

산양삼의 품질특성 및 항산화 활성에 미치는 영향

강경명¹ · 이진영¹ · 김명욱² · 이신호³

¹(주)위드네이처

²경북해양바이오산업연구원

³대구가톨릭대학교 식품공학과

Effects of Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Korean Cultivated Wild Ginseng Extract

Kyoung-Myoung Kang¹, Jin-Young Lee¹, Myung-Uk Kim², and Shin-Ho Lee³

¹R&D Center, WITHNATURE Co., Ltd.

²Gyeongbuk Institute for Marine Bio-Industry

³Department of Food Science & Technology, Catholic University of Daegu

ABSTRACT In this study, we investigated the nutritional and functional constituents as well as quality characteristics and antioxidant activity of Korean cultivated wild ginseng (KG). The chemical compositions and amino acid content of KG were 7.56% water, 73.01% carbohydrates, 12.58% protein, 1.99% lipids, and 5.54% ash as well as 16.17 mg/g of amino acids, respectively. The major ginsenoside and minor ginsenoside contents of KG were 15.94 mg/g and 0.04 mg/g, respectively. The total polyphenol and flavonoid contents of KGE (Korean cultivated wild ginseng with 70% ethanol extract) were 8.93 mg GAE/g and 3.96 mg RHE/g, respectively. KGE also showed higher antioxidant activity than the other extracts (KGW, Korean cultivated wild ginseng with water extract) with regard to DPPH and ABTS radical scavenging activities (57.75% and 70.73%, respectively), nitrite oxide scavenging activity (44.01%), SOD-like activity (78.05%), reducing power activity (1.08 OD_{700 nm}), and ferrous ion-chelating activity (65.33%). Additionally, KGE had higher elastase, collagenase, and tyrosinase inhibition activities than KGW. These results suggest that KGE can be used as a bioactive and functional material in the food industry.

Key words: Korean cultivated wild ginseng, ginsenoside, antioxidant, functionality, phenolic compounds

서 론

인간은 호흡과정에서 노화 및 질병의 원인이 되는 라디칼 등의 활성산소를 생성하며, 인체는 체내 산화를 방어할 수 있는 다양한 항산화 물질을 생성하여 항상성을 유지한다. 그러나 체내 항산화 체계는 다량의 산화물을 모두 방어할 수 없으므로 항산화제를 추가 섭취하여 체내 산화를 막는 것은 노화 방지 및 질병 예방에 매우 중요하다. 기존에는 효과가 빠른 합성 항산화제가 많이 사용되었으나, butylated hydroxytoluene과 butylated hydroxyanisole 등의 합성 항산화제의 발암성, 변이원성 등이 알려지면서(1), 식물의 2차 대사산물을 이용한 천연 항산화제 개발이 왕성하게 진행되고 있다. 특히 약용식물의 약리 효과는 항산화 효과로 설명되기도 하며(2), 약용식물이 일반식이 과채류보다 항산화 효

과가 우수한 경향을 보이므로(3), 천연 항산화제를 개발하기 위하여 다양한 민간·전통 약용식물들의 항산화 효과를 분석하는 것은 매우 중요하다.

산양삼(Korean cultivated wild ginseng, KG)은 오가피나 무과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*) 식물에 속하는 다년생 반음지성 속근초로서 한국, 중국, 일본을 비롯한 동아시아와 러시아를 비롯한 유럽에서까지 뿌리를 식용 또는 약용으로 이용하여 왔다(4). 이러한 산양삼은 천연 산삼의 종자를 산림 내에 자연방입 형태로 기른 것으로 산양산삼 혹은 산양삼이라고 한다. 산양삼의 유효성분은 구조적 특징에 따라 크게 사포닌계와 비사포닌계로 구분할 수 있다. 사포닌계의 생리활성 물질로는 ginsenosides가 알려져 있으며, 비사포닌계는 polyacetylenes, phenolic compounds, acidic polysaccharides, peptides, alkoxides, amino acids 유도체 등이 있다. 또한, 기타 성분으로는 volatile oil, sugar, starch, pectins, minerals 등이 있다(5). 한편 이러한 산양삼은 항암, 혈압 강하, 항산화, 간독성 등에 대한 효능이 있는 것으로 알려졌지만(6-8), 아직 다양한 분야에서의 연구가 미비한 상황이다.

