초고압 증숙처리가 산삼배양근의 진세노사이드 Rg3와 Rh2의 함량에 미치는 영향

최운용* · 이춘근* · 서용창* · 송치호* · 임혜원** · 이현용***†
*강원대학교 의생명소재공학과, ** (주)세바바이오텍, ***서원대학교 차학과

Effect of High Pressure and Steaming Extraction Processes on Ginsenosides Rg3 and Rh2 Contents of Cultured-Root in Wild Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer)

Woon Yong Choi*, Choon Geun Lee*, Yong Chang Seo*, Chi Ho Song*, Hye Won Lim** and Hyeon Yong Lee***†

*Department of Biomedical Materials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**Shebah Biotech Co., Chuncheon Bioindustry Foundation Hi-Tech Venture Town, Chuncheon 200-161, Korea.

***Department of Teaics, Seo Won University, Cheongju 361-742, Korea.

ABSTRACT : This study was performed to enhance contents of low molecular weight ginsenoside Rh2 and Rg3 using an ultra high pressure and steaming process in wild cultured-Root in wild ginseng. For selective increase in contents of Rg3 and Rh2 in cultured wild ginseng roots, an ultra high extraction was applied at 500 MPa for 20 min which was followed by steaming process at 90 °C for 12 hr. It was revealed that contents of ginsenosides, Rb1, Rb2, Rc and Rd, were decreased with the complex process described above, whereas contents of ginsenoside Rh2 and Rg3 were increased up to 4.918 mg/g and 6.115 mg/g, respectively. In addition, concentration of benzo[α]pyrene in extracts of the cultured wild ginseng roots treated by the complex process was 0.64 ppm but it was 0.78 ppm when it was treated with the steaming process. From the results, it was strongly suggested that low molecular weight ginsenosides, Rh2 and Rg3, are converted from Rb1, Rb2, Rc, and Rd which are easily broken down by an ultra high pressure and steaming process. This results indicate that an ultra high pressure and steaming process can selectively increase in contents of Rg3 and Rh2 in cultured wild ginseng roots and this process might enhance the utilization and values of cultured wild ginseng roots.

Key Words : Cultured-Root, Wild Ginseng, Ultra High Pressure, Low Molecular Ginsenoside, Steaming Process

서 언

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 다년생 작물로 자생 또는 재배되고 있다. 인삼은 재배되는 형태에 따라 크게 자연 상태에서 자생하는 산삼과 재배를 통해 생산할 수 있는 인삼으로 구분을 하고 있다 (Wang *et al.*, 1998). 산삼은 일반적 인 인삼에 비해 그 성장속도가 느려 상품적으로 사용하기 위해서는 약 10년에서 15년이 된 것을 사용하지만, 재배인삼에 비해서 약효가 더 뛰어나다고 보고되고 있다 (Wang *et al.*, 1998). 산삼은 재배인삼보다 약효가 뛰어나지만, 고가에 거래가 되고 있으며, 그 양도 매우적기 때문에 산삼을 이용한 연구가 거의 되어있지 않은 실정이다 (Yoo *et al.*, 2003). 그러나 이와 같이 희귀하고 재배하는데 오랜 시간이 걸리는 산삼의 확보를 위해 최근에 생명공학 기술을 이용한 pilot plant

시설에서 산삼배양근의 형태로 대량 배양하는 연구가 진행되고 있다 (Son, 1990). 이러한 산삼배양근은 천연 산삼으로부터 조직을 분리하여 callus를 유도해 내어, 뿌리가 자라나게 하여 생물배양기에서 45일 정도 배양하여 생산되어지고 있다 (Jeong *et al.*, 2005).

