

한국전통 산양삼 식초와 홍삼 식초의 기능성분과 항산화 작용

안창호[†] · 양병욱^{1†} · 고성권^{*}

세명대학교 한방식품영양학과, ¹세명대학교 바이오제약산업학부

Functional Ingredients and Antioxidant Activity of Korean Traditional Wild Simulated Ginseng Vinegar and Red Ginseng Vinegar

Chang Ho Ahn[†], Byung Wook Yang^{1†} and Sung Kwon Ko^{*}

Department of Oriental Medical Food & nutrition, Semyung University

¹School of Industrial Bio-Pharmaceutical Science, Semyung University

Abstract

The purpose of this study was to prepare Korean traditional vinegar using ginseng radices (wild simulated ginseng, red ginseng), and to investigate its functional ingredients and functionality. The total amino acid content of red ginseng vinegar and wild simulated ginseng vinegar was 124.36 mg% and 168.37 mg%, respectively, which was confirmed to be higher than the total amino acid content of red ginseng and wild simulated ginseng (70.71 mg%, 76.29 mg%). In addition, the polyphenol contents of red ginseng vinegar and wild simulated ginseng vinegar were 73.26 mg/g and 82.43 mg/g, respectively, which was confirmed to be higher than that of red ginseng and wild simulated ginseng (43.42 mg/g, 51.32 mg/g). And also, the DPPH electron donating ability of red ginseng vinegar and wild simulated ginseng vinegar was 893.26 µg/mL, 803.92 µg/mL, which showed that the scavenging ability was better than that of red ginseng and wild simulated ginseng (1253.21 µg/mL, 1021.01 µg/mL). On the other hand, it was confirmed that red ginseng vinegar and wild simulated ginseng vinegar contain 0.024% and 0.028% of compound K, a unique component of fermented ginseng, which is not contained in red ginseng and wild simulated ginseng. From these results, it was confirmed that Korean traditional vinegar using ginseng radices is a traditional functional food with functional ingredients and antioxidant activity.

Key words: Korean Traditional vinegar, Wild simulated ginseng, Red ginseng, Compound K, DPPH, Antioxidant activity

서 론

우리나라가 원산식물인 인삼(*Panax ginseng*)은 동양 최고의 본초서인 신농본초경(神農本草經)의 상약(上藥)으로 전승되어 온 생약으로 산에서 자생하는 것은 산삼, 논, 밭에서 재배하는 것을 인삼, 산삼의 종자를 산중에서 파종하여 자연광 무농약, 무시비로 재배하는 것은 산양삼(wild simulated ginseng)이라 한다(Kim et al., 2016). 전한의 사유(史游)가 저술한 급취장(急就章)에서 처음 삼(蔘)이 기록된 이후 후한(A.D. 196-220)시대 장중경의 상한론(傷寒論)에서 인삼이 함유된 21편의 처방전이 기록되어 있으며 신농본초경에서는 인삼을 상약(上藥)으로 분류하고 산지와

효능[무독(無毒), 보오장(補五臟), 안정신(安精神), 정혼백(定魂魄), 지경계(地驚悸), 명목(明目), 익지(益智), 구복(久服), 경신(輕身), 연년(延年)] 등이 자세히 기록되어 있어 고대로부터 약효를 인정받고 널리 이용되어 왔음을 알 수 있다.

또한 인삼의 생리활성물질에 대한 관련 연구가 활발히 진행되면서 고려인삼의 효능과 과학적 우수성(Ko, 2009)을 증명하였고 홍삼에서 분리한 ginsenoside Rg3의 췌장암(Jiang et al., 2017)과 전립선암(Peng et al., 2017)의 항암 작용이 뛰어난도 밝혀졌고 Oh et al. (2015)은 홍삼의 추출물이 암세포의 사멸을 유도하여 암세포의 감소를 가져온다는 논문도 발표하였다. 그리고, Dong et al. (2017)은 인삼 추출물이 신진대사에 효과가 있다는 논문을 발표하였으며, Nam et al. (2014)은 *Ginkgo biloba*와 ginsenoside Rg3 고농도 함유 조성물로 조성된 YY162가 활성산소의 증가를 막고 항스트레스에 효과가 있다는 것을 밝혀내기도 하였다. Saba et al. (2018)은 ginsenoside Rg3를 포함한 홍삼의 추출물이 당뇨병병증에 탁월한 효능이 있다고 발표하기도 하였다. 또한 기능성 물질의 추출방법도 다양하게 시도되어 Kim et al. (2016)은 홍삼의 prosapogenin 함량이 추

[†]Chang Ho Ahn and Byung Wook Yang were equal contributors to this manuscript

^{*}Corresponding author: Sung Kwon Ko, Department of Oriental Medical Food & nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea
Tel: +82-43-649-1433, C.P.: +82-10-6272-8845

E-mail: skko@semyung.ac.kr

Received December 7, 2020; revised February 9, 2021; accepted February 5, 2021

출의 조건에 따라 달라진다는 논문을 발표하였고 Lee et al. (2012)은 아홉 번 찢 홍삼보다 여덟 번 찢 홍삼의 Rg3의 함량이 더 높다는 연구결과를 발표하기도 하였다. 한편, 장뇌로 통칭되던 산양삼이 재배인삼보다 인삼 사포닌인 ginsenoside의 함량이 월등히 높을 뿐 아니라 효능 면에서도 뛰어나다고 알려져 있다(Ko & Im, 2009). Tu et al. (2017)은 산양삼이 유도인지기능장애개선에 탁월한 효능을 발휘한다는 논문을 발표하였다. Ko & Leem (2009)은 산양삼, 중국 장뇌삼, 4년근 재배인삼 등을 실험을 통하여 산양삼이 중국산 장뇌나 재배인삼보다 총 사포닌 함량이 2.46배가량 높은 것으로 나타났다고 발표하였고 산양삼의 화학성분에 대한 연구(Han et al., 2007)에서도 괄목할 만한 연구결과를 내어 놓았다. 이외에도 국내외의 우수한 학자들과 각국의 연구소에서 인삼과 산양삼에 대한 많은 연구가 끝없이 이루어지고 있으나 세계 약선음식을 주도하는 한국, 중국, 일본에서 조차 인삼, 홍삼, 산양삼 등을 주재료로 한 기능성 약선식초에 대한 연구는 찾아볼 수 없다. 그러나 미래의 식초산업은 전통적인 미생물발효방식의 식초, 지방마다 각기 다른 곡물, 과일, 산약초, 한약재 등을 이용하여 빚은 식초들이 기존의 공장형 주정식초, 합성식초들을 밀어내고 한층 고급화, 다양화된 식초시장을 형성할 것이며 또한 공장형식초에 대한 부정적인 인식이 증가함에 따라 각종 기능성 식초시장의 잠재력은 대단할 것이라 사료된다. 그러나 첨단농법에 의한 농산물의 과잉생산으로 가격이 폭락하고, 기후변화에 따른 불량 농산물들과 생산과정에서 부주의로 인한 상품성 저하 등은 생산농가의 실질소득 저하와 글로벌 시장에서 경쟁력 약화로 직결되어 진다. 이러한 문제점들을 조금이나마 해소하기 위하여 잉여 농산물이나 상품성이 저하된 홍삼과 산양삼을 이용한 우리의 기능성 약선 식초의 개발은 이태리의 balsamico, 중국의 진로초, 일본의 흑초와 비견되는 명품 식초가 될 것으로 사료된다. 따라서, 산양삼과 홍삼을 이용한 한국전통식초의 기능성분 과 항산화작용을 검토하여 신기능성 규명을 통한 약선 식품 개발에 기초정보를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 백미는 2017년 10월에 충청북도 제천시 봉양읍 명도리에서 생산된 쌀을 충북 제천시 소재 『청정 의립지 쌀 도정 공장』을 통하여 구입하여 황국 제조에 사용하였다.