Received 22 September 2016; Accepted 8 November 2016

Corresponding author: Shin-Ho Lee, Department of Food Science & Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 38430, Korea

E-mail: leesh@cu.ac.kr, Phone: +82-53-850-3217

본 연구는 산양삼의 이화학적 특성과 추출용매를 달리하여 추출한 각각의 산양삼 추출물의 항산화 활성을 검증함으로써 산양삼의 이용가치를 높이고, 기능성 식품 소재를 개발하는 데 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 산양삼은 2013년 경북 영주시에 위치한 소백산하산삼 영농조합법인에서 제공받아 세척한 후 동결건조(PVTFD20R, Ilshin Lab., Suwon, Korea) 하여 분말화한 후 -70°C deep freezer에 보관하면서 사용하였다.

일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC 방법(9)에 따라 행하였다. 즉 수분은 105°C 상압건조가열법으로, 조단백질은 Kjeldahl법으로, 조지방은 Soxhlet법으로, 조회분은 550°C 직접건식회화법으로, 탄수화물은 시료 100 g 중에서 수분, 조회분, 조단백, 조지방 함량을 감하여 얻은 양으로 표시하였다.

아미노산 분석

동결건조 한 산양삼 1 g에 70% 에탄올을 10 mL 첨가하여 24시간 동안 추출과정을 거친 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상등액을 취하였다. 상등액은 회전진공농축기(WB 2000, Heidolph, Schwabach, Germany)로 용매를 휘발시킨 후 아미노산 분석용 lithium citrate loading buffer로 용해시키고, $0.22\ \mu\text{m}$ membrane filter(Millipore Co., Billerica, MA, USA)로 여과하여 아미노산 자동 분석기(Biochrom 30 amino acid analyzer, Biochrom, Cambridge, UK)로 분석하였다.

Ginsenosides 함량 측정

In 등(10) 및 Ando 등(11)의 수포화부탄올 추출법으로 조사포닌을 추출 정량하였으며, ginsenosides 조성 및 함량은 조사포닌 추출한 것을 MeOH에 용해한 후 이를 $0.22\ \mu\text{m}$ membrane filter로 여과, Acquity UPLC BEH C_{18} column($1.7\ \mu\text{m}$, $2.1 \times 100\ \text{mm}$)을 장착한 UPLC(Acquity UPLC System; Waters, Milford, MA, USA)와 이동상 용매 A(0.1% formic acid)와 용매 B(acetonitrile)를 유속 $0.3\ \text{mL}/\text{min}$ 의 조건으로 시료 $10\ \mu\text{L}$ 씩 주입하여 분석하였다.

추출물의 제조

산양삼의 추출방법은 시료 100 g에 10배의 증류수(W)를 가한 후 환류냉각추출과 분쇄시료 100 g의 10배의 70% 에탄올(E)을 가한 후 상온교반추출로 추출물을 제조하였다. 환류냉각추출은 분쇄시료와 증류수를 넣은 용기에 냉각관을 부착하여 80°C 의 항온수조에서 3시간 동안 추출하였고, 상온교반추출은 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 실온에서 교반기를 이용하여

$150\ \text{rpm}$ 으로 24시간 교반시켜 2회 추출하였다. 각각의 추출물은 여과지(Whatman No. 3, Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 후 회전진공농축기로 농축하고, 동결건조 후 분말화하여 사용하였다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

Singleton 등(12)의 방법에 따라 각 추출물 1 mL에 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent 1 mL를 가하여 실온에서 3분간 반응시킨 후, Na_2CO_3 (75 g/L) 1 mL를 가한 다음 암소에서 1시간 동안 방치한 후 분광광도계(Ultrospec 1000, Pharmacia Biotech, Cambridge, UK)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 한 표준곡선에 의하여 산출하였다. 총플라보노이드 함량은 Saleh와 Hameed(13)의 방법에 따라 각 추출물 0.1 mL에 5% sodium nitrite 0.15 mL를 가한 후 25°C 에서 6분간 방치한 다음 10% aluminium chloride 0.3 mL를 가하여 25°C 에서 5분간 방치하였다. 다음 1 N NaOH 1 mL를 가하고 vortex 상에서 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

Blois(14)의 방법을 변형하여 각 추출물 0.4 mL에 0.4 mM DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 에탄올 용액 0.8 mL를 진탕 혼합하고 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH radical scavenging ability (%) = $100 - [(\text{OD of sample} / \text{OD of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등(15)의 방법에 따라 7.4 mM ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온·암소에서 24시간 동안 방치하여 라디칼을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액을 732 nm에서 흡광도가 0.700 ± 0.030 이 되도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 950 μL 에 각 추출물 50 μL 를 가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였으며, ABTS radical scavenging ability (%) = $100 - [(\text{OD of sample} / \text{OD of control}) \times 100]$ 에 의하여 활성을 산출하였다.

