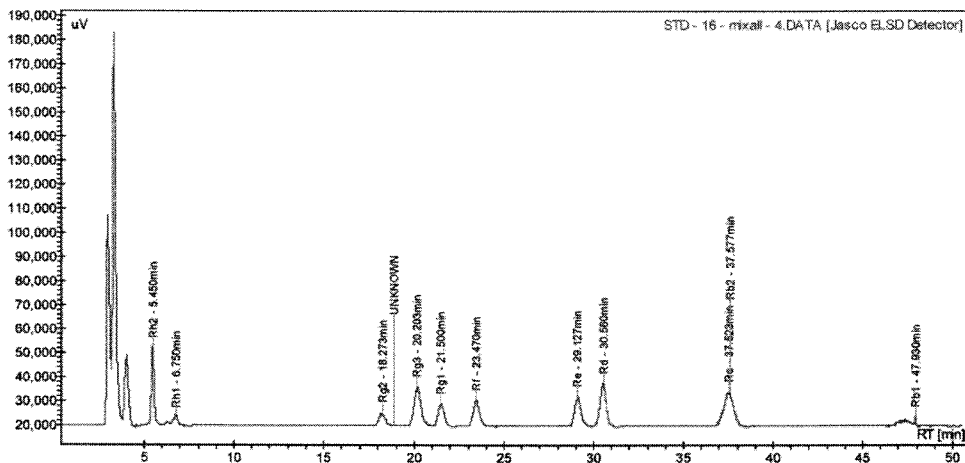


그림 4. 인삼사포닌 분석을 위한 Prevail 컬럼을 이용한 고속액체크로마토그램  
(11개 Ginsenoside 표준물질) 0.8ml/min, ELSD, A solvent - ACN:D.W:IPA (80:5:15) / B solvent - ACN:D.W:IPA = (67:21:12)

표 5. 백삼의 연근별, 부위별 Ginsenoside 함량 비교

단위 : 건물 중(%)

Area(uV.min)	Rg1	Rf	Re	Rd	Re	Rb2	Rb1	
4년근	동체	0.412	0.053	0.135	0.025	0.125	0.094	0.175
	지근	0.414	0.076	0.292	0.090	0.247	0.227	0.292
	세근	0.224	0.109	0.804	0.293	0.717	0.687	0.777
6년근	동체	0.226	0.035	0.088	0.017	0.102	0.076	0.134
	지근	0.391	0.061	0.222	0.028	0.195	0.148	0.260
	세근	0.347	0.118	0.828	0.206	0.720	0.624	0.919

Rg1의 함량은 4년근 백삼의 지근에서 0.414%로 가장 크게 나타났다. Re는 다른 물질들에 비해 상대적으로 높은 수치를 보였다. 4년근 백삼 세근은 Rc, Rb2, Rb1과 Re에서 다른 표준물질들에 비해 높은 함량을 나타냈다.

표 7. 4년근 백삼 동체/세근의 비율별 PD/PT 함량 비교

단위 : Area(uV · min)

4년근	동체/세근	PT	PD	PD/PT
	1 : 1	687657.3	1093072.5	1.589
	1 : 2	1228404.3	2098211.4	1.708
	2 : 1	834567.6	1181006.1	1.415
	1 : 3	1769151.3	3103350.3	1.754
	3 : 1	981477.9	1268939.7	1.293
	1 : 4	2309898.3	4108489.2	1.778
	4 : 1	1128388.2	1356873.3	1.202
	1 : 5	2850645.3	5113628.1	1.794
	5 : 1	1275298.5	1444806.9	1.133
	1 : 6	3391392.3	6118767	1.804
	6 : 1	1422208.8	1532740.5	1.078
	7 : 1	1569119.1	1620674.1	1.032
	1 : 7	3932139.3	7123905.9	1.812
	8 : 1	1716029.4	1708607.7	0.996
	1 : 8	4472886.3	8129044.8	1.817
	9 : 1	1862939.7	1796541.3	0.964
	1 : 9	5013633.3	9134183.7	1.822
	10 : 1	2009850	1884474.9	0.937
	1 : 10	5554380.3	10139323	1.825

### 5. PD/PT비율별의 차이 비교

표 6. 백삼의 연근별, 부위별 PD/PT 함량 비교

단위 : Area(uV · min)

	PT	PD	PD/PT	
4년근	동체	0.600	0.419	0.699
	지근	0.782	0.856	1.095
	세근	1.137	2.473	2.176
6년근	동체	0.350	0.329	0.942
	지근	0.674	0.631	0.937
	세근	1.293	2.469	1.910

PD/PT의 비율에서 4년근 세근에서 가장 높은 함량을, 4년근 동체에서 가장 낮은 함량을 보였다.