이와 같이 인공으로 배양한 산삼배양근에는 인삼과 같은 사포닌이 존재한다. 인삼사포닌인 진세노사이드는 당이 붙는 구조에 따라 triol 계열과 diol 계열로 분류되며, triol 계열의 진세노사이드 종류로는 Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1 등이 있고, diol 계열의 진세노사이드 종류로는 Ra1, Ra2, Ra3, Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Rs, Rg3, Rg5, Rh2 등이 있다 (Yang, 1977). 이러한 진세노사이드 중 비교적 분자량이 적은 저분자 진세노사이드 Rg2, Rg3, Rh2, CK의 효능은 식품 또는 의약품으로 제조하여 복용함으로써 암 치료 또는 암 예방용으로

†Corresponding author: (Phone) +82-43-299-8471 (E-mail) hyeonl@seowon.ac.kr

Received 2012 July 26 / 1st Revised 2012 August 2 / Accepted 2012 August 9

사용되어 암세포 전이 억제작용, 혈소판 응집 억제 작용 등의 생리활성 물질로 사용되고 있다 (Keum *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 1999, 2000; Bao *et al.*, 2005). 또한, 최근에 들어 인삼 성분의 인한 피부노화 억제에 관한 연구가 진행됨으로 화장품 원료로서 주목받고 있다 (Yeom *et al.*, 2010).

이러한 고부가 가치를 지니고 있는 저분자 진세노사이드를 얻기 위해서는 다양한 전처리 방법이 필요하지만, 최근에 들어 서야 산삼배양근의 배양 방법 및 배양 조건에 대한 성분 변화와 효능에 대해서 주로 연구가 되고 있으며, 산삼배양근의 알코올 발효와 압출 성형방법 등을 이용한 연구를 통해 산삼 배양근에서 진세노사이드를 고농도로 얻기 위한 연구가 이루어졌다 (Jeong *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2005).

본 연구에서는 일반적으로 용출이 거의 되지 않은 저분자 진세노사이드 Rh2, Rg3를 선택적으로 용출하기 위해 초고압 전처리 공정과 증숙 공정을 도입하였다. 저분자 진세노사이드 Rg3와 Rh2는 인삼에는 거의 존재하지 않고 인삼을 홍삼으로 만들 경우 존재하게 되는 진세노사이드로서 고온의 조건으로 고분자 진세노사이드를 저분자 진세노사이드로 변환을 시켜야 한다 (Doh *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2006). 하지만 Rg3와 Rh2와 같은 저분자 진세노사이드를 얻기 위해 기존에 사용되는 고온처리방법 및 증숙 공정은 증숙 과정을 여러 번 반복하기 위해 보통 1주일 정도의 시간이 필요하며, 높은 온도를 장시간 유지하여야 하기 때문에 에너지의 과소비가 존재한다 (Yang *et al.*, 2006).

상기의 문제를 해결하기 위한 방법으로 본 연구에서 적용한 초고압 전처리 공정은 상온에서도 뚜렷한 생물학적 형태변화를 일으키며, 이에 따라 추출 및 가공 시간이 단축되는 장점이 있다 (Jin *et al.*, 2008; Jeong *et al.*, 2009). 따라서 초고압 공정과 함께 증숙 공정을 적용하면, 기존에 9번의 구증구포 방법으로 저분자 진세노사이드의 함량을 증진시키지 않고도 최소한의 증숙 단계를 거쳐서 고농도의 저분자 진세노사이드 Rh2, Rg3를 선택적으로 증진시킬 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 조직배양에 의해 생산된 산삼배양근을 초고압 증숙 공정을 이용해 기존의 전처리 방법보다 경제적이면서도 화장품 원료로서 고부가 가치를 지니고 있는 저분자 진세노사이드 Rg3와 Rh2를 선택적으로 증진시키는 방법을 개발하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에서 사용된 산삼배양근은 2011년 08월에 생산된 것으로 별빛촌 영농조합으로부터 건조된 형태로 구입하여 사용하였다.