아질산염 소거능 측정

Kato 등(16)의 방법에 따라 각 추출물 1 mL에 1 mM NaNO_2 용액 1 mL를 가하고 0.1 N HCl을 가하여 총 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C 에서 1시간 반응시킨 후 1 mL를 취하여 2% 초산용액 4 mL와 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine=1:1) 0.4 mL를 가한 후 실온에서 15분간 방치하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며, nitrite scavenging

activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 산출하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Marklund와 Marklund(17)의 방법에 따라 각 추출물 200 µL에 pH 8.5로 조정된 tris-HCl buffer 용액 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 200 µL를 가하고 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, SOD-like activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 활성을 산출하였다.

환원력 측정

Oyaizu(18)의 방법에 따라 각 추출물 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide[K₃Fe(CN)₆] 2.5 mL를 각각 혼합하고 혼합물을 50°C 항온수조에서 20분간 반응시킨 다음 10% trichloroacetic acid(TCA, CCl₃COOH; w/v) 2.5 mL를 첨가하여 반응액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 다음 상등액 5 mL에 증류수 5 mL를 첨가하고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Ferrous ion chelating 효과 측정

Yen 등(19)의 방법에 따라 시액 1 mL, 80% 에탄올 0.8 mL, 2 mM FeCl₂·4H₂O[iron(II) chloride tetrahydrate] 용액 0.1 mL, 5 mM ferrozine[3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid] 용액 0.1 mL를 첨가하여 혼합하고 실온에서 10분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산식 ferrous ion chelating activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 산출하였다.

Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해능 측정은 Kraunsoe 등(20)의 방법에 따라 1.0 mL의 Tris/HCl buffer 용액(0.2 M, pH 8.0)에 0.1 mL의 N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroaniline(10.4 mM) 및 1 mg/mL 농도의 추출물 0.1 mL를 가한 후 25°C에서 5분간 반응시킨 후, elastase(≥4.0 units/mg protein, 1 µg/mL) 0.1 mL를 가하여 405 nm에서 흡광도를 측정한 다음 다시 25°C에서 20분간 반응한 후의 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 buffer 용액을 사용하였다. 저해활성 계산식은 elastase inhibitory activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 나타내었다.

Collagenase 저해활성 측정

피부 노화 억제 효과를 확인하기 위하여 collagenase 저해활성 측정은 Wunsch와 Heidrich(21)의 방법으로 측정하였다. 즉 반응구는 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.5)에 4 mM

CaCl₂를 첨가하여 4-phenylazobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-Arg(0.3 mg/mL)를 녹인 기질액 0.25 mL 및 시료용액 0.1 mL의 혼합액에 collagenase(0.2 mg/mL) 0.15 mL를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid 0.5 mL를 넣어 반응을 정지시킨 다음, ethylacetate 1.5 mL를 첨가하여 상등액을 취한 후 320 nm에서 흡광도를 측정하였으며, collagenase inhibitory activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 나타내었다.

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Vanni 등(22)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 96-well plate에 140 µL의 sodium phosphate buffer(0.05 mM, pH 6.8)와 추출물 100 µL와 40 µL의 L-tyrosine solution(1.5 mM)을 넣고 20 µL의 mushroom tyrosinase(1,500 U/mL)를 넣었다. 반응이 잘 일어나도록 37°C에서 15분간 반응시킨 후 492 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tyrosinase inhibitory activity (%)=100-[(OD of sample/ OD of control)×100]에 의하여 나타내었다.

