

최종보고서

경기 인삼(홍삼) 우수성 구명

Search of Differnece for High Quality in
Ginseng(Red ginseng) Cultivated in Gyeonggi
Porovince

연구기관

경희대학교

경기도농업기술원

 경기도행정자료실



B00000030034

최종보고서

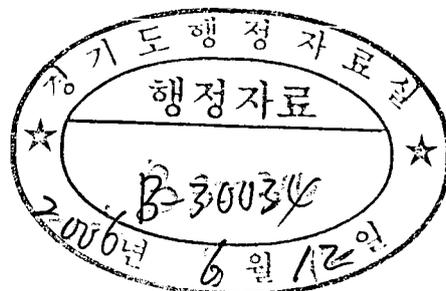
경기 인삼(홍삼) 우수성 구명

Search of Differnece for High Quality in Ginseng(Red ginseng) Cultivated in Gyeonggi Porovince

연구기관

경희대학교

경기도농업기술원



DF 524.8
정137

제 출 문

2005년도 제2농업연구소 학술용역사업에 의하여 완료한 경기 인삼(홍삼) 우수성 구명에 관한 연구의 최종 보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

- 첨부 : 1. 최종보고서 50부
2. 요약보고서 30부
3. CD 5장

2006. 02

주관연구기관 : 경희대학교
총괄연구책임자 : 양 덕 춘
주관연구기관장 : 경희대학교 총장

경기도농업기술원장 귀 하

목 차

I. 연구배경 및 목적

1. 인삼의 역사와 효능
 - (1) 인삼의 역사 -----1
 - (2) 인삼의 성분 -----1
 - (3) 사포닌의 약리작용 -----4
2. 연구의 목적 및 필요성 -----6

II. 재료 및 방법

1. 2004년 홍삼 시료 수집 및 2005년 인삼 수집
 - (1) 지역별 기후 조사 -----7
 - (2) 2004년 지역별 홍삼 시료수집 -----9
 - (3) 2005년 지역별 인삼 시료 수집 -----10
2. 인삼의 조직학적 분석
 - (1) 아밀로펙틴과 아밀로스의 함량 측정방법 -----11
 - (2) 조직밀도의 측정 및 홍삼의 경도 차이 조사 -----12
3. 인삼의 주요 성분 비교
 - (1) 사포닌 분석 및 차이 구명 -----14
 - (2) 향기성분 차이 조사 -----21
4. 지역별 인삼근권 토양의 미생물상 비교
 - (1) T-RFLP 원리 및 방법 -----21

III. 연구 결과

1. 2004년 홍삼 분석 결과
 - (1) 지역별 홍삼의 Total extract 및 saponin 분석 -----24
 - (2) T-RFLP를 이용한 2004년 병든인삼과 정상인삼의 토양 미생물 다양성 비교분석 -----26
2. 2005년 지역별 인삼 실험 결과
 - (1) amylose and amylopectin 분석 -----28
 - (2) 지역별인삼의 밀도 측정결과 -----29
 - (3) 지역별 홍삼의 경도 측정결과 -----30
 - (4) 지역별 사포닌 분석 -----30
 - (5) 지역별 인삼의 향기성분 분석 결과 -----35

- IV. 결론 및 제언 -----36

학술용역연구 최종보고서

연구과제명	국 문	경기인삼(홍삼) 품질우수성 구명					
	영 문	Search of Difference for High Quality in Ginseng (Red ginseng) Cultivated in Gyeonggi Porovince					
책임연구원 (연구총괄책임자)	소 속 기 관	경희대학교	직 위	부교수	전화번호	031-201-2688	
	성 명(한문)	양 덕 춘 (梁德春)		전 공	유전 육종	F A X	031-202-2687
	담 당 과 목	약용식물유전체	세부전공	한방재료가공			
연구 기간	2005년 5월 ~ 2006년 2월 (0년 10개월)		연구형태	문헌(○), 조사(○), 실험(○)			
	단독(○), 공동()						
연구참여자	연구원(책임연구원 제외)		명	연구보조원	1 명		
연구비	신 청 액	29,580,000					
	자비 및 기타						

2005 년 04 월 31 일

소속기관장 : 경희대학교산학협력처

연구책임자 : 양 덕 춘

경기도농업기술원장 귀하

연구 요약

본 연구는 고려인삼 그중에서도 포천, 연천과 비무장지대를 포함한 경기지역 인삼에 대한 우수성을 구명하여 타 지역 인삼과의 차별화를 꾀하고 지역홍보효과 및 지역 농가에 대한 소득증대를 목적으로 연구를 시작하였다. 연구를 위하여 풍기, 부여, 충북, 안성, 김포, 개성 6개조합의 2004년산 홍삼을 구입 하여 1차 실험을 수행하였으며, 2차 실험을 위하여 인삼 수확시기에 포천, 강화, 연천, 음성, 충주, 홍천, 진안, 공주, 김포, 이천, 풍기 지역의 인삼을 지역별로 2채씩 구입하였다. 그러나 이들 지역 중에서 음성과 충주지역은 5-6년근을 구입하지 못하였고, 강화, 연천, 진안 지역에서는 매우 왜소한 규격미달의 인삼이 보내져 시료의 균일성에서 너무 많이 벗어나 분석을 포기하였다.

인삼의 홍삼 가공 시 상품성을 알아보기 위하여 수분함량과 전분분석 및 홍삼의 경도 측정 등 조직학적 분석을 수행한 결과 수분함량은 이천 천풍(66.35%)과 김포(67.30%) 지역인삼이 가장 낮았고 밀도에 있어서도 김포(1.03)와 이천천풍(0.97)이 가장 높은 지수를 보였다. 조건분 분석은 김포(32%)와 이천 천풍(32%)이 가장 많았으며 경도측정에서는 김포가 가장 높은 수치를 보였다.

조직학적 분석을 종합해보면 다음과 같은 결론을 예측할 수 있다. 수분함량이 낮고 밀도지수가 높으며 조건분 함량이 높을수록 홍삼을 만들었을 때 홍삼의 강도가 높을 것이라는 것을 예측할 수가 있다. 따라서 수행한 모든 조직학적 분석에서 다른 지역에 비하여 양호한 결과를 나타낸 이천과 김포지역의 인삼은 홍삼 및 인삼(홍삼)정과 등으로 가공하였을 때 상품가치가 높을 것으로 추정된다.

인삼의 주요성분으로는 인삼 특유의 향기성분과 인삼 효능주체가 되는 인삼 사포닌(ginsenoside)을 들 수 있다. 향기성분과 사포닌 분석을 수행한 결과 향기성분의 조성은 이천천풍이 타 지역과 달리 매우 독특한 양상을 보였으며 이천 자경종 또한 다른 지역 인삼과 약간의 차이를 보였으나 나머지 지역은 대동소이한 것으로 추정되어진다. 이번 분석은 향기성분의 조성 패턴을 알아보기 위한 전자코 분석으로 각각의 향기성분이 어떤 물질인지는 추정하기 힘들지만 해를 거듭하여 몇 차례 반복실험을 한다면 지역별 혹은 품종별 인삼의 향기성분 조성에 따른 차이를 명확히 할 수 있을 것으로 예상된다.