2. 초고압, 증숙 및 복합공정

초고압 공정은 구입한 산삼배양근 20 g을 진공 포장용 비닐 팩에 증류수와 함께 넣은 후 공기가 들어가지 않도록 진공포장을 하였다. 진공 포장된 산삼배양근을 초고압 장치 (FOOD CIP-70-350-80, Ilshin autoclave, Korea)를 이용하여 500 MPa의 압력을 가하여 30분간 추출하였다. 증숙 공정은 산삼배양근을 트레이에 넓게 펼쳐진 형태로 마하스팀기 (Daechang stainless, Seoul, Korea)에 넣고, 90℃의 조건으로 12시간 증숙시킨 후, 12시간 자연 순환 건조시키는 공정을 총 5회 반복하였다. 초고압 증숙 복합 공정은 초고압 처리된 산삼배양근을 트레이에 넓게 펼친 후 마하스팀기에 넣고 90℃의 조건으로 12시간 증숙시킨 후, 12시간 자연 순환 건조시키는 공정을 총 1회 반복하였다. 상기의 방법으로 처리된 산삼배양근을 100℃에서 24시간동안 열수 추출하고, 추출액과 남은 산삼배양근을 분리하였다. 분리된 산삼배양근을 80℃에서 24시간동안 70% 에탄올로 추출하여 최종 추출액을 얻었다. 상기의 초고압 증숙 복합 공정 처리된 산삼배양근의 추출액은 Whatman 사의 20~25 µm 여과지를 사용하여 감압 여과하여 추출액을 여과하였다. 여과된 추출액은 감압 농축기 (Rotary vacuum evaporator N-N series, Evela, Japan)를 이용하여 감압 농축하여 24시간 -70℃에서 동결시킨 후, 동결건조를 하여 얻어진 분말에서 진세노사이드 농도를 측정하였다.

3. 진세노사이드 분석

각 공정별로 처리된 산삼배양근 추출액의 진세노사이드 함량을 측정하기 위해 부탄올 추출법을 통해 진세노사이드를 분리한 후 HPLC를 사용하여 함량을 측정하였다. 동결건조된 분말 1 g을 정밀히 달아 삼각플라스크에 넣고 물 50 mL에 녹인 다음 수포화 부탄올 50 mL를 첨가한 후 분획 깔대기에 넣고 부탄올 층을 얻었다. 상기의 수포화 부탄올 추출 방법을 3회 반복한 후 얻어진 부탄올 층의 추출액을 모두 합쳐서 농축 플라스크에 옮겨 감압 농축 후 105℃에서 20분간 건조하고 조사포닌을 얻었다. 얻어진 조사포닌에 메탄올 4 mL를 가하여 용해시키고, 0.45 µm 필터로 여과한 다음 HPLC 조건에 따라 진세노사이드의 함량을 측정하였다. 시료의 분석을 위해 standard로 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rh2 및 Rg3를 선정하여 500 ppm의 농도로 분석하였으며, 각각의 시료에 함유된 진세노사이드의 함량은 아래 식을 이용하여 정량적으로 분석하였다. HPLC 기기는 BIO-TEK instrument (Italy)사 HPLC 500 series의 BIO-TEK 522 controller Pump와 BIO-TEK HPLC 535 UV Detector (280 nm)를 사용하였고, Column은 Alltech사의 Prevail C18 (5 µm, 4.6 × 150 mm)을 사용하였다. Injection volume은 20 µL로 분석하였으며, 이동상으로는 Water와 Acetonitrile를 80:20로 혼합하여 사용하여 구배를 주었으며, 유속은 1 mL/min으로 흘려주어 진세노사이드의 함량

을 분석하였다 (Yi *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2012).

진세노사이드 함량 = 표준물질 농도 (ppm) × 시료의 HPLC Peak area / 표준물질의 HPLC Peak area × 회석배수

4. Scanning Electron Microscope (SEM) 분석

초고압 증숙 처리를 한 산삼배양근의 형태학적 관찰을 위해 저 진공 주사 현미경 (Low Vacuum-Scanning Electron, ×400) 으로 관찰하였다. 무처리 산삼배양근과 초고압 증숙 복합 공정을 적용한 산삼배양근의 표면을 형태학적 모습을 관찰 하였다. 이들 산삼배양근을 Scanning Electron Microscope (SEM) 을 이용하여 관찰하기 위해 금, 백금 등을 이용해 입자를 3~4 mm 정도 얇게 증착하는 전처리 과정을 거친 후, 미처리 산삼배양근과 초고압 증숙 복합 공정을 적용한 산삼배양근의 표면 형태를 관찰하였다 (Chae, 1996).