통계처리

아미노산, ginsenoside 분석을 제외한 모든 실험은 3회 반복으로 시행하였으며, 평균치 간의 유의성은 SPSS system(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package(version 12.0)를 이용, P<0.05 수준으로 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 아미노산 측정

산양삼의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 산양삼의 수분 함량, 탄수화물, 단백질, 지질, 회분의 함량은 각각 7.56%, 73.01%, 12.58%, 1.99%, 5.54%를 나타내었으며, 그중 탄수화물을 가장 많이 함유하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 일반 인삼의 수분 함량, 탄수화물, 단백질, 지질, 회분의 함량이 각각 8.03%, 62.00%, 12.87%, 2.88%, 4.01%라는 Lee 등(23)의 보고와 유사한 결과를 나타내었

Table 1. Proximate composition of Korean cultivated wild ginseng

Composition	Percent (%)
Moisture	7.56±0.08 ¹⁾
Carbohydrate	73.01±0.02
Crude protein	12.58±0.29
Crude lipid	1.99±0.19
Crude ash	5.54±0.14

¹⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

Table 2. Amino acid composition of Korean cultivated wild ginseng

Amino acid	Content (mg/100 g, dry basis)
Isoleucine*	0.10
Leucine*	0.26
Lysine**	0.12
Methionine**	0.20
Phenylalanine*	0.17
Threonine*	0.17
Tryptophan*	0.12
Valine	0.12
Histidine**	0.16
Alanine	0.58
Asparagine	1.25
Aspartic acid	0.32
Arginine	10.42
Glutamic acid	0.02
Glutamine	0.71
Glycine	0.03
Proline	0.17
Serine	0.18
Taurine	0.06
Tyrosine#	0.14
γ-Aminobutyric acid	0.87
Total amino acids	16.17

*Essential amino acids.

#Amino acids acting as an antioxidant.

다. 산양삼의 아미노산 측정 결과는 Table 2와 같다. 산양삼의 총 아미노산 함량은 16.17 mg/100 g을 나타내었고, 그중 arginine(10.42 mg/100 g, 64.44%), asparagine(1.25 mg/100 g, 7.73%), γ-aminobutyric acid(0.87 mg/100 g, 5.38%), glutamine(0.71 mg/100 g, 4.39%), alanine(0.58 mg/100 g, 3.59%), aspartic acid(0.32 mg/100 g, 1.98%) 순으로 높은 함량을 나타내었다. 필수아미노산 함량은 1.42 mg/100 g을 나타내었고, 그중 leucine이 0.26 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 항산화 활성이 있는 아미노산(24)으로 알려진 lysine, methionine, histidine tyrosine의 총 함량은 0.62 mg/100 g을 나타내었고, 그중 methionine이 0.20 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. Choi과 Oh(25)의 연구에 의하면 한국산 인삼의 아미노산은 arginine > lysine > alanine > aspartic acid > serine 순이었다고 보고하였고, Ko 등(26)은 인삼의 아미노산 가운데 arginine이 가장 많았다고 보고하였는데, 본 연구와 다소 차이가 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 시료들의 채취 시기, 자연환경, 연령 등에 많이 좌우되기 때문에 같은 *Panax ginseng* C.A Meyer 종이라도 서로 다른 결과가 나

타날 수 있다고 판단된다.

Ginsenosides 함량

산양삼의 ginsenoside 조성 및 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 총 ginsenoside 함량은 15.98 mg/g을 나타내었고, 그중 major ginsenoside 함량은 15.94 mg/g으로 약 90% 이상의 함량을 나타내었고, minor ginsenoside 함량은 0.04 mg/g 함량을 나타내었다. Major ginsenoside는 Rb₁(4.68 mg/g) > Re(4.32 mg/g) > Rg₁(2.59 mg/g) > Rc(1.56 mg/g) > Rb₂(1.22 mg/g) > Rf(1.02 mg/g) > Rd(0.35 mg/g) > Rb₃(0.18 mg/g) 순으로 높은 함량을 나타내었고, minor ginsenoside는 Rh₁(0.03 mg/g)과 Rg₃(0.01 mg/g)는 검출되었지만, Rh₂와 compound K는 검출되지 않았다. 인삼은 재배조건에 따라 ginsenoside 조성 및 함량에 차이가 나타나지만 대부분 Rg₁, Rb₁, Rb₂, Rc 및 Re를 주로 함유하고 있다는 보고(27)와 유사한 결과를 나타내었다. 또한, Chang(28)은 인삼의 채집 시기에 따른 사포닌 성분의 함량을 분석한 결과 Re, Rd, Rg₁ 등이 전체 사포닌의 70% 이상을 차지한다고 보고한 것 등과 같은 결과를 나타내었다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 변화