HPLC 분석결과 일부 경기 북부지역에서 조사포닌 및 총사포닌의 함량이 타 지역보다 대체로 높게 나타났다. 주요 7종 사포닌을 비교한 결과 Rb1은 다른 지역보다 이천과 김포, 포천 지역 인삼에서 많이 검출 되었으며, Rb2는 이천과 김포 지역 인삼에서 월등하게 많은 양이 검출되었다. 따라서 이번 분석에서 사용된 인삼만을 고려할 때 ginsenoside 부분에서 경기지역 인삼이 다른 지역 인삼과 Rb1과 Rb2 부분에서 인삼과 차별화 할 수 있는 점이라 할 수 있다.

I. 연구배경 및 목적

1. 인삼의 역사와 효능

(1) 인삼의 역사

신비의 영약으로 알려진 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오가피나무과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본류로서, 한방에서 그 뿌리를 인삼(*Ginseng radix*)이라 하며 약용으로 사용하고 있다. 인삼이 언제부터 약용으로 사용되었는지 정확히 알려져 있지 않으나, 약 2000년 전 고대 중국의 전한시대(前漢時代) 사유가 저술한 급취장(急就章)에 인삼에 대한 기록이 있고, 중국의 최고 본초서인 신농본초경(神農本草經, A.D456~536)에 인삼의 효능에 대해 비교적 상세하고 구체적으로 기술되어 있다.

우리나라에서 인삼에 대한 기록은 신농본초경에 의하면 삼국시대부터 재배되었다고 소개되어 있다.

인삼은 재배적지에 대한 선택성이 강한 식물이다. 기후, 토양 등의 자연환경이 적당하지 않으면 인삼이 적응하여 생육하기 곤란하고, 설령 생육이 가능하더라도 생산된 인삼의 형태, 품질 및 약효에서 현저한 차이를 나타낸다. 이러한 인삼의 식물학적 특성이 우리나라에서는 최적의 환경조건으로 인정되어 고려인삼은 세계적으로 최고의 품질로 높이 평가되는 이유이다. 하지만 실질적인 인삼의 생리활성물질에 대한 것은 일본 및 외국 연구진에 의해 대다수 연구, 발표되었으며 또한 인삼의 우수성을 인정하여 넓은 영토와 수많은 과학적 지식으로 고려인삼의 우수한 품질을 앞서가려 하고 있는 것이 현재의 실정이다. 실질적으로 수년전부터 서구열강에서는 고려인삼보다 미국의 인삼을 더 좋게 평가하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 이러한 현실을 극복하여 한국의 지역별 인삼을 다각적으로 분석하여 한국인삼의 우수성을 입증하는 한편 각 지역별 인삼의 특성을 구명하여 지역별 차별화를 위한 기초 자료를 마련하고자 수행하였다.

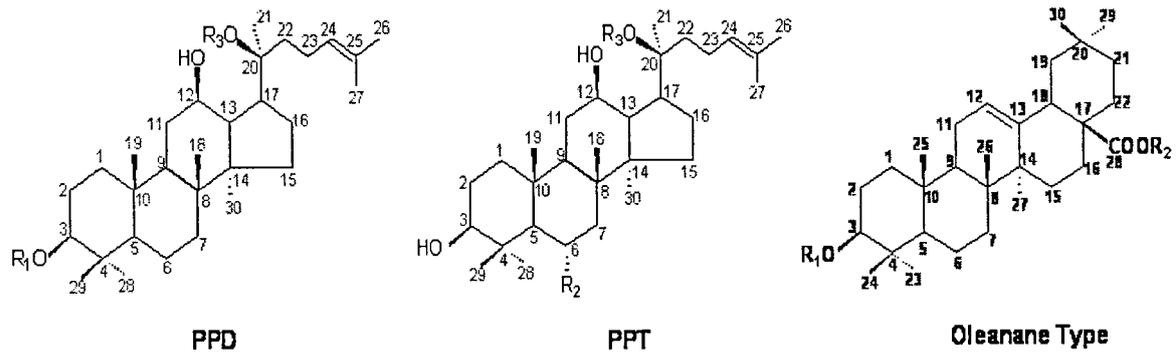
(2) 인삼의 성분

인삼의 성분으로는 사포닌, 페놀성 성분, 폴리아세틸렌 성분, 알카로이드 성분, 다당체 등이 알려져 있다. 특히 사포닌 성분은 함량이 높으면서도 인삼 특이 성분으로 인삼의 생리활성물질 중 하나로 약효에 있어서 가장 중요한 역할을

하는 것으로 알려져 있다. 사포닌 이외의 다른 성분들은 함량이 너무 낮거나 인삼 이외의 다른 식물에도 존재하는 성분들인 경우가 많아 인삼 특유의 약효를 설명하기에는 다소 부족한 점이 있다. 인삼 사포닌은 인삼 건조량에 대하여 약 5% 정도를 차지하고 있는데, 굵은 뿌리 부분에는 전체사포닌의 약 30% 정도인 반면 가는 뿌리에 그 함량이 훨씬 높아 약 70%에 달한다.

화학적으로 인삼사포닌은 dammarane 골격에 3, 6, 또는 20번 위치에 당이 2~5개 붙어있는 배당체 구조로 보통 ginsenoside라고 불린다. 현재까지 40종 이상의 ginsenoside가 인삼으로부터 분리 보고되었다. 그러나 실제 인삼을 추출하여 분석할 때 상당한 양이 검출되는 인삼사포닌은 ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1의 6종이며, 백삼이나 홍삼을 추출하여 분석하는 경우 이 6종이 전체 dammarane 사포닌의 90% 이상을 차지하고 있으며 나머지 사포닌 성분들은 그 함량이 낮다. 이중 6번 위치에 수소가 결합되어 있는 Rb1, Rb2, Rc, Rd등은 protopanaxadiol(PPD) 계열 사포닌이라 하고, 6번째 위치에 산소가 결합된 Re, Rg1등은 protopanaxatriol(PPT)계열 사포닌이라고 한다(표 1.).