표 8. 4년근 백삼 동체/지근, 지근/세근의 비율별 PD/PT 함량 비교

단위 : Area(uV · min)

4년근	동체/지근	PT	PD	PD/PT
	1 : 1	317647.68	286872.67	0.903
	1 : 2	488385.06	485811.74	0.995
	2 : 1	464557.98	374806.27	0.807
	1 : 3	659122.44	684750.81	1.039
	3 : 1	611468.28	462739.87	0.757
	1 : 4	829859.82	883689.88	1.065
	4 : 1	758378.58	550673.47	0.726
	1 : 5	1000597.2	1082629	1.082
	5 : 1	905288.88	638607.07	0.705
	지근/세근	PT	PD	PD/PT
	1 : 1	711484.38	1204078	1.692
	1 : 2	1252231.4	2209216.9	1.764
	2 : 1	882221.76	1403017	1.590
	1 : 3	1792978.4	3214355.8	1.793
	3 : 1	1052959.1	1601956.1	1.521
	1 : 4	2333725.4	4219494.7	1.808
	4 : 1	1223696.5	1800895.2	1.471
	1 : 5	2874472.4	5224633.6	1.817
	5 : 1	1394433.9	1999834.3	1.434

지근의 비율이 증가할수록 PD/PT의 비율이 1.0을 넘어섰으며, 동체의 비율이 감소할수록 PD/PT의 비율이 0.7정도로까지 감소하는 것을 알 수 있었다. 지근의 비율이 증가할수록 PD/PT의 비율이 1.6-1.41로 점차 감소하였으며, 세근의 비율이 증가할수록 PD/PT의 비율이 1.6-1.81 정도까지 감소하였다.

표 9. PD/PT 비율별 수율함량

PD/PT ratio	Yield
1	59.3%
1.5	60.8%
2	72.35%

### 6. PD/PT조절 비율별 시료조제

시료의 PD/PT 비율별 수율은 표9, 조사포닌 함량은 표10과 같다.

표 10. PD/PT조절 비율별 조사포닌 함량

PD/PT ratio	Crude saponin (%)
PD/PT=1	2.24±3.15
PD/PT=2	5.35±2.37

**7. PD/PT비율별 시료의 이화학적 분석시험**

표 11. PD/PT비율별 시료의 이화학적 분석시험 결과

항 목	유 형	PD/PT=1 시료농축액	PD/PT=2 시료농축액
인삼성분(mg/g)		70mg/ml	80mg/ml
고형분(%)		65.1	66
수분(%)		-	-
카라멜색소		0	0
내용량(%)		98.1	98
물불용성 침전물(%)		1.9	1.8
세균수		87/g	76/g
대장균군		음성	음성

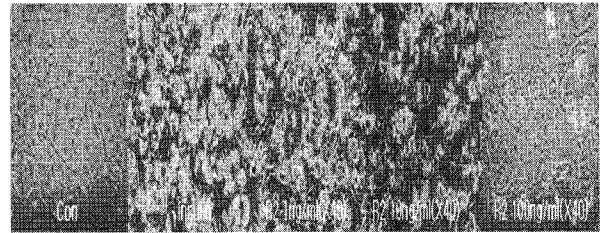


Fig. 5. Representative picture of the effect of R2(PD/PT ratio : 1.5) on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells.

분화된 지방의 정량분석을 위해 세포내 축적된 지방을 isopropyl alcohol에 용해시킨 후 450 nm에서 ELISA reader를 이용하여 총지방산 (Total lipids) 함량을 측정된 결과는 Fig.6과 같다.