식물성 식품 속에 함유되어 있는 많은 생리활성 물질 중 페놀은 가장 많이 함유되어 있으며, 또한 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 플라보노이드는 식물에 의해 합성된 폴리페놀의 가장 큰 부류이며, 효과적인 free radical scavenger로서 항산화 효과를 가진다(29). 증류수를 이용한 산양삼 추출물(KGW, Korean cultivated wild ginseng water extract)과 70% 에탄올을 이용한 산양삼 추출물(KGE, Korean cultivated wild ginseng ethanol extract)의 총폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. KGW와 KGE의 총폴리페놀 함량은 각각 2.80 mg GAE/g, 8.93 mg GAE/g을 나타내었고, 열수 추출보다 70% 에탄올 추출이 더 높은 함량을 나타내었다. 총플라보노이드 함량을 측정한 결과 역시 KGW(1.99 mg RHE/g)보다 KGE(3.96 mg RHE/g)가 더 높은 함량을 나타내었다. 이는 추출방법에 따라 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량에 차이가 있다는 보고(30)와 유사한 경향을 나타내었다. 따라서 더욱 많은 유효성분을 추출하기 위해서는 시료에 따른 최적의 추출방법을 사용하는 것이 중요하다고 생각한다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 변화

자유 라디칼 소거능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐 아니라

Table 3. Ginsenoside content of Korean cultivated wild ginseng

(unit: mg/g)

	Ginsenosides											Total	
	Rb ₁	Rb ₂	Rb ₃	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Rg ₃	Rh ₁	Rh ₂		C-K
Korean cultivated wild ginseng	4.68	1.22	0.18	1.56	0.35	4.32	1.02	2.59	0.01	0.03	0.00	0.00	15.98

Table 4. Comparison of total polyphenol and flavonoid content of Korean cultivated wild ginseng water and ethanol extracts

Sample ¹⁾	Total polyphenol content (mg GAE ²⁾ /g)	Flavonoid content (mg RHE ³⁾ /g)
KGW	2.80±0.15 ^{b4)5)}	1.99±0.02 ^b
KGE	8.93±1.62 ^a	3.96±0.19 ^a

¹⁾KGW: Korean cultivated wild ginseng water extract, KGE: Korean cultivated wild ginseng ethanol extract.

²⁾GAE: Gallic acid equivalent.

³⁾RHE: Rutin hydrate equivalent.

⁴⁾Values are means±SD of triplicate determinations.

⁵⁾Means with different letters within each column indicate significant differences ($P<0.05$).

인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다(31). 산양삼 추출물의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능의 측정 결과는 Table 5에 나타내었다. 1 mg/mL의 농도로 조정된 KGW와 KGE의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 40.39%, 57.57%를 나타내었고, KGW보다 KGE가 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. ABTS는 양이온 라디칼을, DPPH는 음이온 라디칼을 소거하는 활성을 흡광도로 측정하는 방법으로 두 방법에 대한 기질과 반응물질과의 결합 정도가 달라 추출물을 이용한 라디칼 소거활성 측정값에서 차이가 나타날 수 있다(32). ABTS 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 결과를 나타내었다(Table 5). 1 mg/mL에서 KGE(70.73%)가 KGW(51.21%)에 비하여 유의적으로 높은 활성을 나타내었다($P<0.05$).

아질산염 소거능 및 SOD 유사활성의 변화

추출방법을 달리한 각각의 산양삼 추출물 1 mg/mL 농도의 아질산염 소거능 측정 결과는 Table 5와 같다. 아질산염 소거능은 KGW가 23.05%, KGE가 44.12%로 나타났으며, KGE가 KGW보다 약 47% 이상 높은 아질산염 분해 효과를 나타내었다. Kim 등(33)의 팽이버섯, 하수오, 오미자, 행인 등이 20% 이하의 소거능을 나타내었다는 결과와 비교하면 산양삼은 높은 아질산염 소거능을 갖는다고 할 수 있다. 또한, Yamada 등(34)은 폴리페놀과 플라보노이드 화합물이 종류에 따라 차이는 있으나 아질산염을 효과적으로 분해하여 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고하였는데, 본 연

구 역시 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높은 KGE가 높은 활성을 나타내었다.