표 1. 고려인삼의 대표적 ginsenoside의 종류와 화학구조



Ginsenoside	content (%)	R ₁	R ₂	R ₃
Protopanaxadiol saponin				
ginsenoside -Ra ₁	0.02	-Glc-Glc		-Glc-Ara(pyr)-xyl
-Ra ₂	0.03	-Glc-Glc		-Glc-Ara(fur)-xyl
-Ra ₃	0.005	-Glc-Glc		-Glc-Glc-xyl
-Rb ₁	0.48	-Glc-Glc		-Glc-Glc
-Rb ₂	0.23	-Glc-Glc		-Glc-Ara(pyr)
-Rb ₃	0.014	-Glc-Glc		-Glc-Xyl
-Rc	0.25	-Glc-Glc		-Glc-Ara(fur)
-Rd	0.036	-Glc-Glc		-Glc
malonylginsenoside				
-Rb ₁ **	0.82	-Glc-Glc-Ma		-Glc-Glc
-Rb ₂ **	0.41	-Glc-Glc-Ma		-Glc-Ara(pyr)
-Rc **	0.31	-Glc-Glc-Ma		-Glc-Ara(fur)
-Rd **	0.12	-Glc-Glc-Ma		-Glc
ginsenoside				
-Rs ₁ *	0.008	-Glc-Glc-Ac		-Glc-Ara(pyr)
-Rs ₂ *	0.01	-Glc-Glc-Ac		-GlcAra(fur)
-Rs ₃ *	0.003	-Glc-Glc-Ac		-H
-Rg ₃ (R, S*)	0.029	-Glc-Glc		-H
-Rg ₅ ^{a)} *	0.025	-Glc-Glc		-H
-Rh ₂	0.001	-Glc		-H
quinquenoside -R ₁	0.015	-Glc-Glc-Ac		-Glc-Glc
notoginsenoside -R ₁	0.002	-Glc-Glc		-Glc-Glc-Xyl
Protopanaxatriol saponin				
ginsenoside -Re	0.31		-Glc-Rha	-Glc
-Rf	0.09		-Glc-Glc	-H
-Rg ₁	0.39		-Glc	-Glc
-Rg ₂ (S, R*)	0.034		-Glc-Rha	-H
-Rh ₁ (S, R*)	0.013		-Glc	-H
-Rh ₄ ^{b)} *	0.086		-Glc-Glc	-H
20Glc-ginsenoside -Rf	0.008		-Glc-xyl	-Glc
notoginsenoside -R ₁	0.007			-Glc
Oleanolic acid saponin				
ginsenoside -Ro	0.04	-GlcUA-Glc	-Glc	

약어 -Ara: arabinose, Ac: acetyl, fur: furanosyl,

Glc: glucose, GlcUA: glucuronic acid, Ma: malonyl, pyr: pyranosyl

Rha: rhamnose, Xyl: xylose

a)3-0-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl] damar-20(22), 24-diene-3 β , 12 β -diol

b)6-0- β -D-glucopyranosyl damar-20(22), 24-diene-3 β , 6 α ,12 β -triol

* 홍삼 특유 사포닌, ** 백삼 특유 사포닌

표 2. 각국 인삼의 ginsenoside 종류

구분	파낙사디올계사포닌	파낙사트리올계사포닌	올레인계사포닌	총수
홍삼		Re, Rf, Rg ₁ , Rg ₂ (20S), Rg ₂ (20R), Rh ₁ (20S), Rh ₁ (20R), 20-glc-Rf, N-R ₁ , Rh ₄ , Rf ₂ (11종)	G-Ro (1종)	32종
고려 인삼				
백삼	Ra ₁ , Ra ₂ , Ra ₃ , Rb ₁ , Rb ₂ , Rb ₃ , Re, Rf, Rg ₁ , Rg ₂ , Rh ₁ , Rc, Rd, Rg(20R), m-G-Rb ₁ , m-G-Rb ₃ , m-G-Rc, m-G-Rd, G-R ₁ (14종)	20-glc-Rf, N-R ₁ (7종)	G-Ro (1종)	22종
미국삼	Rb ₁ , Rb ₂ , Rb ₃ , Rc, Rd, Q-R ₁ , Re, Rg ₁ , Rg ₂ , P-F11(4종), G-F ₂ , Gy-XVII(8종)		G-Ro (1종)	13종
전칠삼	Rb ₁ , Rd, Gy-XVII, N-R, N-Fa(5 N-R ₁ , N-R ₂ , N-R ₅ (9종))	Re, Rg ₁ , Rg ₂ , Rh ₁ , 20-glc-Rf,		14종

(3) 사포닌의 약리 작용

인삼의 주요 ginsenoside에 대한 효능을 표3에 정리하였다. 이러한 사포닌 이외에도 페놀성 성분(Phenolic compounds), 폴리아세틸렌 성분(polyacetylene), 알칼로이드(alkaloids), 정유성분(essential oils), 다당체성분(polysaccharides), 단백질과 펩타이드(protein and peptides), 유리당 및 지방산(free sugar and fatty acid), 아미노산, 핵산, 비타민, 리그난성분(amino acid, nucleic acid, vitamin and lignan), 미네랄(minerals)등이 존재하며 이는 사포닌의 생리활성을 직접적 또는 간접적으로 향상시키며 또한 독자적으로도 인체의 생리활성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

표 3. 고려인삼의 ginsenoside의 약리작용

성분	효능
G-Ro	항염증 작용, 혈소판 응집억제, 항트롬빈 작용 및 선용활성화 작용, 평활근 세포증식억제작용.
G-Rb ₁	중추억제 및 정신안정 작용, 중추성 섭식억제작용, 공격성 행동억제, 진통작용, 항경련 작용, 부신 피질 자극호르몬 및 코티코스테론 분비 촉진작용, 항불안작용, 콜레스테롤 생합성 촉진작용, 고콜레스테롤과 중성지방 및 유리지방산의 저하작용, 골수세포의 DNA, RNA, 단백질 및 지질합성, 혈소판 응집 억제작용, 지질과산화 억제작용, 혈관확장작용, 콜레스테롤 대사 촉진작용, 항염증 작용, 간 상해 보호작용, 사염화탄소 유도 간의 단백질 인산화 억제 및 세포내 칼슘 축적억제작용, 탐식기능 활성화 작용, mesenchyme세포증식 억제(신장 사구체 비대억제)
G-Rb ₂	당 및 지방대사 촉진, 항당뇨 작용, ACTH, cAMP, epinephrine유도 지방분해 억제작용, 질소대사 평형 유지작용, 고콜레스테롤 저하 및 항동맥경화 작용, DNA, RNA, 부신피질 자극호르몬, 코티코스테론 분비 촉진작용, 암독소호르몬의 길항작용, 평활근세포 증식 억제작용, 중앙 혈관 신생 억제작용, 항산화 활성물질 생성촉진작용, 간조직의 ATP공급 활성화작용, TXA ₂ 합성효소 억제, 콜레스테롤대사 촉진작용, 간세포 증식 및 DNA 합성촉진, 면역조절작용, 진통작용
G-Rc	진통작용, 코티코스테론 분비 촉진작용, PGI ₂ 생성 촉진작용, 간 혈청콜레스테롤 RNA합성 촉진작용, 골수세포DNA, RNA, 단백질 및 지질합성 촉진작용 prostacyclin생합성 촉진, mesenchyme세포증식 억제(신장사구체 비대억제)
G-Rd	부신피질 자극 호르몬, 코티코스테론 분비촉진작용, mesenchyme세포증식 억제
G-Re	부신피질 자극 호르몬, 코티코스테론 분비촉진, 골수세포의 DNA, RNA, 단백질, 지질합성 촉진작용, 진통작용, 평활근 세포증식억제, 혈관확장작용, 콜레스테롤대사 촉진작용, 간상해(사염화탄소 유도)보호작용, 항고온 스트레스 작용
G-Rf	통증억제 작용, 지질과산화 억제작용, 알코올유도 뇌발육 장애 방어작용
G-Rg ₁	면역기능증강작용, 혈소판 응집억제, 항트롬빈 선용활성화 작용, 기억 및 학습기능 증진작용, 코티코스테로이드 수용체 활성화 작용, 단백질 합성 촉진작용, 항피로 작용, 항스트레스 작용, 중추흥분작용, 혈관확장작용, 고온환경 및 내인성 발열물질 등 유해자극 방어작용, 스트레스성 성행동장애 개선작용, 항신염작용및 신혈류량증대작용, 신경세포생존을촉진작용, 콜레스테롤대사촉진작용, 항염증작용, 간세포 증식 및 DNA 합성 촉진, 부신피질자극 호르몬분비 촉진작용
G-Rg ₂	혈소판 응집억제, 항트롬빈, 선용활성화 작용, 기억감퇴개선, 평활근세포증식억제작용, 아세틸콜린(Ach.)유도 카테콜아민(CA)분비 억제 및 세포내 칼슘유입 억제작용
G-Rg ₃	암세포전이 억제작용, 혈소판 응집억제 및 항혈전작용, 혈관이완 작용, 항암제의 내성 억제작용
G-Rh ₁	실험적 간 상해 억제작용, 중앙세포(F9 cells)분화촉진, 혈소판 응집억제 및 선용활성화 작용
G-Rh ₂	암세포증식 억제작용 재분화유도 촉진작용, 암세포 침윤 억제작용(in vivo), 항암체의 항암활성 증대 작용