발효산양삼주와 발효홍삼주를 빚는데 사용한 쌀누룩은 2017년 10월에 충북 제천 소재 『청정 의립지 쌀 도정 공장』을 통하여 구입하여 쌀누룩 제조에 사용하였다. 산양삼은 강원도 정선군 임계면 소재 산양삼포(황진숙 재배)에서

생산하고 건조한 산양삼을 구입하여 발효 산양삼 제조에 사용하였다. 홍삼은 충북 진천군 소재 『(주)다정』에서 홍삼을 구입하여 발효홍삼 제조에 사용하였다(Fig. 1).

사용균주

알코올발효에 사용한 균주는 한국미생물 보존센터(KCCM)에서 분양 받은 *Aspergillus oryzae* (ATCC 16507)를 사용하였고, 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* (La Parisienne, France)를 구입하여 사용하였다. 그리고 초산발효에 필요한 균주는 *Acetobacter pasteurianus* (KCTC 12289)를 사용하였고 쌀누룩은 직접 생산한 누룩을 사용하였다.

백미 황국 제조

발효산양삼과 발효홍삼을 제조하기 위한 황국 제조는 백미를 백세 하여 4시간 침지 한 후 1시간 물 빼기를 한 다음 시루에 넣고 증기로 30분간 쪄서 고두밥을 만든다. 만들어진 고두밥을 30°C까지 냉각시킨 후에 *Aspergillus oryzae* (ATCC 16507)를 백미 량의 0.001%를 접종하여 품온 35-40°C를 유지 시키고 뒤집기를 4회 하면서 28시간 발효시켜 황국을 제조하였다. 발효 시 품온은 40°C를 넘지 않도록 주의하여야 하며 발효가 끝나면 38°C의 온도로 수분함량이 10% 미만이 될 때까지 건조시켜서 밀봉한 후 5°C 미만의 냉장고에 보관하고 발효산양삼과 발효홍삼 제조용 원료로 사용하였다.

쌀누룩 제조

백미를 백세 하여 12시간 물에 불린다. 불린 쌀을 채에 받쳐서 1시간가량 물을 뺀다. 백미 량의 1/3의 밀가루를 불린 쌀에 골고루 입혀주고 채로 쳐서 여분의 밀가루를 털어내고 준비된 연잎의 1/3 가량을 가위로 잘게 썰어서 밀가루를 입힌 불린 쌀과 함께 골고루 섞은 후 남은 연잎으로 덮어서 면포로 싸서 공기가 잘 통하는 채반에 넣고 43°C가 넘지 않도록 온도 관리하다가 10일 후에 온도가 상온으로 내려가고 황국이 잘 피었으면 잘 펼쳐서 건조한 후에 5°C 미만의 냉장고에 보관하고 발효홍삼주와 발효산양삼주 제조용 원료로 사용하였다.

발효 산양삼 제조

본 실험에 사용된 산양삼은 강원도 정선군 소재의 『황진숙 산양삼포』에서 생산하고 건조한 산양삼을 구입하여 발효 산양삼 제조에 사용하였다. 식초용 술을 제조하기 위한 발효 산양삼 제조는 8% 포도당 배지에 건조하여 잘게 찢 산양삼 30 g을 잠기도록 넣고 배양기에서 38°C 온도로 48시간 배양하였다. 배양이 끝난 산양삼을 18 cm scale의 바닥에 깔고 미리 만들어 놓은 황국에 35% 가수한 다음 배양된 산양삼이 보이지 않도록 넣은 후 배양기에서 38°C의