산양삼 추출물의 SOD 유사활성 결과 KGW는 50.16%, KGE는 78.05%를 나타내었다(Table 5). 이러한 결과는 약용식물을 대상으로 한 Lim 등(35)의 감초(35.63%), 인진(25.40%), 황기(23.13%), 천궁(18.47%) 등의 SOD 유사활성보다 높았으며, 기존에 보고된 여러 종류의 천연물보다 더 높은 활성도를 갖는다고 할 수 있다. 따라서 산양삼 추출물은 항산화 효과가 높아 다양한 기능성 소재로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

환원력 및 ferrous ion chelating 효과의 변화

각각의 산양삼 추출물은 높은 환원력을 나타내었고, 그중 KGE는 1.08 OD_{700 nm}로 가장 높은 환원력을 나타내었다(Table 5). 환원력은 일반적으로 페놀 함량과 상관관계가 높다고 보고(36)되고 있으며, 이는 본 실험 결과와도 유사하였다. 따라서 산양삼에 함유되어 있는 페놀성분이 활성산소에 수소 및 전자를 공여함으로써 활성산소 사슬을 파괴하여 높은 환원력을 나타내는 것으로 판단된다.

Fe, Cu, Co, Ni, Sn 등과 같은 산화 환원이 용이한 금속이나 이들의 금속염은 지질 산화 과정에서 촉매로 작용할 수 있는 금속이다. 특히 일부 식품에 함유되어 있는 Fe²⁺나 Cu²⁺ 등은 hydroxy radical(-OH)과 superoxide radical(O₂⁻) 등의 생성을 촉진하여 식품의 지질산화를 가속화시키게 된다. 이러한 금속에 대한 봉쇄 효과는 금속 촉매제로 인한 자유 라디칼의 생성을 억제함으로써 지질산화를 방지할 수 있는 능력을 측정하는 지표로 이용된다(37). 추출방법을 달리한 각각의 산양삼 추출물의 ferrous ion chelating 효과는 KGE(55.33%)가 KGW(7.14%)보다 높았으며, 약 8배 이상의 높은 항산화 활성을 나타내었다(Table 5).

Elastase, collagenase 및 tyrosinase 저해 활성의 변화

Elastin은 피부 세포외기질(ECM; extracellular matrix)을 구성하는 성분 중의 하나이며, 피부 탄력성 저하와 주름 형성에 collagen의 감소뿐 아니라 피부탄력섬유의 구성성분인 elastin 저하도 관여한다. Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는 데 중요한 기질 단백질인 elastin을 분해하는

Table 5. Antioxidant activity of Korean cultivated wild ginseng extracted by different methods

(1 mg/mL)

Sample ¹⁾	DPPH radical scavenging (%)	ABTS radical scavenging (%)	Nitrite oxide scavenging (%)	Superoxide dismutase like activity (%)	Reducing power (O.D _{700 nm})	Ferrous ion chelating activity (%)
KGW	40.39±2.99 ^{c2)3)}	52.21±0.50 ^c	23.05±1.29 ^c	50.16±5.36 ^c	0.62±0.01 ^c	7.14±0.42 ^c
KGE	57.57±1.05 ^b	70.73±3.25 ^b	44.12±4.39 ^b	78.05±0.77 ^b	1.08±0.01 ^b	55.33±3.56 ^b
AA	99.88±0.02 ^a	99.95±0.02 ^a	99.55±0.28 ^a	89.81±0.98 ^a	—	—
EDTA	—	—	—	—	1.25±0.02 ^a	98.81±0.92 ^a

¹⁾KGW: Korean cultivated wild ginseng water extract, KGE: Korean cultivated wild ginseng ethanol extract, AA: ascorbic acid (control), EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid (control).

²⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

³⁾Different letters within a column are significantly different ($P<0.05$).

효소이며, UV 노출로 발생하는 노화 과정과 주름 형성 작용에 관여한다. 그러므로 elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다(38). 이에 산양삼 추출물의 elastase 저해활성을 측정한 결과는 Table 6과 같다. 각각의 산양삼 추출물의 elastase 저해활성을 측정한 결과 KGW 28.99%, KGE 81.96%로, KGE가 가장 높은 활성을 나타내었다. 또한, 대조구로 사용된 녹차 추출물 유래의 단일 물질인 epigallocatechin gallate(EGCG)는 90.88%를 나타내었는데 1 mg/mL의 KGE는 EGCG와 유의적 차이가 나타났지만, 높은 활성을 나타내었다.

각각의 산양삼 추출물의 collagenase 저해활성을 측정한 결과 KGW는 54.99%를 나타내었고, KGE는 78.96%로 가장 높은 활성을 나타내었다(Table 6). 특히 KGE는 대조구로 사용된 mucin(81.81%)과 유의적인 차이 없이 collagenase를 억제하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 산양삼 추출물(KGE)이 피부에 존재하는 elastin과 collagen의 분해를 막아 피부의 주름을 개선시킬 수 있고, 다양한 항장제품의 기능성 소재로써 활용이 있을 것으로 판단된다.