**8. 인삼의 PD/PT 비율별 세포독성 및 인슐린 감수성의 변화구명**

**9-1. 3T3-L1세포의 인슐린 저항성(insulin resistance)유도 및 지방분화**

전지방세포주는 상기조건에서 48시간동안 배양 후, 분화배지 (10% FBS, 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine, 1 uM dexamethason, 1 ug/ml insulin, 1% streptomycin/penicillin첨가된 DMEM)로 교체하여 배양하였다. 지방세포로의 분화촉진을 유도하기 위해 1 ug/ml insulin 이 포함된 DMEM배지로 48시간동안 배양하고 이후 10% FBS가 포함된 DMEM배지로 교환하였다. 2일 주기로 세포배지를 교환하며 10-12일 동안 배양하고 인슐린 저항성 유도 및 지방세포로의 분화를 유도하였다. 세포관찰은 광학현미경(Olympus, Japan)을 이용하였고, 지방세포로 분화된 3T3-L1의 세포 내에 축적된 지방은 oil red로 염색하여 세포의 형태학적 변화를 확인하였다. 또한, 각각의 PD/PT비율별 인삼시료의 처리가 지방세포 분화에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 5와 같이 각각의 PD/PT비율별 시료는 농도 의존적으로 3T3-L1의 지방세포 분화를 유의하게 억제하는 것으로 나타났다(Fig5, 6).

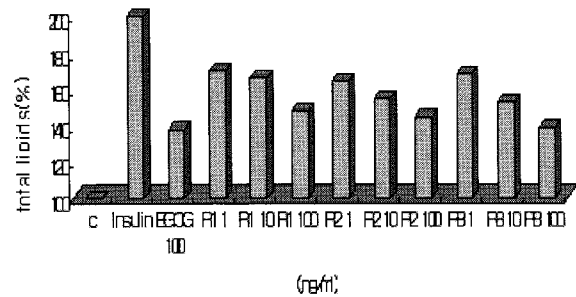


Fig. 6. A dose-dependent inhibition of R1, R2 and R3 on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. (PD/PT ratio: 1=R1, PD/PT 1.5=R2, PD/PT 2=R3)

**9-2. 3T3-L1 지방세포에서 PD/PT비율별 포도당 흡수율 측정**

상기조건에 따라 지방세포로 완전히 전환된 후 포도당 흡수율을 측정하였다. 배양용기에 있는 지방세포의 수를 세어 12well plate의 well에 빈 공간 없이 완전히 채울 수 있도록 분주하였다. Well plate에 옮긴 지방세포를 PBS로 세척한 후 1% bovine serum albumin과 저농도의 포도당을 함유한 DMEM에서 12시간 지난 후에 HEPES용액에서 37°C에서

30분 동안 배양하였다. 1 $\mu$ Ci/ml의[14C]2-deoxyglucose와 1mM 포도당을 첨가하고 22 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 배양한 후 포도당의 세포내로의 섭취정도를 14C이 세포내로이동한 양으로 측정한 결과는 Fig. 7과 같다.

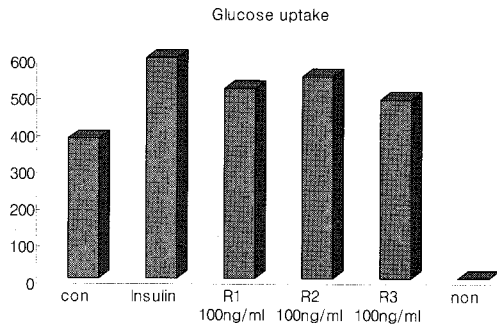


Fig. 7. Effect of expression of R1, R2 and R3 on 2-DOG uptake in 3T3-L1 adipocytes. (PD/PT ratio: 1=R1, PD/PT 1.5=R2, PD/PT 2=R3)

R1, R2, R3 모두 Insulin 보다는 낮지만 Glucose uptake을 증가시켰으며 그 중 R2(PD/PT=1.5)가 가장 높았다.