5. 벤조피렌 함량 분석

공정별 산삼배양근 추출물의 벤조피렌 함량을 측정하기 위해 표준검량곡선을 작성 하였다. 벤조피렌 표준물질은 1, 2, 5, 10, 20 ppb로 되도록 제조하고 농도별로 분석하여 검량선을 작성하였다 (Hu *et al.*, 2008). 산삼배양근 추출물 약 10 g을 정밀히 달아 내부표준용액 1 ml를 첨가하고 헥산 50 ml를 추가로 넣은 후 교반을 시켜 충분히 섞은 후 분액깔대기에 옮겨 정치하여 물층을 분리하였다. 상기의 얻어진 물층에 다시 헥산 50 ml를 첨가하고 같은 방법으로 2회 반복하여 헥산층을

모았다. 얻어진 헥산층은 무수황산나트륨 10 g을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 및 여과한 후 감압 농축하였다. Sep-Pak Florisil cartridge에 상기의 농축액 1 ml/min의 속도로 가한 후 헥산 5 ml과 디클로로메탄 15 ml로 용출 시킨 후 40°C 이하의 온도에서 질소가스를 이용하여 날린 후 잔류물을 아세토나이트릴로 녹여 0.45 µm 필터로 여과하여 사용하였다. HPLC 컬럼은 LC-PAH column (25 × 4.6, I.D. particlesize 5 µm)를 사용하였으며 UV Detector의 여기파장은 294 nm이고 형광파장은 404 nm로 사용하였다. 이동상으로는 Acetonitrile과 Water의 혼합액(80:20)을 사용하였으며 isocratic 조건으로 분석하였다. 시료는 10 µL를 주입하였으며 유속은 1.0 ml/min이었다 (Hu *et al.*, 2008; Sung *et al.*, 2012).

6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 행해졌으며, 실험값의 통계는 SAS(Statistical Analysis System) 프로그램을 사용하여 실험간의 평균을 구하였으며, 각 처리구간의 최소유의차 (P < 0.05) 수준에서 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

1. 초고압 공정에 따른 진세노사이드 함량 변화

산삼배양근의 초고압 공정을 통한 진세노사이드 함량 변화를 측정하여 초고압 전처리 공정이 저분자 진세노사이드 Rg3와 Rh2의 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 초고압 전처리

Fig. 1. Change in Ginsenoside Rg3 and Rh2 contents of WE and HPE. WE: The extract of cultured-root in wild ginseng by water extraction at 100°C; HPE: The extract of cultured-root in wild ginseng by ultra high pressure extraction at 500 MPa for 30 min. Mean values ± SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference ginsenosides contents are significantly different at $p < 0.05$.

공정의 조건 선정은 기존의 천연물 추출 시 높은 유용생리활성 물질을 얻었던 조건인 500 MPa의 압력에서 30분 동안 추출하는 조건으로 선정하였다 (Seo *et al.*, 2011). Fig. 1은 초고압 공정을 통해 산삼배양근을 추출하였을 경우의 진세노사이드의 함량을 측정된 결과이다. Diol 계열의 전구체는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd를 나타내며 진세노사이드 Rh2와 Rg3는 전구체 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd에 존재하는 당이 가수분해되어 얻어지기 때문에 진세노사이드 Rh2와 Rg3의 전구체로 선정하였고 초고압 처리가 고분자 진세노사이드에서 저분자 진세노사이드로 변환 되는 정도를 측정하였다. Fig. 1과 같이 건조된 무처리 산삼배양근의 열수 추출 시 얻어진 전구체의 총량은 1.492 mg/g이며, 초고압 처리를 하였을 경우 얻을 수 있는 전구체의 양은 1.006 mg/g으로 약 0.4 mg/g의 전구체 진세노사이드가 감소된 것을 확인하였다. 반대로 진세노사이드 Rg3와 Rh2의 함량을 측정된 결과, 열수 추출의 경우 진세노사이드 Rg3의 함량이 0.321 mg/g, Rh2의 함량은 0.022 mg/g을 얻었으며, 초고압 추출의 경우 진세노사이드 Rg3의 함량은 0.780 mg/g, Rh2의 함량은 0.542 mg/g을 얻었다. 상기의 결과에서 초기 전구체 진세노사이드에서 감소된 0.4 mg/g의 함량은 저분자 진세노사이드 Rh2와 Rg3로 전환된 양인 0.98 mg/g 보다 적은 것을 확인할 수 있는데, 이는 본 연구에서 측정된 diol 계열의 고분자 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd이 외에 다른 diol 계열의 진세노사이드가 분해가 되어서 더욱 많은 양의 진세노사이드가 전환된 것으로 판단된다. 이러한 초고압 처리를 통해 산삼배양근에서 저분자 진세노사이드

의 양이 증가하는 이유는 기존에 연구되어진 결과와 같이 초고압의 압력이 가해지면서 생성된 에너지 등으로 인해 세포벽의 구조가 변형 또는 파괴되면서 진세노사이드가 더 많이 용출된 것으로 판단된다 (Jin *et al.*, 2008; Hayashi, 1987; Chen *et al.*, 2009).