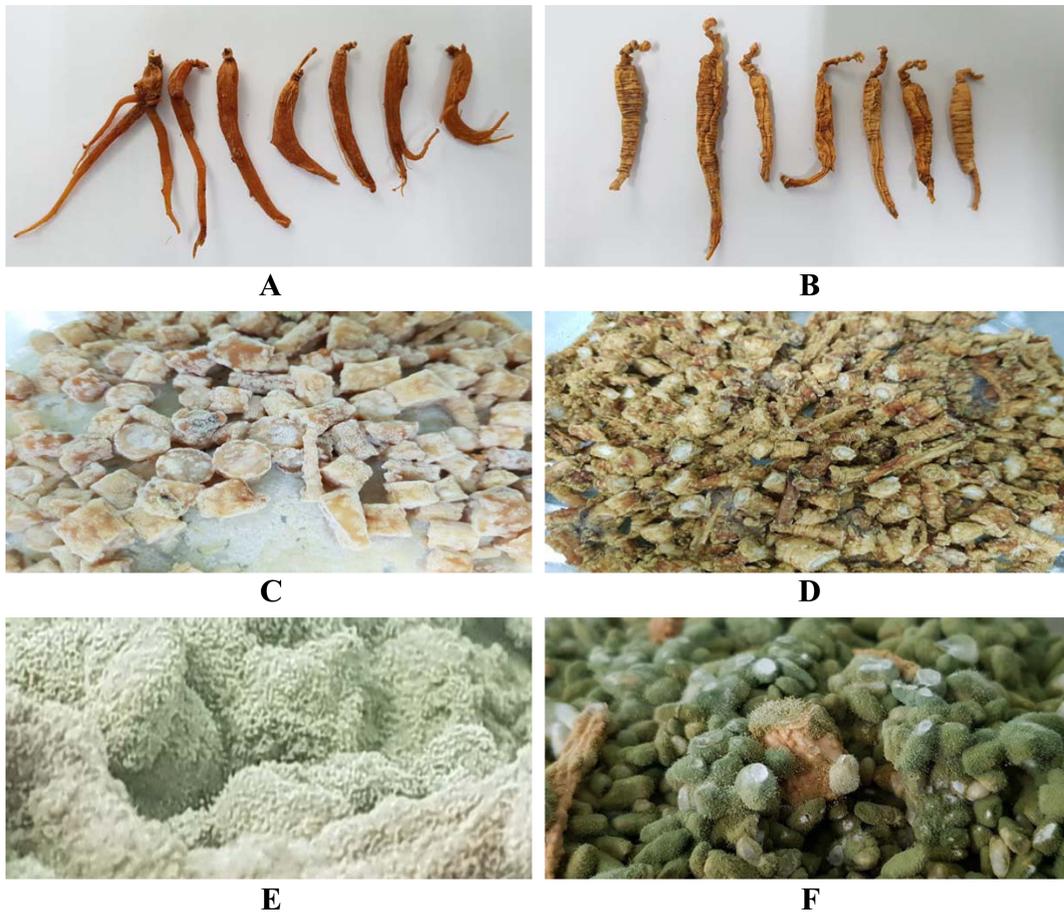


Fig. 1. The photograph of wild simulated ginseng, red ginseng experimental materials. A: red ginseng (RG), B: wild simulated ginseng (WSG), C: fermented red ginseng, D: fermented wild simulated ginseng, E: saccharified red ginseng, F: saccharified wild simulated ginseng.

온도로 48시간 동안 발효시켜서 발효 산양삼을 만들었다.

발효 홍삼 제조

본 실험에 사용된 홍삼은 충북 진천군 소재 『 ㈜다정』에서 생산된 홍삼을 발효홍삼 제조에 사용하였다. 식초용 술을 제조하기 위한 발효홍삼 제조는 8% 포도당 배지에 건조하여 잘게 썬 홍삼 30 g을 잠기도록 넣고 배양기에서 38°C 온도로 48시간 배양하였다. 배양이 끝난 홍삼을 18 cm schale의 바닥에 깔고 미리 만들어 놓은 黃麴에 35% 가수한 다음 배양된 홍삼이 보이지 않도록 넣은 후 배양기에서 38°C의 온도로 48시간 동안 발효시켜서 발효 홍삼을 만들었다.

발효 산양삼주 제조

배양이 끝난 발효 산양삼을 18 cm schale의 바닥에 깔고 미리 만들어 놓은 황곡에 35% 가수한 다음 산양삼 보이지 않도록 넣은 후 배양기에서 38°C의 온도로 48시간 동안 발효시키고 난 후 5 L 전통옹기에 넣고 직접 빻은 전통쌀누룩 60 g과 물 300 mL를 가수하고 1 g의 효모를 첨가하여 많이 저어준 후 상온에서 2일 동안 발효시킨다. 2일이

지난 후에 증자한 고두밥 300 g과 물 1,200 mL를 덧술 하여 4일간 발효시켜 발효 산양삼주를 만들었다.

발효 홍삼주 제조

배양이 끝난 발효 홍삼을 18 cm schale의 바닥에 깔고 미리 만들어 놓은 황곡에 35% 가수한 다음 산양삼이 보이지 않도록 넣은 후 배양기에서 38°C의 온도로 48시간 동안 발효시키고 난 후 5 L 전통옹기에 넣고 직접 빻은 전통쌀누룩 60 g과 물 300 mL를 가수하고 1 g의 효모를 첨가하여 많이 저어준 후 상온에서 2일 동안 발효시킨다. 2일이 지난 후에 증자한 고두밥 300 g과 물 1,200 mL를 덧술 하여 4일간 발효시켜 발효 홍삼주를 만들었다.

초산균 증초 발효

증초 발효용 균주는 한국미생물 보존센터에서 분양받은 초산균 *Acetobacter pasteurianus* (KCTC 12289)을 사용하였으며, 조성된 YPM 액체배지 200 mL를 500 mL용 삼각플라스크에 넣어 121°C에서 20분간 멸균하였다. 그리고 배지 중에 포함되는 초산과 에탄올은 멸균된 배지를 60°C 까지 냉각한 후에 산도 10%의 식초를 이용하여 초산 2%

와 에탄올 4%를 첨가하여 제조하였다. 여기에 초산균 1 백금이(白金耳)를 접종하여 32°C에서 2일간 정치발효하고 형성된 균막을 진탕하여 액중에 혼탁 시킨 후 종초로 사용하였다.

식초 제조

본 실험의 정치발효 식초제조 조건은 발효 효율과 온도 유지를 위하여 배양기의 온도를 33°C로 맞추고 발효 홍삼주와 발효 산양삼주를 알코올함량 6%로 조정하고 술 양의 10%의 종초를 넣어 저어주고 40일 후 총산도 5.5%에 도달 하도록 초산 발효를 실시하였다.

유리아미노산 함량 측정

Yoon (2014)의 조건을 응용하여 시료의 유리 아미노산 정량은 시료중 제단백을 위하여 시료 10 mL에 ethyl alcohol 300 mL를 가한 다음 실온에서 하룻밤 방치시켜 단백질을 제거하고 원심분리(8,000 rpm/15 min)한 후 중탕에서 알코올을 날려 보낸 후 citrate buffer (pH 2.2) 10 mL 가하여 희석시킨 다음 0.45 µm membrane를 통과시켜 여과한 여액을 아미노산 자동분석기를 이용하여 분석하였다. 사용한 아미노산 자동분석 장치는 Amino acid analyzer L-8900 (Hitachi Co, Tokyo, Japan)이며, 칼럼은 #2622PF Column (4.6×60 mm; Hitachi Co, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 검출한계(Detection Limit)는 3 pmol (S/N 2, Asp), 주입용량(Injection volume)은 20 µL, 검출기는 Photometer (Hitachi Co, Tokyo, Japan)이고, 검출파장은 Ex = 440 nm, Em = 570 nm를 이용하여 검출하였다.

홍삼 및 산양삼 엑스 조제

홍삼 및 산양삼을 세말하고, 시료 각각 5 g씩에 70% 에틸알코올 250 mL를 넣고, 50°C 이하에서 2시간씩 2회 초음파(Sonicator 4020P, Kodo Technical Research Co., Ltd, Hwaseong, Korea) 추출하여 여과 후, 감압 건조하여 홍삼 및 산양삼 엑스를 얻었다.

홍삼주 및 산양삼주 엑스의 조제

홍삼주 및 산양삼주를 각각 400 mL을 50°C 이하에서 2시간 1회 초음파(Sonicator 4020P) 추출하여 여과 후, 감압 건조하여 홍삼주 및 산양삼주 엑스를 얻었다.