### 9. 인삼의 PD/PT비율에 따른 항동맥경화성 및 피로회복 효과규명

- (1) 인삼의 동체, 지근, 세근의 추출부위에 따른 PD/PT 비율조절 효과는 고콜레스테롤 식이에 의한 체중증가 억제와 식이효율의 증가가 PD/PT=1군에게서 유의하게 나타났으며, PD/PT=2군에서는 고콜레스테롤 식이에 의해 발생한 간 손상에 대한 보호효과에 있어서 유의한 영향을 나타냄.
- (2) 지질수치 개선효과에 있어서 PD:PT 비율조절이 각 조직에서 TG와 TC 함량을 유의하게 감소시켰으며, 혈장의 HDL-C 농도를 유의하게 증가시킴. 혈장에서는 PD/PT=1군이, 심장조직에서는 두 인삼투여군 모두가 유의한 영향을 줌.
- (3) 고콜레스테롤 식이는 E(-)군의 LPO 생성을 유의하게 증가시켰으며, 인삼 처치로 인해 LPO 생성이 모두 감소되었는데, PD/PT=1군은 혈장과 간 조직에서 유의한 감소를 보였으며 PD:PT=2군은 혈장과 심장조직에서 유의한 감소를 나타냈음.
- (4) 인삼투여군 모두에서 인슐린 수용체 발현이 증가되었으며, IRS-1의 세린 잔기 인산화를 억제시켜 인슐린 저항성 개선효과를 나타냄. 인슐린 저항성과 관련되어 PD/PT=1군과 PD/PE=2군은 Insulin Receptor- $\beta$  발현을 증가시켜주었고, Phospho-IRS-1(ser612) 발현을 억제시켜주었는데, 이로 인해 PD/PT=1군이 인슐린 저항성 개선에 더 효과적임을 확인함.
- (5) 염증반응의 주요 원인 물질인 NF-kB 발현이 PD/PT=1과 PD/PT=2에서 모두 큰 억제가 나타난 것을 통해 이들이 항동맥경화에 있어서도 유의한 영향을 줄 것이라 기대됨.
- (6) PD:PT 비율에 따른 인삼 투여가 미토콘드리아 내의 세포 자가사멸을 억제시켜주지는 못하였으나, caspase-8,9 및 cleave-PARP 발현 억제와 함께 bcl-2 발현을 증가시켜 세포질에서 발생하는 세포의 자가 사멸 억제에 매우 효과적이라는 것을 알 수 있음.
- (7) 친 세포사멸기전에 관여하는 COX-1, COX-2, cytochrome C, caspase-3,8,9, c-PARP의 발현은 cytochrome C와 caspase-3을 제외하고 모두 억제되었으며, PD/PT=2군의 억제효과가 크게 나타남.
- (8) 항 세포사멸기전에 관여하는 bcl-2의 경우 PD/PT 비율조절에 의해 발현이 증가하였으며, 특히 PD/PT=1군이 더 큰 증가를 나타냄.
- (9) 염증반응에서도 친 염증물질은 NF-kB와 p-IkK- $\alpha$  발현 억제에는 PD/PT=2군이 효과적



이었고, 항 염증물질인 Ikb-a 발현 증가에는 PD/PT=1군이 효과적으로 나타남.

- (10) PD/PT=1군이 심장 조직의 괴사 정도를 유의하게 감소시켰으며, 정상세포의 빈도가 높았음을 통해 PD/PT=1에 의한 bcl-2 발현 증가에 의한 심혈관계개선 효과에 의한 것이라고 생각해 볼 수 있으며, 심장 조직의 괴사를 유의하게 억제시켜줌으로써 심혈관계질환 개선효과가 뛰어남을 알 수 있음.
- (1) PD/PT 2군의 운동지속능력이 가장 많이 향상되었다. 운동과 인삼추출물의 투여가 운동지속시간에는 긍정적인 효과가 있음이 확인되었다.
- (2) 각 군 간의 체중변화와 soleus, gastrocnemius, flexor hallucis longus, plantaris 근육의 무게 변화에는 식이 및 운동에 따른 유의한 차이가

나타나지 않았다. 즉, 중년 이상의 흰쥐에서 근육의 형태학적 조성도와 크기에는 인삼과 운동이 큰 영향을 주지 않았다.

- (3) 운동을 하거나 인삼을 투여한 군에서 모두 유산소성 대사관련 효소의 활성이 증가하였다. 그러나 운동과 인삼 투여 간에는 유의한 차이가 없었다. 이는 운동의 효과가 충분히 나타났으나, 인삼투여가 그 효과에 추가적인 효과를 나타내지는 못한 것으로 사료된다.
- (4) 혈액 성분 중 TG의 농도가 인삼투여와 운동 복합 실시 군에서 저하되었다. 이는 혈액성분에 대한 긍정적인 효과로 판단된다.
- (5) 산화스트레스 관련 효소에 대한 유전자발현의 경우, 각 효소들이 특이적으로 반응하여 일관된 과정과 기전에 의해서 작용되지 않음을 보여주었다.