일정 농도 1 mg/mL에서 각각의 산양삼 추출물의 tyrosinase 저해활성은 KGW 9.99%, KGE 30.96%를 나타내었다(Table 6). 이러한 결과는 Lee 등(39)의 제주산 식물을 이용하여 tyrosinase 억제 활성을 측정한 결과 1,000 ppm의 농도에서 10%의 저해 효과를 나타내었다는 결과와 비교하면 산양삼 추출물은 높은 tyrosinase 저해능을 나타내었다.

이상의 결과 추출방법을 달리한 산양삼 추출물의 항산화 물질 함량과 추출물의 항산화 효과는 각각 서로 다른 경향을 나타내었다. 이는 식물 추출물의 항산화 효과가 추출조건에 따라 다르게 나타난다고 보고한 Kim 등(40)의 결과와 같이 동일한 식물도 추출조건을 달리함으로써 생리활성물질 추출수율 및 생리활성 효과를 증가시킬 수 있는 것으로 판단되었다. 또한, 산양삼 추출물은 기능성 증진을 위한 다양한 식

품 소재로의 활용 가능성이 있을 것으로 생각하며, 이러한 결과가 실제로 체내에서 적용되는지는 *in vivo* 연구를 통하여 살펴볼 필요가 있는 것으로 생각한다.

요 약

본 연구는 산양삼의 이용가치를 높이고, 기능성 식품소재 개발을 위하여 산양삼의 이화학적 특성과 추출용매를 달리하여 추출한 각각의 추출물의 항산화 활성을 비교하였다. 산양삼의 일반성분은 수분 7.56%, 탄수화물 73.01%, 단백질 12.58%, 지질 1.99%, 회분 5.54%를 나타내었고, 총아미노산 함량은 16.17 mg/100 g이었으며, 그중 필수아미노산은 1.42 mg/100 g을 나타내었다. 총 ginsenoside 함량은 15.98 mg/g을 나타내었고, 그중 major ginsenoside(Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁)의 함량은 15.94 mg/g, minor ginsenoside(Rg₃, Rh₁, Rh₂) 함량은 0.04 mg/g을 나타내었다. 1 mg/mL 농도로 조정된 증류수를 이용한 산양삼 추출물(KGW), 70% 에탄올을 이용한 산양삼 추출물(KGE)의 항산화 활성을 측정한 결과 KGE가 모든 항목에서 가장 높게 활성을 나타냈으며, 각각 8.93 mg/g(총폴리페놀 함량), 3.96 mg/g(총플라보노이드 함량), 57.57%(DPPH 라디칼 소거능), 70.73%(ABTS 라디칼 소거능), 44.12%(아질산염 소거능), 78.05%(SOD 유사활성), 1.08 O.D_{700 nm}(환원력), 55.33%(ferrous ion chelating activity)를 나타내었다. 또한, 각각의 산양삼 추출물의 elastase, collagenase 및 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 역시 KGE가 모든 항목에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, 각각 81.96%, 78.96%, 30.96%를 나타내었다.

REFERENCES

1. Branan AL. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
2. Wang TC, Ti MC, Lo SC, Yang CC. 2007. Free radical-scavenging activity of aqueous extract of *Pteris multifida* Poiret. *Fitoterapia* 78: 248-249.
3. Liu H, Qiu N, Ding H, Yao R. 2008. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res Int* 41: 363-370.
4. Nah SY. 1997. Ginseng; Recent advances and trends. *Korean J Ginseng Sci* 21: 1-12.
5. Nam KY. 2002. Clinical applications and efficacy of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J Ginseng Res* 26: 111-131.
6. Lui JHC, Staba EJ. 1980. The ginsenosides of various ginseng plants and selected products. *J Nat Prod* 43: 340-346.
7. Lee HU, Bae EA, Han MJ, Kim DH. 2005. Hepatoprotective effect of 20(S)-ginsenosides Rg₃ and its metabolite 20(S)-ginsenoside Rh₂ on *tert*-butyl hydroperoxide-induced liver injury. *Biol Pharm Bull* 28: 1992-1994.
8. Xie JT, Mehendale SR, Li X, Quigg R, Wang X, Wang CZ, Wu JA, Aung HH, Rue PA, Bell GI, Yuan CS. 2005. Anti-diabetic effect of ginsenoside Re in *ob/ob* mice. *Bio-*