2. 연구의 목적 및 필요성

과거 한국은 자타가 공인하는 인삼의 종주국이었지만 세계적으로 인삼에 대한 관심과 연구가 활발히 진행되어지고 인삼의 약리적 우수성과 상품적 가치가 인정됨에 따라 중국, 캐나다, 미국 등 세계 각지에서 인삼 생산이 이루어지고 있으며 자국인삼에 대한 적극적인 연구와 홍보활동이 이루어지고 있다. 반면 한국은 국제시장에서 종주국으로서의 자리를 빼앗긴지 오래이며 국내적으로는 과거 인삼 경작지의 토양환경 악화로 인해 농약에 대한 사용량이 많아지고 지력이 약해짐에 따라 초작지를 찾아 전국적으로 인삼재배지가 확산되고 있는 실정이다. 하지만 각 지역별 인삼의 특징 및 장점 등에 대한 조사연구가 부족하여 일부지역의 좋은 환경에서 생산되어지는 우량인삼이 가치를 인정받지 못하고 있다.

포천, 강화, 연천을 포함한 경기북부지역은 과거 최우량삼을 생산하던 개성과 유사한 기후 및 토양환경을 바탕으로 우수한 인삼을 생산하고 있으며 특히 아직 오염되지 않은 민간인 통제구역(DMZ)를 포함하고 있어 안전하고 우수한 약재 및 건강식으로서의 인삼을 생산하고 있지만 이에 대한 과학적 근거 제시를 위한 연구가 미진하여 지역특성화 및 수익증대를 위한 잠재력만 가지고 있을뿐 개발을 하지 못하는 실정이다. 따라서 경기북부지역 인삼의 특징 및 장점을 과학적으로 구명할 수 있는 연구가 요구되어지고 있다.

본 연구는 고려인삼의 우수성 그중에서도 경기북부지방의 인삼에 대한 타 지역과 물리화학적 비교를 통하여 우수성을 조사하고자 한다. 이러한 비교 데이터를 활용하여 국내 고려인삼의 재배지가 얼마나 좋은 양질의 인삼을 얻을 수 있는지 그리고 국내·외에 여러 비교 실험 자료 및 연구조사를 하여 경기 인삼의 우수성과 차별성을 조사하여 재배 관리자로 하여금 환경적 우월성을 최대한 활용할 수 있도록 하여 보다 우수한 인삼 재배를 도모할 수 있게 하는 한편 지역 홍보효과 및 농가소득 증대를 목적으로 한다.

II. 재료 및 방법

1. 2004년 홍삼 시료 수집 및 2005년 인삼 수집

(1) 지역별 기후 조사

비교실험을 위한 시료수집 지역을 선정하는 기초자료로서 지역별 기후조사를 실시하였다.

- 모든 요소의 관측시각은 동경 135 자오선을 기준으로 한 한국표준시이다.
- 통계 기간은 1971~2000년(30년)이며 관측기간이 30년 미만인 곳은 자료가 있는 모든 기간에 대해 통계 수록하였으나, 그 기간이 10년 미만인 곳은 제외시켰다.

표 4. 재배지역별 연교차 및 강수량, 연평균 기온조사

지역	위도		일 조 시수	연교차	연평균	강수량
	북위	동경				
김포	37.24	126.32	-	25℃	11.7℃	1,319mm
이천	37.03	127.2	190	30℃	11.3℃	1,200mm
포천	-	-	-	34℃	10.5℃	1,300mm
공주	-	-	-	24℃	11.8℃	1,374mm
풍기	-	-	-	28℃	10.9℃	1,515mm
음성	-	-	-	30℃	11.2℃	1,360mm
홍천	-	-	-	35℃	10.8℃	1,141mm
진안	36.02	127.6	167	26℃	12℃	1,300mm

*(-)표는 기상관측소의 부재로 인한 자료 부족.

- 자료의 산출방법

- 기압, 평균기온, 상대습도, 증기압, 운량은 1996년까지 1일 4회, 1997년부터는 1일 8회 (03시, 06시, 09시, 12시, 15시, 18시, 21시, 24시)의 관측값을 평균한 값으로 이용하였다.
 - 기압은 해면기압을 수록하였다.
 - 최고, 최저기온은 그날의 극값(최고, 최저)을 이용하였다.
 - 풍속은 24시간 풍정으로부터 구한 값을 이용하였다.
 - 강수량은 00시부터 24시까지의 일합계 값을 이용하였다.
 - 증발량은 09시부터 다음날 09시까지의 일합계 값을 이용하였다.
- * 모든 기상자료는 지역별 관측소를 기준으로 한 것이기 때문에 실제 인삼 sample을 채집한 지역과 국지적인 차이가 있을 수 있다.

(2) 2004년 지역별 홍삼 시료 수집

일반적으로 인삼 수확은 가을(9월 하순)에 주로 이루어지며, 일부 봄에도 이루어진다. 하지만 봄철 인삼수확은 많지 않기 때문에 연구를 위한 수삼을 구하는데 어려움이 있었다. 따라서 각 지역 인삼 조합에 제고 의뢰를 하였으나 수삼의 부재로 2004년도산 홍삼을 지역조합을 통하여 구입 하였으며, 비용과 연구 수행의 효율을 위하여 풍기, 부여, 충북, 안성, 김포, 개성 6개조합의 홍삼을 최소단위 300g을 주문하였다.