홍삼 식초 및 산양삼 식초 엑스 조제

홍삼 식초 및 산양삼 식초를 각각 200 mL을 50°C 이하에서 2시간 1회 초음파(Sonicator 4020P) 추출하여 여과 후, 감압 건조하여 홍삼주 및 산양삼주 엑스를 얻었다.

조 사포닌(crude saponin) 조제

위에서 얻은 엑스 각 2 g에 Ko et al. (2011)의 조건을

응용하여 디에틸에테르(diethylether) 50 mL를 가하여 1시간씩 3회 초음파 세정기(Sonicator 4020P)로 추출한 후, 원심분리 하여 상등액을 제거한다. 얻은 잔사에 수포화 부탄올(butanol) 50 mL를 가하여 2시간씩 3회 추출하고, 원심분리 하여 상등액을 취하여 여과하고, 감압 농축을 하여 조 사포닌을 얻는다.

HPLC-ginsenoside의 분석

위에서 얻은 엑스를 Ko et al. (2011)의 조건을 응용하여 HPLC를 실시하고, 상법에 따라 표품과 직접 비교하여 인삼사포닌의 함량 및 조성을 각 시료당 3회 반복 실험하여 결과의 재현성을 확인하여 분석하였다. 표품은 Chromadex (USA)와 엠보연구소(Korea)로부터 구입한 순도 99% 이상의 ginsenoside를 사용하였다. 사용한 HPLC 장치는 Waters 1525 binary HPLC system (Waters, Milford, MA, USA)이며, 칼럼은 Eurospher II 100-5 C18 (3×250 mm; Knauer, Germany)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile (HPLC grade; Sigma-Aldrich Chem Co., USA)과 증류수(HPLC급, B&J, USA)이며, acetonitrile의 비율을 17% (0 min)에서 25% (25 min), 41% (50 min), 60% (105 min) 그리고 100% (110 min)로 순차적으로 늘려주고 마지막으로 다시 17%로 조절하였다. 전개온도는 실온, 유속은 분당 0.8 mL, 크로마토그램은 uv/vis Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector (Waters, USA) 검출기를 이용하여 203 nm에서 검출하였다.

Polyphenol 함량

각각의 조성으로 만들어진 시료의 페놀 함량은 Joanna et al. (2012)에 의해 보고된 Folin-ciocalteu방법을 사용하였다. 시료 0.1 mL에 Folin-ciocalteu reagent 0.05 mL 및 20% sodium carbonate 0.3 mL를 혼합하였다. 15분 후 증류수 1 mL를 넣어 첨가 한 후, UV-vis spectrophotometer (V-530, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀성 화합물의 함량은 표준물질인 gallic acid (Sigma Chemical Co.)를 사용하여 검량선을 작성한 다음 정량하여 GAE (Gallic acid equivalents)로 나타내었다.

DPPH 전자공여능

제조된 각각의 식초의 DPPH 전자 공여능은 Blois et al. (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 농도별로 조제한 추출액에 methanol 4 mL, 0.15 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 1 mL를 혼합하여 실온에서 30분간 안정화시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험에서는 DPPH 라디칼을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도(SC₅₀)로 나타냈으며, 항산화제로 사용되고 있는 L-ascorbic acid를 control로 사용하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 산양삼 및 홍삼을 이용한 한국전통식초의 기능성분 및 항산화작용을 검토하여 신기능성 규명을 통한 약선 식품 개발에 기초정보를 제공하고자 하였다.

유리아미노산 함량

식초 중에 함유되어 있는 아미노산은 식초의 맛, 관능에 영향을 주는 성분이다. 또한 식초내의 조성은 원재료의 종류에 비해 차이가 나며 현재까지 17종류의 아미노산이 보고되어져 있으며, 홍삼 및 산양삼을 첨가하여 30일간 정치 발효한 식초의 유리 아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

필수아미노산(essential amino acid, EAA)은 체내에서 합성되지 않거나 합성되더라도 그 양이 매우 적어 생리기능을 달성하기에 충분하지 않아서 반드시 음식에서 섭취해야만 하는 아미노산을 말하며, 성인의 경우에는 9종, 소아의 경우에는 아르지닌을 포함해서 10종으로 Threonine, Valine, Methionine, Iso-leucine, Leucine, Phenylalanine, Tryptophan, Lysine, Histidine, Arginine이 있다.

아미노산중 필수아미노산 10종은 인삼류 식초(산양삼 식초, 홍삼 식초) 시료에서는 모두 분석되었으며, 홍삼(RG)와 산양삼(WSG)의 총 아미노산 함량은 각각 70.71, 76.29 mg%로 측정되었고, 홍삼 식초(RGV)와 산양삼 식초(WSGV)의 총 아미노산 함량은 각각 124.36, 168.37 mg%

로 측정되어서, 1.75배와 2.21배 높은 함량을 나타내었다.

필수 아미노산중 하나인 Threonine 함량은 WSGV > RGV > WSG > RG 순으로 높았으며 RG의 1.87 mg%에 비하여 WSG (2.12 mg%)는 1.08배, RGV (2.73 mg%)는 약 1.49배, WSGV (4.21 mg%)는 2.3 배가량 높은 함량을 나타내었다. 또한, Valine 함량은 RG의 6.22 mg%에 비하여 WSG (6.25 mg%)는 1.01배, RGV (8.94 mg%)는 약 1.44배, WSGV (9.00 mg%)는 1.45배가량 높은 함량을 나타내었다.

지방간에 내복되는 methionine의 함량은 RG의 0.63 mg%에 비하여 WSG이 0.75 mg% 로 약간 많았으나 RGV은 4.45 mg% 9배가, WSGV는 RG에 비하여 10배가량 증가하여서 5.22 mg%를 나타내었다. Iso-leucine은 RG (6.19 mg%)와 WSG (6.34 mg%)가 서로 비슷하였으나 RGV 10.06 mg%, WSGV 11.26 mg%로 각각 증가하였다. Leucine 함량은 WSGV > RGV > WSG > RG 순으로 많았으며, WSGV (10.65 mg%)는 RG (6.85 mg%) 대비 약 1.48배 높아졌다.

Phenylalanine 함량은 RG의 16.11 mg%에 비하여 WSG은 16.17 mg%, RGV은 19.12 mg%, WSGV는 26.25 mg%로 분석되었으며 RG 대비 각각 높아지는 경향을 보였다. Tryptophan은 RG와 WSG에서는 분석되지 않았는데, RGV와 WSGV에서는 각각 1.42 mg%, 2.47 mg%가 분석되었다. Lysine 함량은 RG의 8.19 mg%에 비하여 WSG은 8.98 mg%로 비슷하였으나 RGV은 8.39 mg%, WSGV 10.16 mg%로 측정되었다.