Table 6. Elastase, collagenase, and tyrosinase inhibition activity of Korean cultivated wild ginseng extracted by different methods (1 mg/mL)

Sample ¹⁾	Elastase inhibition activity (%)	Collagenase inhibition activity (%)	Tyrosinase inhibition activity (%)
KGW	28.99±6.30 ^(c2)3)	54.99±1.30 ^b	9.99±5.30 ^c
KGE	81.96±1.06 ^b	78.96±3.06 ^a	30.96±1.06 ^b
EGCG	90.88±1.22 ^a	—	—
Mucin	—	81.88±1.91 ^a	—
Kojic acid	—	—	89.88±2.94 ^a

¹⁾KGW: Korean cultivated wild ginseng water extract, KGE: Korean cultivated wild ginseng ethanol extract, EGCG: epigallocatechin gallate (control), Mucin: control, Kojic acid: control.

²⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

³⁾Different letters within a column are significantly different (*P*<0.05).

- chim Biophys Acta, Mol Basis Dis* 1740: 319-325.
9. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 49-59.
 10. 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 J Med Crop Sci* 14: 371-375.
 11. 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.
 12. Singleton VL, Joseph A, Rossi J. 1958. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *Am J Clin Nutr* 68: 1474-1479.
 13. Saleh ES, Hameed A. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem* 114: 1271-1277.
 14. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 15. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
 16. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 17. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
 18. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction; antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
 19. Yen GC, Duh PD, Tsai HL. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem* 79: 307-313.
 20. Kraunsoe JAE, Claridge TDW, Lowe G. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry* 35: 9090-9096.
 21. Wünsch E, Heidrich HG. 1963. Zur quantitativen bestimmung der collagenase. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 333: 149-151.
 22. Vanni A, Gastaldi D, Giunata G. 1990. Kinetic investigations on the double enzymatic activity of the tyrosinase mushroom. *Ann Chim (Rome)* 80: 35-60.
 23. Lee JY, Yu MR, An BJ. 2010. Comparison of biological activity between *Nelumbo nucifera* G. extracts and cosmetics adding *Nelumbo nucifera* G.. *J Life Sci* 20: 1241-1248.
 24. Saito K, Jin DH, Ogawa T, Muramoto K, Hatakeyama E, Yasuhara T, Nokihara K. 2003. Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *J Agric Food Chem* 51: 3668-3674.
 25. Choi JH, Oh SK. 1985. Studies on the anti-aging action of Korean ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 17: 506-515.
 26. Ko SR, Choi KJ, Han KW. 1996. Comparison of proximate composition, mineral nutrient, amino acid and free sugar contents of several *Panax* species. *Korean J Ginseng Sci* 20: 36-41.
 27. Nam KY. 1996. The new Korean ginseng (constituent and its pharmacological efficacy). Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Daejeon, Korea. p 1-10.
 28. Chang HK. 1998. Changes of saponin contents in *Panax ginseng* leaves by different harvesting months. *Korean J Food Nutr* 11: 82-86.
 29. Beecher GR. 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 133: 3248S-3254S.
 30. Chung HJ. 1999. Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1316-1320.
 31. Matsukawa R, Dubinsky Z, Kishimoto E, Masaki K, Masuda Y, Takeuchi T, Chihara M, Yamamoto Y, Niki E, Karube I. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *J Appl Phycol* 9: 29-35.
 32. Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB. 2001. component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 138-142.
 33. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
 34. Yamada T, Yamamoto M, Tanimura A. 1978. Studies on the formation of nitrosamines (VII): The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J Food Hyg Soc* 19: 224-229.
 35. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Med Crop Sci* 12: 191-202.
 36. Osawa T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In *Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in the Tropics*. Uritani I, Garcia VV, Mendoza EMT, eds. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan. p 241-251.
 37. Yoo MY, Kim SK, Yang JY. 2004. Characterization of an antioxidant from sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *Korean J Microbiol Biotechnol* 32: 307-311.
 38. Antonicelli F, Bellon G, Debelle L, Hornebeck W. 2007. Elastin-elastases and inflamm-aging. *Curr Top Dev Biol* 79: 99-155.
 39. Lee JT, Jeong YS, An BJ. 2002. Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Korean J Herbology* 17: 51-60.
 40. Kim HK, Kwon YJ, Kim YE, Nahmgung B. 2004. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Aster scaber* Thunb extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J Food Preserv* 11: 88-93.