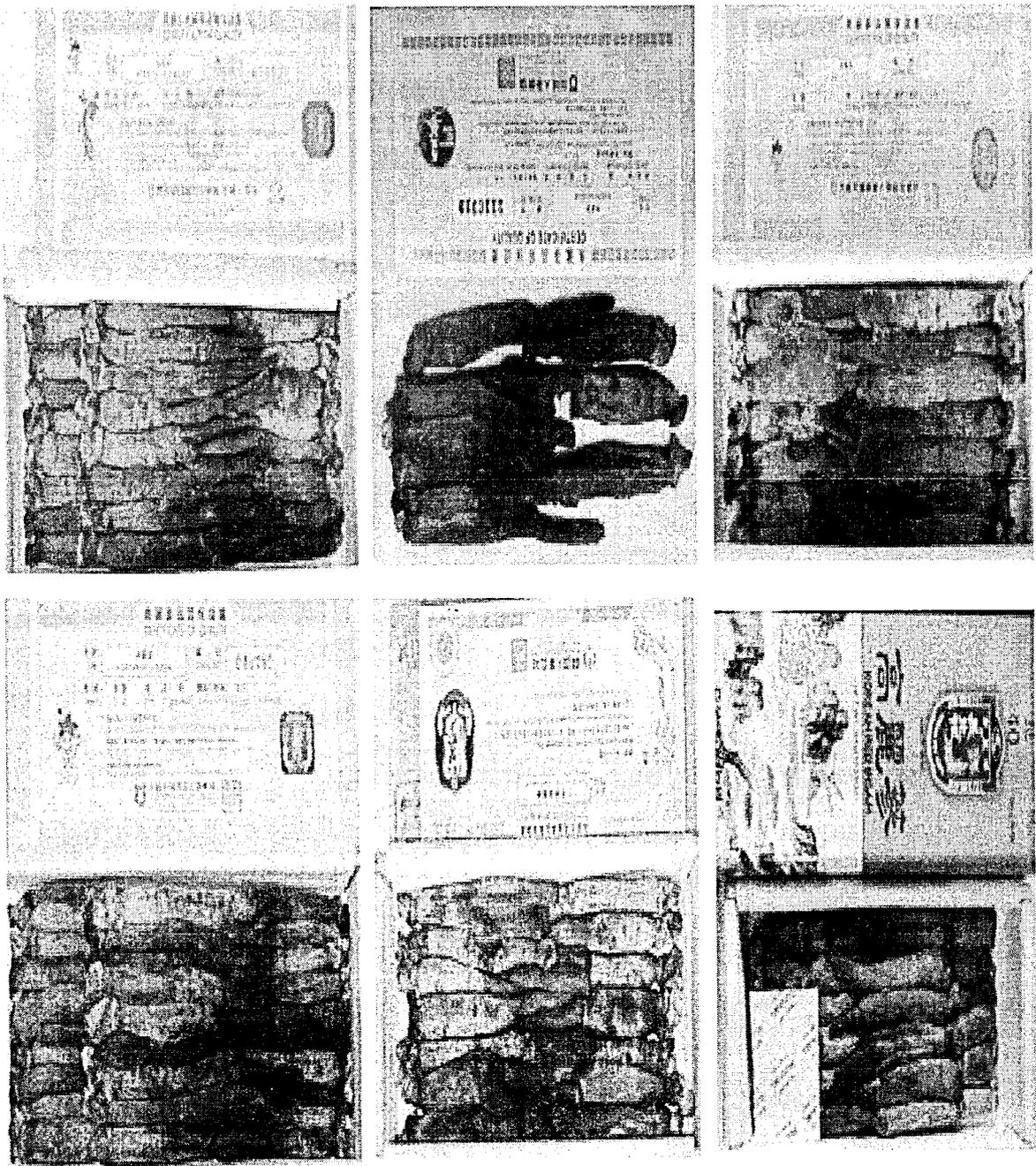
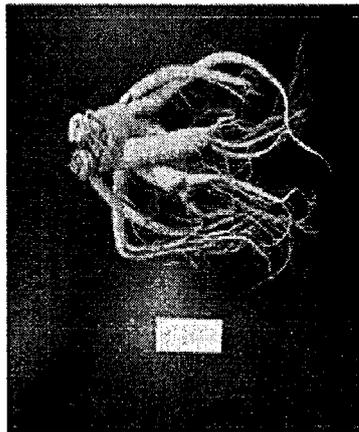


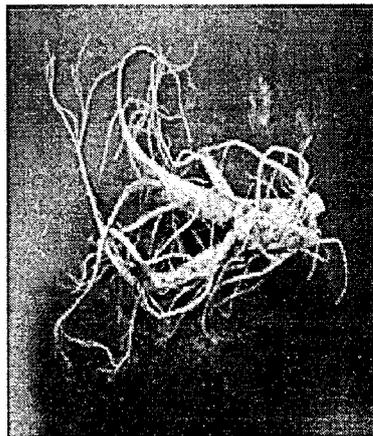
그림 1. 지역조합별 홍삼시료의 사진

(3) 2005년 지역별 인삼 시료 수집

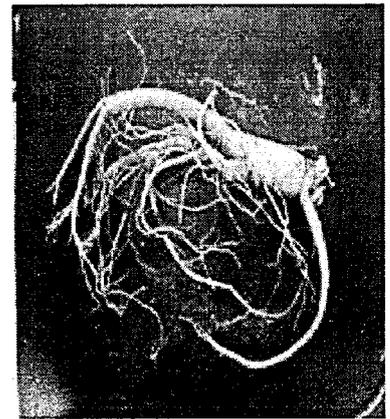
포천, 강화, 연천, 음성, 충주, 홍천, 진안, 공주, 김포, 이천, 풍기 지역 농가 및 관계자에게 연락을 취하고 협조를 요청하여 인삼 수확시기에 지역별로 2채씩 구입하였다. 그러나 이들 지역 중에서 음성과 충주지역은 5-6년근을 구입하지 못하였고, 강화, 연천, 진안 지역에서는 매우 왜소한 규격미달의 인삼이 보내져 시료의 균일성에서 너무 많이 벗어나 분석을 포기하였다. 풍기와 공주 지역의 인삼도 비교적 이천과 연천 지역에 비하여 평균적으로 작은 편이었지만 동체의 굵기가 비교적 대등한 것만을 취하여 시료의 균일성을 중요시하였다.



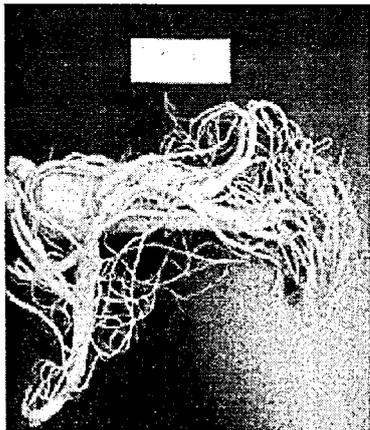
이천 (사경종)



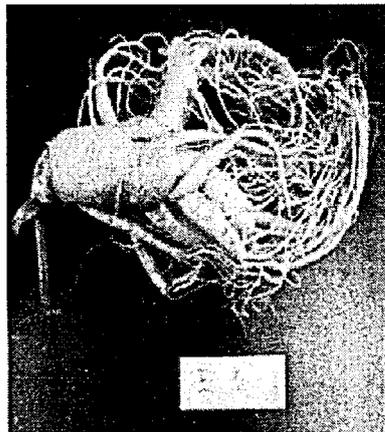
풍기



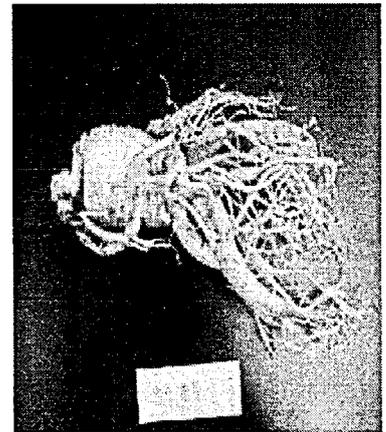
공주



김포



포천



이천(천풍)

그림 2. 2005년 지역별인삼시료 사진

2. 인삼의 조직학적 분석

(1) 아밀로펙틴과 아밀로스의 함량 측정방법

1) 아밀로펙틴 및 아밀로스의 구조와 특징

아밀로펙틴은 찹쌀의 주성분으로 점성이나 강도를 높여주고 아밀로스는 상대적으로 점성과 강도를 떨어뜨리는 성분이다. 또한 인삼이 포함하고 있는 아밀로스와 아밀로펙틴의 함량은 인삼의 강도와 홍삼 가공시 내공·내백 발생 및 강직도에 상당한 영향을 주는 성분이다.