Histidine은 RG에서는 분석되지 않았는데, WSG, RGV와

Table 1. Contents of free amino acid in ginseng and ginseng vinegar

(unit: %, w/w)

Free amino acid	RG ¹⁾	WSG ²⁾	RGV ³⁾	WSGV ⁴⁾
Aspartic acid	3.27±0.12	4.12±0.12	13.12±0.05	18.11±0.06
Threonine	1.87±0.17	2.12±0.10	2.73±0.10	4.21±0.07
Serine	0.54±0.02	0.97±0.13	3.11±0.11	5.05±0.17
Glutamic acid	5.98±0.42	6.45±0.16	8.04±0.34	10.15±0.23
Glycine	0.43±0.02	0.49±0.02	0.62±0.17	1.95±0.17
Alanine	0.93±0.07	1.11±0.11	2.33±0.21	3.32±0.18
Valine	6.22±0.41	6.25±0.31	8.94±0.48	9.00±0.32
Cysteine	1.36±0.15	1.23±0.10	5.26±0.27	5.77±0.01
Methionine	0.63±0.01	0.75±0.17	4.45±0.14	5.22±0.12
Iso-Leucine	6.19±0.26	6.34±0.26	10.06±0.17	11.26±0.31
Leucine	6.85±0.37	6.86±0.01	9.25±0.23	10.65±0.61
Tyrosine	2.54±0.14	2.74±0.16	4.00±0.17	5.18±0.19
Phenylalanine	16.11±1.12	16.17±0.91	19.12±0.13	26.25±2.12
Tryptophan	N.D.	N.D.	1.42±0.16	2.47±0.43
Lysine	8.19±0.62	8.98±0.11	8.39±0.05	10.16±0.01
Histidine	N.D.	0.47±0.11	1.28±0.19	4.17±0.61
Arginine	3.01±0.10	3.52±0.07	4.10±0.27	8.24±0.02
Proline	6.59±0.23	7.72±0.26	18.14±1.28	27.21±2.87
Total	70.71±0.21	76.29±0.03	124.36±1.21	168.37±2.43

¹⁾ Red ginseng

²⁾ Wild simulated ginseng

³⁾ Red ginseng vinegar

⁴⁾ Wild simulated ginseng vinegar

Values represent the mean±SD (n=3).

WSGV에서는 각각 0.47 mg%, 1.28 mg%, 4.17 mg%가 분석되었다. Arginine의 함량은 RG의 3.01 mg%에 비하여 WSG는 3.52 mg%로 비슷하였으나 RGV는 4.10 mg%, WSGV 8.24 mg%로 측정되었다.

한편, 필수 아미노산은 아니지만, TCA회로와 오르니틴회로 양쪽 대사과정에 관여하는 중요한 아미노산인 Aspartic acid 함량은 초산발효 전보다 후가 월등히 높았으며 WSGV > RGV > WSG > RG 순으로 높았으며, RG의 3.27 mg%에 비하여 WSGV는 18.11 mg%로 약 5.5배가 높았으며, RGV는 13.12 mg%로 약 3.5배, WSG는 4.12 mg%로 1.6배가 높았다. Serine 함량은 RG의 0.54 mg%에 비하여 WSG (0.97 mg%)는 약 1.9배, RGV (3.11 mg%)는 5.8배 WSGV (5.05 mg%)는 9.8배나 증가되었다.

감칠맛의 Glutamic acid의 함량은 RG의 5.98 mg%에 대비하여 WSG (6.45 mg%)는 약 1.24배, RGV (8.04 mg%)는 약 1.41배, WSGV (10.15 mg%)는 1.63배로 분석되었다. Glycine의 함량은 다른 아미노산에 비하여 큰 차이는 나지 않았으나 RG의 0.43 mg%에 비하여 WSGV는 1.95 mg%로서 1.97배가 높은 함량을 나타내었다. Alanine은 RG의 0.93 mg%에 비하여 WSG (1.11 mg%)는 1.47배, RGV (2.33 mg%)는 2.37 배, WSGV (3.32 mg%)로 4.04배 높게 분석되었다.

Cysteine의 함량은 RG (1.36 mg%)와 WSG (1.23 mg%)는 차이가 크지 않았으나, RGV (5.26 mg%), WSGV (5.77

mg%)의 함량은 3.87배와 4.69배의 높은 함량을 나타내었다. 또한, Proline의 함량에 있어서도 RG (6.59 mg%)와 WSG (7.72 mg%)는 차이가 크지 않았으나, RGV (18.14 mg%), WSGV (27.21 mg%)의 함량은 2.75배와 3.53배의 높은 함량을 나타내었다.

Moon et al. (1997)은 식초의 종류별 성분과 관능적 특성분석에서 식초의 아미노산은 원료에서 유래하지만 식초 중의 아미노산은 초산 발효 중에 초산균이 아미노산을 자화하여 아미노산의 30%-60%가 감소한다고 하였으며 glutamic acid, aspartic acid, proline, alanin의 감소가 크다고 하였고, 시판식초의 유리아미노산 함량은 1.14-4.20 mg%로 비교적 낮은 값을 보였다고 보고하였다.

반면에, 산양삼 식초와 홍삼 식초의 유리아미노산 함량은 산양삼과 홍삼에 비하여 2.21배와 1.75배 높은 함량을 나타내었으며, 시판 양조식초에 비해서도 높은 함량을 나타내었다. 이상의 결과로 부터 산양삼 및 홍삼 식초 제조 시 아미노산 성분이 증대되는 경향을 확인할 수 있었으며, 맛과 기능성에 영향을 줄 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

인삼 사포닌 함량

홍삼을 발효하면, 미생물이 분비하는 효소에 의해서 가수분해가 일어나서 술이나 식초를 제조시 생성되는 인삼

Table 2. The composition and contents of ginseng saponin in ginseng and ginseng vinegar (% , w/w)

Ginsenosides	RG ²⁾	RGV ³⁾	WSG ⁴⁾	WSGV ⁵⁾
Rb ₁	0.288±0.004	0.045±0.000	0.500±0.003	-
Rb ₂	0.093±0.002	0.003±0.000	0.155±0.002	0.007±0.000
Rc	0.314±0.004	0.102±0.003	0.474±0.018	0.150±0.000
Rd	0.033±0.000	0.034±0.000	0.041±0.001	0.012±0.000
Re	0.616±0.006	-	0.862±0.002	-
Rf	0.059±0.001	0.062±0.000	0.072±0.000	0.026±0.000
Rg ₁	0.177±0.004	0.334±0.005	0.239±0.001	0.465±0.000
Rg ₂	0.016±0.000	0.071±0.001	0.020±0.001	0.005±0.000
Rg3-R	0.004±0.000	0.020±0.000	-	0.015±0.000
Rg3-s	0.006±0.000	0.011±0.000	-	0.016±0.000
Rg5(e)	0.047±0.002	-	-	-
Rk1+Rg5(z)	0.006±0.000	-	-	-
Rg6	0.034±0.003	0.049±0.001	-	0.007±0.000
Rh1	0.005±0.000	-	0.002±0.000	-
Rh4	0.004±0.000	-	-	-
Rk3	0.004±0.000	0.145±0.000	-	0.070±0.000
Compound K	-	0.024±0.000	-	0.028±0.000
F1	-	0.007±0.000	-	0.015±0.000
F4	0.034±0.001	0.134±0.000	-	0.026±0.001
Total ginsenosides ¹⁾	1.738	1.042	2.366	0.843