2. 증숙 공정에 따른 저분자 진세노사이드 함량 변화

산삼배양근에 증숙 공정을 적용하여 저분자 진세노사이드 Rg3, Rh2의 함량을 측정하였다. 초기 열수 추출만 하였을 경우에 생성된 저분자 진세노사이드 Rg3의 함량은 0.321 mg/g이며, Rh2의 경우 0.022 mg/g의 농도를 얻었다. 상기의 진세노사이드 농도를 최소 기준으로 하여 증숙 공정 횟수를 증가시키면서 얻어진 저분자 진세노사이드 Rg3, Rh2의 양을 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 1회 증숙을 하였을 경우의 Rg3의 농도는 1.570 mg/g이며, Rh2의 농도는 1.221 mg/g로 확인되었다. 이후, 3회 증숙하였을 경우까지 저분자 진세노사이드의 양이 계속 증가하다가, 4회 증숙된 후부터는 더 이상 농도가 증가하지 않은 것을 확인하였다. 3회 증숙하였을 경우 얻어진 진세노사이드 Rg3, Rh2의 양은 각각 5.792 mg/g, 4.706 mg/g의 양을 얻었다. 이러한 결과는 고려인삼의 증숙 횟수에 따른 저분자 진세노사이드 Rg3의 함량을 분석할 경우 90의 온도에서 9회 증숙 하였을 경우의 농도인 2.960 mg/g과 비교하였을 경우 약 2배 정도 증진된 결과를 얻을 수 있었다 (Hong *et al.*, 2007).

상기의 연구되어진 초고압 공정과는 달리 증숙 공정을 처리

Fig. 2. Change in contents of ginsenosides Rh2 and Rg3 from cultured-root in wild ginseng according to the steaming times. Mean values $\pm$ SD from triplicate separated experiments are shown. Mean with difference ginsenosides contents are significantly different at $p < 0.05$.

하였을 경우 얻어진 저분자 진세노사이드의 농도가 증진된 것은 높은 온도에서 장시간 증숙을 할 경우 고분자 진세노사이드가 저분자 진세노사이드로 전환이 매우 용이해지며, 이러한 이유는 기존에 연구되어진 것처럼 수증기의 높은 가수분해력으로 인해 고분자 진세노사이드 잔기에 붙어있는 당의 가수분해가 용이해지기 때문인 것으로 판단된다 (Kim *et al.*, 2001, 2009).

3. 초고압 증숙 복합 공정에 따른 진세노사이드 함량 변화

산삼배양근의 초고압 전처리 공정의 경우 고분자 진세노사이드로부터 저분자 진세노사이드로의 전환이 되는 것을 확인하였지만, 초고압 공정 처리 시 저분자 진세노사이드의 전환되는 양은 증숙 공정을 적용할 경우 보다 적은 것을 확인하였다. 그리고 증숙 공정의 경우 시간 및 에너지 소비의 문제가 존재한다. 따라서 초고압 공정이 가지는 생물의 형태학적 변화의 영향으로 인한 장점과 증숙 공정의 수증기를 이용한 가수분해력을 극대화 하기위해 초고압 공정과 증숙 공정을 복합적으로 처리하여 저분자 진세노사이드 Rg3, Rh2의 함량을 측정하였다. Table 1은 산삼배양근의 열수 추출 공정과 증숙 공정, 초고압 공정 및 초고압 증숙 복합 공정을 처리하였을 경우의 진세노사이드 함량을 측정하여 공정에 따른 진세노사이드 함량의 변화를 측정하였다. 열수 추출의 경우에는 저분자 진세노사이드의 함량이 극히 적게 함유되어 있으며, Rg3의 함량은 0.321 mg/g, Rh2의 함량은 0.022 mg/g인 것으로 확인하였다. 그와 반대로 고분자 진세노사이드인 Rb1, Rb2, Rc, Rd의 양은 총 1.492 mg/g로 비교적 다른 공정 보다 많은 양을 함유하고 있는 것을 확인 하였다. 산삼배양근에 초고압 전처리 공정을 적용 하였을 경우에는 저분자 진세노사이드의 양이 Rg3의 경우 약 0.780 mg/g, Rh2의 경우 약 0.542 mg/g으로