2) 아밀로펙틴의 구조

아밀로펙틴은 $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$, 무미·무취의 백색 분말이며 일반적으로 아밀로스와 함께 녹말을 구성하는 주요성분이다. 아밀로펙틴의 구조는 25~30개의 글루코오스가 α -1, 4-결합으로 연결된 사슬이 기본을 이룬다. 1개의 사슬에 다른 사슬이 나뭇가지처럼 결합하고, 분지한 사슬에는 다시 다른 사슬이 결합하고 있어, 분지가 많은 복잡한 구조를 하고 있다.

3) 분석방법

아밀로스는 물에는 잘 녹지 않으나, 뜨거운 물에는 녹아 풀처럼 된다. 녹말을 뜨거운 물에 녹인 것에 부탄올을 가하면 아밀로스만이 침전하므로 아밀로펙틴을 분리시킬 수 있다. 아밀로펙틴의 수용액에 요오드를 가하면 붉은색을 띤 보라색으로 변한다. 이것은 아밀로펙틴의 검출에 이용된다. 이러한 특성을 이용하여 균일하게 분쇄한 건삼가루를 물과 함께 가열하여 전분을 녹인 뒤 거름종이로 섬유질을 걸러내고 부탄올을 이용해 아밀로스를 침전하는 방법을 이용하여 인삼의 단위 중량당 아밀로스와 아밀로펙틴의 함량을 측정할 수 있다.

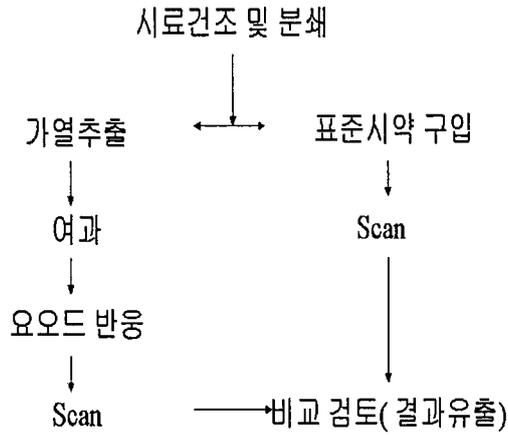


그림 3. 인삼의 전분 분석을 위한 모식도.

(2) 조직밀도의 측정 및 홍삼의 경도 차이 조사

인삼 조직의 밀도가 낮은 경우보다 높을수록 홍삼 가공 후 내공 및 내백이 적을 것을 감안하여 수삼의 조직밀도 측정이 요구되어지며 동일한 조건으로 홍삼을 만든 후의 경도 차이를 분석하고자 하였다.

1) 밀도측정 방법

인삼의 조직밀도측정은 비교적 간단하게 이루어질 수 있다. 우선 지역별 인삼을 수증 진탕법을 이용해 가능한 상처 없이 흙을 잘 씻어낸다. 그런 다음 결면의 물기를 잘 말리고 중량을 측정한 뒤 물을 채운 메스실린더에 인삼을 침지시킨 뒤 늘어난 수위를 측정하여 부피:질량 비를 측정하여 밀도를 측정하는 방법이다.

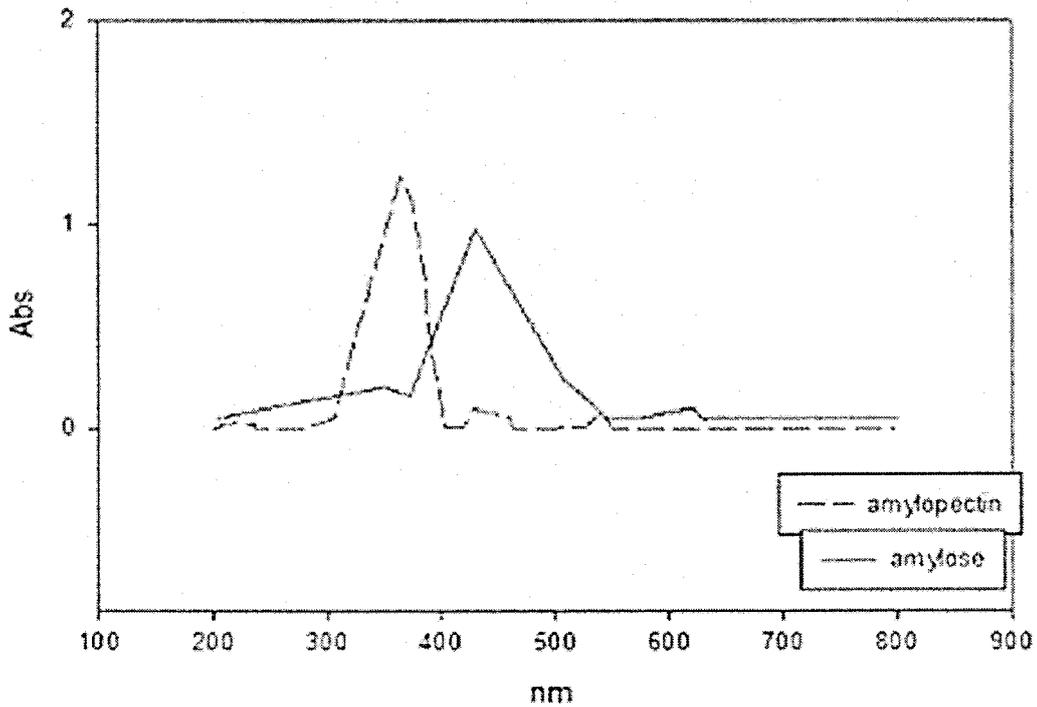


그림 4. UV spectrophotometer를 이용한 표준시료의 정성곡선 확인 그래프.

조직밀도 계산식

조직밀도 계산식 1
$$x = \frac{m}{(V_2 - V_1) \times d}$$

- m----- 인삼의 질량(g)
- V₁----- 처음 증류수의 부피(ml)
- V₂----- 인삼 침지후 물의 부피(ml)
- d ----- 물의 밀도 (g/ml)

2) 경도 측정

경도측정을 위해 지역별 수삼을 동일한 조건으로 홍삼을 만든 뒤 홍삼을 절단하여 절단면을 고르게 한 후 수동 경도 측정기(Hardness tester, YAMANAKA, KIYA SEISAKUSHO.LTD, JAPAN)를 이용하여 심재부와 변재부의 경도를 반복적으로 측정하였다.

3. 인삼의 주요 성분 비교

(1) 사포닌 분석 및 차이구명

지역별 인삼의 사포닌 차이를 구명하기 위해서는 인삼이 함유하고 있는 사포닌을 추출 정제하여야 하며 무엇보다도 모든 공정에서 동일한 조건과 동일한 방법을 이용하여 형평성을 유지하는 것이 가장 중요하다.