¹⁾ Sum of individual ginsenosides content

²⁾ Red ginseng

³⁾ Red ginseng vinegar

⁴⁾ Wild simulated ginseng

⁵⁾ Wild simulated ginseng vinegar

Values represent the mean±SD (n=3).

prosapogenin 성분(compound K)이 산생(Ko & Im, 2009; Ko & Cho, 2016)된다고 하는 점에 착안하여, 본 연구는 홍삼 식초 및 산양삼 식초의 인삼 사포닌의 함량을 HPLC 법으로 비교분석하였다.

각 시료의 인삼사포닌 함량 비교 분석을 실시한 결과, 각 ginsenoside의 총합인 총 사포닌(total saponin) 함량에 있어서는 Table 2에서 보는바와 같이 본삼류(홍삼, 산양삼)

에서는 산양삼(WSG)이 2.366%로 홍삼(RG, 1.738%)보다 높은 함량을 나타내었다. 알코올 발효한 시료에 있어서는 홍삼 알코올 발효 시료(홍삼주)가 산양삼 알코올 발효 시료(산양삼주)보다 높은 함량을 나타내었다(data not shown). 또한 초산 발효시킨 식초류에 있어서는 홍삼 식초(RGV)가 1.042%로 산양삼 식초(WSGV, 0.843%)보다 높은 함량을 나타내었다. 발효 과정에 의해 산생되는 기능성 사포닌의

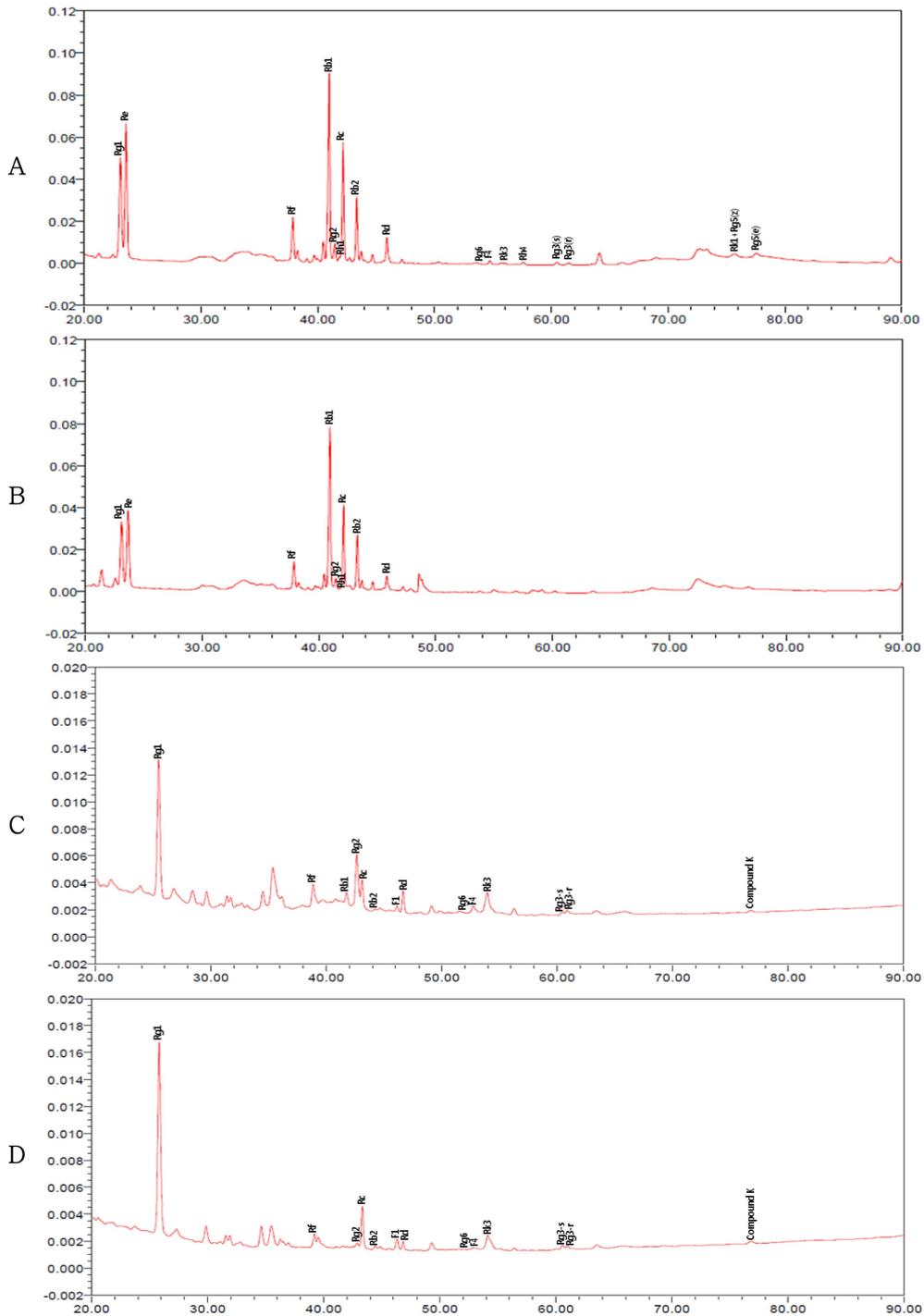


Fig. 2. HPLC chromatograms of ginsenosides detected from ginseng and ginseng vinegar. A: red ginseng (RG), B: wild simulated ginseng (WSG), C : red ginseng vinegar (RGV), D: wild simulated ginseng vinegar (WSGV).

로 항암작용(Chen et al., 2019), 항당뇨작용(Hwang et al., 2018)을 나타내는 compound K에 있어서는 알코올 발효한 시료에 있어서는 홍삼주가 산양삼주보다 높은 함량을 나타내었다. 반면에 초산 발효시킨 식초류에 있어서는 산양삼 식초(WSGV)가 0.028%로 홍삼 식초(RGV, 0.024%)보다 높은 함량을 나타내었다(Table 2).