일부 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 산삼배양근을 3회 증숙하였을 경우 얻어진 저분자 진세노사이드 Rg3, Rh2은 각각 5.792 mg/g, 4.706 mg/g으로 크게 증진된 양을 얻었으며, 이는 100℃의 온도에서 24시간 동안 열수 추출을 하였을 경우나 단순히 500 MPa의 압력에서 30분 동안 초고압 추출을 하였을 때 보다 많은 차이가 있는 것을 확인하였다. 특히, 초고압 공정과 증숙 공정을 함께 처리한 복합 공정은 Rg3의 경우 6.115 mg/g, Rh2의 경우 4.918 mg/g으로 증가한 것을 확인하였다. 초고압 증숙 복합 공정의 경우 초고압 공정의 영향으로 증숙 횟수를 1회만 하였지만, 얻어지는 저분자 진세노사이드의 함량이 증진되는 것을 확인하였다.

상기의 초고압 증숙 복합 공정 전, 후의 진세노사이드 Rg3와 Rh2의 전환 패턴을 확인 하기위해 HPLC 크로마토그램의 결과를 Fig. 3에 나타내었다. HPLC 크로마토그램에서 보여 주듯이 저분자 진세노사이드의 RT는 60분부터 100분 사이에 존재하는데 초고압 증숙 복합 공정의 경우, 고분자 진세노사이드의 양이 감소하고 저분자 진세노사이드가 증가하는 경향이 뚜렷한 것을 확인 하였다. 따라서 본 연구의 초고압 증숙 복합 공정을 통한 산삼배양근은 특정 저분자 진세노사이드인 Rg3, Rh2을 얻기 위해 매우 효과적인 공정인 것으로 판단된다.

또한, 초고압 증숙 복합 공정이 산삼배양근 표면에 미치는 영향을 확인하기 위해 SEM을 통해 표면을 관찰한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4의 결과를 통해 산삼배양근의 초

Table 1. Contents (mg/g) of Rg3 and Rh2 (small ginsenoside molecules) derived from the precursor (large molecules) in several different process.

Treatment [†]	Ginseng ginsenosides (mg/g)		
	Small molecules		Large molecules
	Rg3	Rh2	Precursor (Rb1, Rb2, Rc, Rd)
WE	0.321 ± 0.037	0.022 ± 0.002	1.492 ± 0.034
SPE	5.792 ± 0.182	4.706 ± 0.098	0.734 ± 0.083
HPE	0.780 ± 0.025	0.542 ± 0.021	1.006 ± 0.073
Complex Process	6.115 ± 0.104	4.918 ± 0.055	0.484 ± 0.020

[†]WE: The extract of cultured-root in wild ginseng by water extraction at 100 °C; SPE: The extract of ccultured-root in wild ginseng by steaming process at 90 °C for 12 h; HPE: The extract of cultured-root in wild ginseng by ultra high pressure extraction at 500 MPa for 30 min; Complex Process: Ultra high pressure extracts and steaming process of cultured-root in wild ginseng.

Fig. 3. HPLC chromatogram of the ginsenosides in cultured-root in wild ginseng. (a) Control, (b) Complex treatment of cultured-root in wild ginseng.

Fig 4. Scanning electron microscope (SEM) image of a representative portion of cultured-root in wild ginseng. (a) Cultured-root in wild ginseng, (b) Complex treatment of cultured-root in wild ginseng.

고압 증숙 복합 공정 전, 후의 모습을 보면 알 수 있었으며, (a)는 무처리 산삼배양근의 표면 모습을 나타낸 것으로 초고압 증숙 처리한 산삼배양근인 (b)의 모습과 비교 했을 때 산삼배양근의 표면 모습이 형태학적으로 많은 영향을 가져오는 것을 확인 하였다. 이러한 초고압 증숙 공정을 통해 산삼배양근의 세포벽을 구성하고 있는 셀룰로오스의 변화를 유도한다 (Chen *et al.*, 2009). 이러한 셀룰로오스의 변화는 산삼배양근의 세포벽을 더욱 쉽게 무너트릴수가 있기 때문에 구조가 변형 또는 파괴되면서 증숙 공정을 통한 수증기의 확산 및 삼투의 과정이 용이하게 변하기 때문에 진세노사이드 내부에 존재하는 당의 가수분해가 용이하게 변한 것으로 판단된다 (Chen *et al.*, 2009).