1) 사포닌 추출 방법 및 조건

사포닌 추출방법은 일반적으로 몇 가지 방법이 정립이 되어있지만 실험의 효율성을 높이기 위해 몇가지 방법을 검토하고 가장 적절한 방법을 선택하였다.

① 부탄올 분획법

최초 추출은 다른 방법과 같이 추출용매를 결정하여 추출한 뒤 농축하여 농축물을 증류수에 용해한 후 수포화 부탄올을 이용하여 물속에 있는 사포닌을 추출하는 방법이다.

<단점>

- 흡착법을 거치지 않고 부탄올층으로 사포닌을 쉽게 분리할 수 있지만 부탄올 농축에 어려움이 있다.
- 부탄올층에 상당량의 유리당이나 유기산이 혼입되어 깨끗한 조사포닌을 얻기 힘들다.
- 유화 현상으로 인해 물층과 부탄올층의 분리가 어렵다.

② Diaion HP-20 수지흡착법

인삼분말을 주정이나 80% MeOH 등을 이용해 추출하여 HP-20 수지를 이용하여 흡착시킨 후 물 세척한 뒤 100% MeOH 혹은 95%주정을 이용하여 조사포닌을 추출하는 방법(그림 2-4).

<장점>

- 조사포닌을 비교적 용이하게 얻을 수 있고 주정만을 이용하여도 조사포닌을 얻을 수 있기 때문에 최종산물인 조사포닌은 농축하여 분말화가 용이하다.
- 얻어진 조사포닌은 식용 가능한 주정을 이용함으로 바로 식용으로 사용할 수 있다.
- 분리된 사포닌은 부탄올 분획법에 비하여 색소 및 유리당 등이 많이 걸러져 비교적 정제도가 높다.

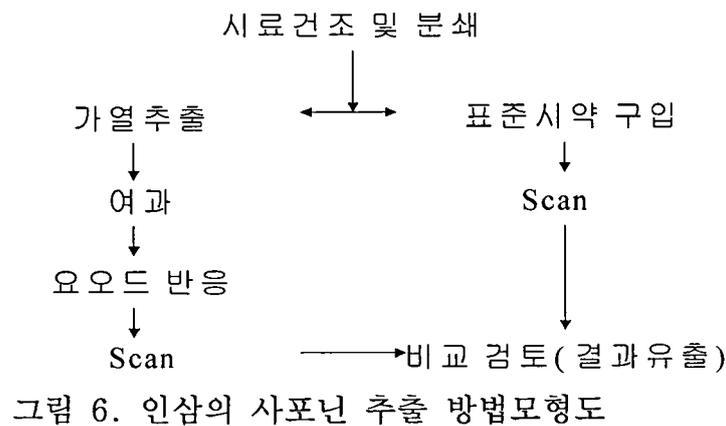


그림 6. 인삼의 사포닌 추출 방법모형도

2) HPLC 분석

총추출물과 조사포닌 함량은 <그림 2-6>의 방법을 통해 분석이 가능하지만 Protopanaxadiol과 Protopanaxatriol의 함량비와 주종 사포닌양의 분석은 불가능하므로 HPLC를 이용한 방법을 이용하여야한다.

3) 선행연구조사

지역별 인삼성분의 차이를 조사하기 전에 실험결과의 유추 및 방법의 효율성을 검토하기위하여 과거 관련 연구들에 관한 문헌을 조사 수집하고 분석하였다.

연근별 지역별 국가별로 연구한 선행 연구사례를 수집할 수 있었으며 분석한 결과는 다음과 같다.

① 국가별 인삼의 사포닌 함량 차이

고성룡 등(1995)은 6년근 한국 홍삼, 한국 백삼, 중국 홍삼, 일본 홍삼을 원료로 Ando 등(1971)의 방법을 참조하여 80% 메탄올로 추출하고 농축하여 인삼엑스

를 얻은 다음 에테르로 탈지시키고 수포화 부탄올로 추출 분획하여 조사포닌을 얻었다. 실험결과 지역에 관계없이 같은 고려인삼종인 경우 측정된 12종 사포닌 Ginsenoside-Ra, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rh2, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1, Ro는 모두 함유

표 5. 사포닌 분석을 위해 사용된 HPLC 와 분석조건

1. HPLC 사용건					
Integrated NS 3000i HPLC System					
제조국 : 대한민국					
제조사 : ㈜ 휴텍스					
2. UV Detector (205nm)					
3. Column (C ₁₈ 5ul * 250mm* 4.6mm ,, 5ml)					
4. Solustion A : Acetonitile(100%) B : Water(100%)					
5. Follew : 0.8ml/min					
6. CoNo- 0510-5					

Total Time	time	Act(100%)	DW(100%)	상태	비 고
0	0	20	80	HO	
8	8	20	80	0	
10	2	24	76	0	
20	10	26	74	0	
60	40	65	35	0	
70	10	65	35	0	
72	2	20	80	0	
100	28	20	80	0	

되어 있고, 조사포닌의 함량은 한국 홍삼 5.24%, 중국 홍삼 4.96%, 일본 홍삼 4.81%이고, 주종사포닌의 함량은 한국 홍삼 2.10%, 중국 홍삼 1.95%, 일본 홍삼 1.89%로서 조사포닌의 함량과 주종사포닌의 함량은 큰 차이가 나지 않았으나 전반적으로 한국 홍삼이 가장 높고 중국 홍삼, 일본 홍삼의 순으로 낮아졌다. PD/PT비율은 지역에 관계없이 모두 1.3에 가까웠고 Rb1/Rg1의 비도 모두 1.2에 가까웠다. 이것은 고려인삼일 경우 국가와 지역에 따라 총사포닌의 함량은 일정한 차이가 나더라도 PD/PT비율이 비슷하다는 것은 주종사포닌(ginsenosede Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rf, Re 및 Rg1)의 함량조성이 거의 비슷하다는 것을 말해준다.

이종원 등(2002)은 한국산 및 외국산 홍삼의 사포닌 및 무기물 성분 비교에서 한국 홍삼(천삼, 지삼, 양삼); 북한 홍삼(천삼, 지삼, 양삼); 중국 석주홍삼(1등, 2등, 3등); 중국 길림홍삼(1등, 2등, 3등); 일본 운주홍삼(1등, 2등, 3등); 일본 신주홍삼(1등, 2등, 3등)을 구입하여 Ando(1971)등의 수포화부탄올

추출법으로 조사포닌을 분리하고 HPLC로 함량을 측정한 결과를 <표 6>에 표시하였다.

조사포닌의 함량은 한국 천삼, 지삼, 양삼 모두가 3%이상으로 전반적으로 다른 지역의 홍삼류보다 높고 주종 Ginsenosides-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1의 총함량은 역시 한국산 홍삼이 1.4% 이상으로 가장 많이 함유하고 있고 북한 홍삼 1.14%, 중국 석주 1.13%, 일본 신주 1.10%, 중국 길림 1.07%, 일본 운주 0.95%순으로 낮아졌다. PD/PT비율은 한국 홍삼이 평균 1.56, 중국 홍삼이 평균 2.0, 일본 홍삼이 2.17이고 Rb1/Rg1의 비율은 한국 홍삼이 약 1.3, 중국 홍삼 1.4, 일본 홍삼이 약 1.6이다.