Fig. 2에서 보는바와 같이 홍삼을 썰 때, 열에 의해서 생성되는 항염작용(Keum et al., 2000), 암세포성장 억제작용(Kim et al., 1999), 혈압강화작용(Kim et al., 2000), 뇌신경세포 보호작용(Bao et al., 2005), 항혈전작용(Jung et al., 1998), 항산화작용(Keum et al., 2000)을 나타내는 기능성 성분인 ginsenoside Rg3는 초산 발효시킨 식초류에 있어서 산양삼 식초(WSGV)가 0.031%로 홍삼 식초(RGV, 0.031%)와 같은 함량을 나타내었다. 이와 같은 결과로부터 홍삼 식초와 산양삼 식초는 기능성 성분을 함유하고 있는 것이 확인되었으며, 특히, 발효인삼류 엑스에 존재하는 기능성분인 compound K가 함유됨이 증명되어서 초산발효 시에도 compound K가 생성 함유된다고 하는 것을 확인할 수 있었다.

Polyphenol 함량

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이것들의 phenolic hydroxyl이 단백질처럼 거대분자와 결합하여 항균, 항암, 혈압강화작용, 간보호 작용, 진정작용, 항산화작용 등 여러 가지 생리기능을 갖는 것으로 알려져 있어, 최근 식물 중의 페놀 함량에 대한 조사가 증가하고 있다. 항산화성 성분 및 항 혈전 생리활성을 나타내는 페놀성 성분중 catechin, rutin, quercetin, isorhamnetin은 특히 주목을 받고 있다. 홍삼 및 산양삼을 첨가하여 정치 발효한 식초의 폴리페놀의 함량은 Table 3과 같다. 발효 전 홍삼(RG)은 43.42 mg/g, 산양삼(WSG)은 51.32 mg/g의 값을 나타내었고, 정치 발효 후 식초의 페놀함량은 산양삼 식초(WSGV)가 82.43 mg/g, 홍삼 식초(RGV)는 73.26 mg/g을 나타내었다. Cho (2012)의 보고에 의하면 녹차추출액의 폴리페놀 함량은 약 118 mg/g이었고, 비타민나무 잎차 알콜 추출액의 폴리페놀 함량은 약 66 mg/g 이었다. 이와 비교해보면 발효 후의 홍삼 및 산양삼 식초의 폴리페놀 함량은 녹차추출액의 62-70% 가량으로 발효전의 홍삼 및 산양삼의 폴리페놀 함량보다 다소 증가함을 확인할 수 있었다.

DPPH 전자공여능을 통한 항산화 활성 분석

인체에서 활성 산소는 산소 라디칼에 의하여 산화적 손상을 초래함으로써 독성을 나타내며, 활성산소의 산화적 손상은 glutamate 수용체의 과 활성 및 흥분성 아미노산의 분비를 유도하여 세포독성을 나타내는데 전자공여능의 작용은 자유라디칼에 전자를 공여하여 식품의 지방산화를 억

Table 3. Total polyphenol content of ginseng and ginseng vinegar
(unit: GAE mg/g)

Samples	Total Polyphenol
RG ¹⁾	43.42±2.31
WSG ²⁾	51.32±1.23
RGV ³⁾	73.26±1.32
WSGV ⁴⁾	82.43±2.36

¹⁾ Red ginseng

²⁾ Wild simulated ginseng

³⁾ Red ginseng vinegar

⁴⁾ Wild simulated ginseng vinegar

Values represent the mean±SD (n=3), GAE: gallic acid equivalents.

Table 4. DPPH scavenging activity of ginseng and ginseng vinegar
(unit: SC₅₀ (µg/mL))

Samples	DPPH scavenging activity
RG ¹⁾	1,253.21±103.21
WSG ²⁾	1,021.01±98.03
RGV ³⁾	893.26±73.28
WSGV ⁴⁾	803.92±82.32
Ascorbic acid	5.21±0.12

¹⁾ Red ginseng

²⁾ Wild simulated ginseng

³⁾ Red ginseng vinegar

⁴⁾ Wild simulated ginseng vinegar

Values represent the mean±SD (n=3).

제하고 인체 내에서는 자유 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 주로 이용되어진다(Cho et al., 2012). 이 때문에 활성산소의 산화적 손상을 제거하는 방법의 하나로 식물에서 항산화효과가 뛰어난 활성물질을 추출하거나 이용하려는 경향이 커지고 있으며, 라디칼 소거 작용은 인체의 질병과 노화 방지에 중요한 역할을 한다고 보고(Blios et al., 1958)하였다. 본 실험에서는 DPPH 라디칼을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도(SC₅₀)로 나타냈으며, 천연 항산화제로 사용되고 있는 L-ascorbic acid를 control로 사용하였다. 홍삼 및 산양삼을 첨가하여 정치발효 식초를 제조한 후 DPPH 전자 공여능을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 홍삼(RG)은 1,253.21 µg/mL, 산양삼(WSG)은 1,021.01 µg/mL, 홍삼 식초(RGV)는 893.26 µg/mL, 산양삼 식초(WSGV)는 803.92 µg/mL로 나타났으며, Cho (2012)가 보고한 녹차추출액(33-132 µg/mL), 비타민나무 잎차 추출액(29-55 µg/mL) 결과와 비교해보면 상당히 낮은 항산화 효과를 보였으나, 식초 발효 전과 후를 비교해 보면 식초 발효를 통해 라디칼 소거능이 홍삼 식초(RGV)는 1.40배, 산양삼 식초(WSGV)는 1.27배 높아진 것을 확인할 수 있었다.