4. 초고압 증숙 복합 공정에 따른 벤조피렌 함량 변화

증숙 공정을 할 경우 카라멜 반응으로 인해 생성되는 발암 물질 중 하나인 벤조피렌의 양을 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 열수 추출의 경우 100℃의 온도에서 추출하기 때문에 미량의 벤조피렌이 검출 되지만 상온에서 처리하는 초고압 공정의 경우 0.05 ppb으로 매우 적은 양의 벤조피렌이 생성되는 것을 확인하였다. 일반 증숙 공정의 경우에는 0.22 ppb으로 비교적 다른 공정보다는 많은 양의 벤조피렌을 얻었지만, 초고압 증숙 복합 공정을 같이 사용할 경우 오히려 0.06 ppb으로 벤조피렌의 농도가 감소한 결과를 얻었다 (Hu *et al.*,

Table 2. Benzo[α]pyrene contents in the cultured-root in wild ginseng from several different processes.

Treatment [†]	Benzo[α]pyrene contents (ppb)
WE	0.17 ± 0.08
SPE	0.22 ± 0.01
HPE	0.05 ± 0.01
Complex Process	0.06 ± 0.01

[†]WE: The extract of cultured-root in wild ginseng by water extraction at 100 °C; SPE: The extract of cultured-root in wild ginseng by steaming process at 90 °C for 12 h; HPE: The extract of cultured-root in wild ginseng by ultra high pressure extraction at 500 MPa for 30 min; Complex Process: The extract of cultured-root in wild ginseng by ultra high pressure and steaming process.

2008). 이러한 결과는 상기의 초고압 공정을 통해 전처리된 산삼배양근은 셀룰로오스의 변형 등으로 인한 수증기의 확산 및 침투가 용이하기 때문에 단 1회만 증숙을 하여 다른 공정과 비교하여 적은 양의 벤조피렌이 생성된 것으로 판단된다 (Chen *et al.*, 2009). 따라서, 초고압 증숙 복합 공정을 통해 산삼배양근을 추출 할 경우 벤조피렌의 함량이 적으면서, 고농도의 저분자 진세노사이드 Rh2 및 Rg3를 얻을 수 있는 매우 효과적인 공정이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국산업단지공단 생산기술사업화 지원사업 (과제번호: 1415117875)의 지원에 의하여 수행된 결과로 이에 감사를 드립니다.

LITERATURE CITED

- Bao HY, Zhang J, Yeo SJ, Myung CS, Kim HM, Kim JM, Park JH, Cho JS and Kang JS. (2005). Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. Archives of Pharmacol Research. 28:335-342.
- Chae JM. (1996). Maceration methods for SEM observation. Keimyung Medical Journal. 15:75-85.
- Chen R, Meng F, Zhang S and Liu Z. (2009). Effects of ultrahigh pressure extraction conditions on yields and antioxidant activity of ginsenoside from ginseng. Separation and Purification Technology. 66:340-346.
- Choi WY, Lee CG, Song CH, Seo YC, Kim JS, Kim BH, Shin DH, Yoon CS, Lim HW and Lee HY. (2012). Enhancement of low molecular ginsenoside contents in low quality fresh ginseng by fermentation process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:117-123.
- Doh ES, Chang JP, Lee KH and Seong NS. (2007). Ginsenoside change and antioxidation activity of fermented ginseng. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:255-265.
- Jin L, Han JG, Ha JH, Jeong HS, Kwon MC, Ahn JH, Kim JC, Choi GP, Chung EK and Lee HY. (2008). Effect of

- immune activity on *Berberis koreana* Palibin by ultra high pressure low temperature process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 16:439-445.
- Jeong CS, Chakrabarty D, Hahn EJ, Lee HL and Paek KY.** (2005). Effects of oxygen, carbon dioxide and ethylene on growth and bioactive compound production in bioreactor culture of ginseng adventitious roots. Biochemical Engineering Journal. 27:252-263.
- Jeong HS, Han JG, Ha JH, Jin L, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Choi GP, Park UY and Lee HY.** (2009). Enhancement of anticancer activities of *Ephedra sinica*, *Angelica gigas* by ultra high pressure extraction. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:102-108.
- Jeong HS, Kang TS, Woo KS, Paek KY, Yu KW and Yang SJ.** (2005). Effects of cultured wild ginseng roots on the alcoholic fermentation. Korean Journal of Food Preservation. 12:402-410.
- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H and Surh YJ.** (2000). Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. Cancer Letters. 150:41-48.
- Kim KD, Song GJ and Kim HT.** (2001). Preparation of TiO₂ nanoparticles using vapor hydrolysis in continuous reaction method. Applied Chemistry. 5:52-55.
- Kim KT, Hong HD and Kim SS.** (2009). Quality characteristics of ginseng treated by hot air drying after being dried using super-heated steam. Journal of Ginseng Research. 33:361-366.
- Kim SE, Lee YH, Park JH and Lee SK.** (1999). Ginsenoside-Rs3, a new diol-type ginseng saponin, selectively elevates protein levels of p53 and p21WAF1 leading to induction of apoptosis in SK-HEP-1 cells. Anticancer Research. 19:487-491.
- Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK, Kim CK and Park JH.** (2000). Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. Journal of Natural Products. 63:1702-1704.
- Hayashi R, Kawamura Y and Kunugi S.** (1987). Introduction of high pressure to food processing : Preferential proteolysis of β -lactoglobulin in milk whey. Journal of Food Science. 52:1107-1108.
- Hong HD, Kim YC, Rho JH, Kim KT and Lee YC.** (2007). Changes on physicochemical properties of *Panax ginseng* C. A. Meyer during repeated steaming process. Journal of Ginseng Research. 31:222-229.
- Hu SJ, Jin SH and Choi DM.** (2008). Analysis of benzo(a)pyrene in red ginseng beverage. Journal of Food Hygiene and Safety. 23:26-30.
- Park SJ, Kim DH, Paek NS and Kim SS.** (2006). Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). Journal of Ginseng Research. 30:57-99.
- Seo YC, Choi WY, Kim JS, Cho JS, Kim YO, Kim JC and Lee HY.** (2011). Enhancement of anticancer activities from lithospermum erythrorhizon extracts by ultra high pressure process. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:103-110.
- Son SH and Hall RB.** (1990). Multiple shoot regeneration from root organ cultures of *Populus grandidentata*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 20:53-57.
- Sung TK, Lee JS and Lee HG.** (2012). Benzo(a)pyrene contents in commercial vegetable oils and changes during processing of vegetable oils. Korean Journal of Food Science and Technology. 44:269-273.
- Wang ZH, Li CH, Zhang CG and Wang XD.** (1998). Study on the wild ginseng and cultured ginseng in northeast of china. Proceedings of International Symposium on Ginseng. 109-114.
- Yang BW, Han ST and KO SK.** (2006). Quantitative analysis of ginsenosides in red ginseng extracted under various temperature and time. Korean Journal of Pharmacognosy. 37:217-220.
- Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee JS and Jeong HS.** (2006). Change of korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. Korean Society of Food Science and Technology. 38:521-523.
- Yang HC.** (1977). Studies on the saponin of ginseng leaves. Research Paper in Chungnam University. 8:117-121.
- Yi JH, Kim MY, Kim YC, Jeong WS, Bae DW, Hur JM and Jun MR.** (2010). Change of ginsenoside composition in red ginseng processed with citric acid. Food Science and Biotechnology. 19:647-653.
- Yoo BS, Chang MS and Byun SY.** (2003). Characterization of cell cultures and ginsenoside production by cultured ginseng and wild mountain ginseng. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 18:133-139.
- Yu KW, Murthy HN, Jeong CS, Hahn EJ and Paek KY.** (2005). Organic germanium stimulates the growth of ginseng adventitious roots and ginsenoside production. Process Biochemistry. 40:2959-2961.
- Yeom MH, Lee JY, Kim JS, Park CW, Kim DH and Kim HK.** (2010). The anti-aging effects of korean ginseng berry in the skin. Process Biochemistry. 41:26-30.