결론

홍삼 식초와 산양삼 식초의 총 아미노산 함량은 각각 124.36, 168.37 mg%로서 홍삼과 산양삼의 총 아미노산 함

량(70.71, 76.29 mg%)보다 증가된 것으로 확인할 수 있었다. 또한, 홍삼 식초와 산양삼 식초의 polyphenol 함량은 각각 73.26 mg/g, 82.43 mg/g으로 홍삼과 산양삼(43.42 mg/g, 51.32 mg/g)의 함량보다 증가된 것으로 확인할 수 있었다. 그리고, 홍삼 식초와 산양삼 식초의 DPPH 전자 공여능은 893.26 µg/mL, 803.92 µg/mL로 홍삼과 산양삼(1,253.21 µg/mL, 1,021.01 µg/mL)보다 각각 1.40배, 1.27배 라디칼 소거능이 좋아지는 것으로 나타났다. 한편, 홍삼 식초와 산양삼 식초에는 홍삼 및 산양삼에는 함유되어 있지 않는 발효인삼 특유성분인 compound K를 0.024%와 0.028%를 함유한다는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과를 바탕으로 산양삼과 홍삼을 활용한 한국전통식초는 기능성분 및 항산화 작용을 갖는 전통약식초가 될 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업(과제번호: 119023-3)의 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Bao HY, Zhang J, Yeo SJ, Myung CS, Kim HM, Kim JM, Park JH, Cho JS, Kang JS. 2005. Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. *Arch. Pharm. Res.* 28: 335-342.
- Blios MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Chen HF, Wu LX, Li XF, Zhu YC, Wang WX, Xu CW, Huang ZZ, Du KQ. 2019. Ginsenoside compound K inhibits growth of lung cancer cells via HIF-1 α -mediated glucose metabolism. *Cell Mol Biol.* 65: 48-52.
- Cho EA. 2012. Antioxidant activity of Sea buckthorn leaf tea extract compared with green tea extract. Seoul national university master's thesis.
- Dong WW, Zhao J, Zhong FL, Zhu WJ, Jiang J, Wu S, Yang DC, Li D, Quan LH. 2017. Biotransformation of Panax ginseng extract by rat intestinal microflora: Identification and quantification of metabolites using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Ginseng Res.* 41: 540-547.
- Han ST, Shin CG, Yang BW, Hahm YT, Sohn UD, Im BO, Cho SH, Lee BY, Ko SK. 2007. Analysis of ginsenoside composition of woods-grown ginseng roots. *Food Sci. Biotechnol.* 16: 281-284.
- Hwang YC, Oh DH, Choi MC, Lee SY, Ahn KJ, Chung HY, Lim SJ, Chung SH, Jeong IK. 2018. Compound K attenuates glucose intolerance and hepatic steatosis through AMPK-dependent pathways in type 2 diabetic OLETF rats. *Korean J Intern Med.* 33: 347-355.
- Jiang J, Yuan Z, Sun Y, Bu Y, Li W, Fei Z. 2017. Ginsenoside Rg3 enhances the anti-proliferative activity of erlotinib in pancreatic cancer cell lines by downregulation of EGFR/PI3K/Akt signaling pathway. *Biomed Pharmacother.* 96: 619-625.
- Joanna C, Pawel P, Shela G, Aneta J, Pawel Z. 2012. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereals breads. *Food Science and Technology* 46: 548-555.
- Jung KY, Kim DS, Oh SR, Lee IS, Lee JJ, Park JD, Kim SI, Lee HK. 1998. Platelet activating factor antagonist activity of ginsenosides. *Biol. Pharm. Bull.* 21: 79-80.
- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. 2000. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.* 150: 41-48.
- Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK, Kim CK, Park JH. 2000. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J. Nat. Prod.* 63: 1702-1704.
- Kim SE, Lee YH, Park JH, Lee SK. 1999. Ginsenoside-Rs₃, a new diol-type ginseng saponin, selectively elevates protein levels of p53 and p21 WAF1 leading to induction of apoptosis in SK-HEP-1 cells. *Anticancer Res.* 19: 487-491.
- Kim SJ, Shin JY, Ko SK. 2016. Changes in the contents of prosapogenin in Red ginseng (*Panax ginseng*) depending on the extracting conditions. *J Ginseng Res.* 40: 86-89.
- Ko SK. 2009. Comparison of properties and components in woods grown ginseng and cultivated ginseng. *Korean Journal of Wild Ginseng* 4: 27-42.
- Ko SK, Cho SH. 2016. Ginseng saponin composition contents in red discolored mountain cultivated ginseng. *Ginseng Academic Journal* 10: 34-40.
- Ko SK, Cho OS, Bae HM, Im BO, Lee OH, Lee BY. 2011. Quantitative analysis of ginsenosides composition in flower buds of various ginseng. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 54: 154-157.
- Ko SK. 2009. Effects and Scientific Superiority of Panax ginseng. *Food culture* 2: 63-68.
- Ko SK, Im BO. 2009. Science of Panax ginseng, 56. Yakup Shinmoon, Seoul, Korea.
- Ko SK, Leem KH. 2009. Discussion of ginseng properties through a historical research of Korean ginseng. *Kor. J. Herbology.* 24: 169-172.
- Lee SA, Jo HK, Im BO, Kim S, Whang WK, Ko SK. (2012) Changes in the Contents of Prosapogenin in the Red Ginseng (*Panax ginseng*) Depending on Steaming Batches. *J Ginseng Res.* 36: 102-106.
- Moon SY, Chung HC, Yoon HN. 1997. Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. *Korean J Food Sci Technol.* 29: 663-670.
- Nam Y, Shin EJ, Shin SW, Lim YK, Jung JH, Lee JH, Ha JR, Chae JS, Ko SK, Jeong JH, Jang CG, Kim HC. 2014. YY162 prevents ADHD-like behavioral side effects and cytotoxicity induced by Aroclor1254 via interactive signaling between antioxidant potential, BDNF/TrkB, DAT and NET. *Food Chem Toxicol.* 65: 280-292.
- Oh JS, Jeon SB, Lee Y, Lee H, Kim J, Kwon BR, Yu KY, Cha JD, Hwang SM, Choi KM, Jeong YS. 2015. Fermented red ginseng extract inhibits cancer cell proliferation and viability. *J*

- Med Food. 18: 421-428.
- Peng Y, Zhang R, Kong L, Shen Y, Xu D, Zheng F, Liu J, Wu Q, Jia B, Zhang J. 2017. Ginsenoside Rg3 inhibits the senescence of prostate stromal cells through down-regulation of interleukin 8 expression. *Oncotarget* 8: 64779-64792.
- Saba E, Kim SH, Kim SD, Park SJ, Kwak D, Oh JH, Park CK, Rhee MH. 2018. Alleviation of diabetic complications by ginsenoside Rg3-enriched red ginseng extract in western diet-fed LDL^{-/-} mice. *J Ginseng Res.* 42: 352-355.
- Tu TT, Sharma N, Shin EJ, Tran HQ, Lee YJ, Nah SY, Tran HP, Jeong JH, Ko SK, Byun JK, Kim HC. 2017. Treatment with mountain-cultivated ginseng alleviates trimethyltin-induced cognitive impairments in mice via IL-6-dependent JAK2/STAT3/ERK signaling. *Planta Med.* 83: 1342-1350.
- Yoon JR. 2014. Quality Characteristics of Vinegar added with Sea Buckthorn(*Hippophae rhamnoides*) Leaf Extract and Berry Juice by Different Fermentation Methods, Ph.D. thesis. Myongji Univ., Yongin, Korea.

Author Information

안창호: 세명대학교 한방식품영양학과 강사
 양병욱: 세명대학교 바이오제약산업학부 교수
 고성권: 세명대학교 한방식품영양학과 교수