표 6. 국가별 홍삼 등급에 따른 Crude saponin 과 ginsenoside 의 함량

Red ginseng	crude saponin	ginsenoside						Total
		Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	
¹⁾ K. H grade	3.76	0.49	0.18	0.19	0.07	0.22	0.38	1.53
E grade	3.17	0.48	0.16	0.17	0.07	0.23	0.36	1.47
G grade	3.05	0.47	0.16	0.17	0.06	0.21	0.35	1.42
²⁾ N.K. H grade	2.09	0.36	0.14	0.16	0.04	0.13	0.24	1.06
E grade	2.48	0.34	0.13	0.14	0.03	0.11	0.18	0.93
G grade	3.21	0.51	0.17	0.19	0.05	0.17	0.33	1.42
³⁾ C.S. 1 grade	3.71	0.40	0.18	0.21	0.05	0.15	0.27	1.26
2 grade	2.83	0.30	0.13	0.15	0.05	0.12	0.22	0.97
3 grade	2.82	0.37	0.16	0.17	0.06	0.13	0.27	1.16
⁴⁾ C.G. 1 grade	2.72	0.35	0.13	0.15	0.05	0.14	0.26	1.08
2 grade	2.83	0.26	0.12	0.16	0.05	0.10	0.18	0.84
3 grade	3.62	0.43	0.20	0.20	0.07	0.15	0.24	1.29
⁵⁾ J.O. 1 grade	2.44	0.33	0.14	0.16	0.04	0.10	0.19	0.96
2 grade	2.34	0.32	0.13	0.14	0.03	0.10	0.21	0.93
3 grade	2.11	0.31	0.13	0.15	0.03	0.11	0.21	0.97
⁶⁾ J.S. 1 grade	2.87	0.39	0.17	0.18	0.05	0.12	0.23	1.14
2 grade	2.18	0.37	0.14	0.14	0.04	0.09	0.23	1.01
3 grade	2.45	0.40	0.16	0.17	0.05	0.10	0.26	1.14

¹⁾Korean red ginseng(H=Heaven grade, E=Earth grade, G=Good grade)

²⁾Noth Korea red ginseng (H=Heaven grade, E=Earth grade, G=Good grade)

³⁾Chinese Seokju red ginseng(1,2,3 grade)= C.S 1,2,3 grade

⁴⁾Chinese Gillim red ginseng(1,2,3 grade)= C.G 1,2,3 grade

⁵⁾Japenese Oonju red ginseng(1,2,3 grade)= J.O 1,2,3 grade

⁶⁾Japenese Sinju red ginseng(1,2,3 grade)= J.S 1,2,3 grade

이종원 등(2002)의 연구와 고성룡 등(1995)의 연구를 비교해보면 모두 홍삼을 원료로 분석하였음에도 조사포닌의 함량과 주종사포닌의 함량은 현저한 차이를 보였지만 한국홍삼이 어느 면에서나 함량이 제일 높다는 점에서는 유사하였다.

② 국내 지역별 고려인삼 사포닌 함량 및 조성

이충렬 등(2004)은 국내 인삼재배지 금산, 풍기, 강화, 음성, 진안, 홍천 6지역에서 생산되는 수삼을 대상으로 인삼사포닌 비교분석 연구를 하였다. 지하부 전체를 1kg씩 취하고 세절한 다음 그중 200g에 50% ethyl alcohol로 수욕조에서 2시간 반복 추출하고 여과 농축하여 인삼엑스를 얻었다. 인삼엑스는 Shibada 등의 방법으로 ether로 3회 탈지하고 수포화 부탄올로 3회 추출하여 추출액을 합하고 감압 농축하여 조사포닌을 얻었다<표 7>. 얻은 data를 지역별 4년근의 사포닌과 총사포닌 함량을 비교하여<표 8>에 나타내었으며 연근별 ginsenoside의 함량비는<표 9>에 나타내었다.

<표 7>에서 보는 바와 같이 4년근 수삼이 전반적으로 조사포닌과 주종사포닌 함량이 가장 많은 것으로 나타났다. 6지역의 4년근 수삼의 조사포닌의 함량(w/w%)은 금산 1.50%, 음성 0.83%, 진안 1.29%, 홍천 1.06%, 강화 1.54%, 풍기 1.30%로서 조사포닌 함량은 강화와 금산수삼이 1.54%와 1.53%로서 가장 많고 음성 수삼이 0.83%(강화 수삼의 54%)로서 가장 낮으며 강화, 금산, 풍기, 진안, 홍천, 음성 순으로 낮아졌다. 주종사포닌의 함량은 금산 수삼이 1.35%로서 가장 높고 음성 수삼이 0.72%(금산 수삼의 53%)로 가장 낮았으며 금산, 강화, 진안, 풍기, 홍천, 음성 순으로 낮아졌으며 조사포닌 순서와 다소 다른 순서를 나타냈다(표 8).

표 7. 고려인삼의 지역별 연근별 ginsenoside 함량

Sample	Crude saponin	Total saponin ¹⁾	PD ²⁾ / PT ³⁾	Rb ₁ /R _{g1}	Ginsenoside(w/w%)							
					Rb ₁	Rg ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	(20S)R _h
Geumsan 3 year	0.97%	0.55%	1.88	2.14	0.169	0.066	0.094	0.030	0.022	0.025	0.079	0.065
Geumsan 4 year	1.53%	1.35%	1.96	3.14	0.392	0.136	0.241	0.125	0.138	0.028	0.125	0.166
Geumsan 5 year	0.99%	0.49%	2.15	1.56	0.175	0.048	0.086	0.022	0.050	0.030	0.112	0.063
Geumsan 6 year	0.71%	0.51%	1.73	2.38	0.133	0.075	0.091	0.029	0.071	0.015	0.056	0.045
Umsong 4 year	0.83%	0.72%	1.82	2.05	0.170	0.086	0.139	0.068	0.081	0.017	0.083	0.073
Umsong 5 year	1.02%	0.80%	1.82	2.20	0.213	0.098	0.144	0.060	0.090	0.021	0.097	0.075
Umsong 6 year	0.76%	0.68%	2.21	3.07	0.215	0.070	0.152	0.030	0.084	0.013	0.070	0.044
Jinan 4 year	1.29%	0.92%	1.95	2.15	0.241	0.122	0.165	0.079	0.096	0.020	0.112	0.084
Jinan 5 year	1.20%	0.88%	2.40	2.96	0.263	0.118	0.164	0.078	0.096	0.020	0.089	0.061
Jinan 6 year	0.99%	0.74%	2.12	2.62	0.228	0.072	0.144	0.055	0.064	0.016	0.087	0.070
Hongchon 4 year	1.06%	0.78%	1.91	2.65	0.215	0.093	0.138	0.067	0.109	0.018	0.081	0.061
Hongchon 5 year	1.15%	0.8%	1.98	2.49	0.209	0.121	0.130	0.073	0.096	0.023	0.084	0.066
Hongchon 6 year	0.79%	0.74%	1.85	1.85	0.196	0.103	0.114	0.065	0.086	0.022	0.106	0.045
GangHwa 4 year	1.54%	1.15%	1.91	2.47	0.279	0.174	0.213	0.090	0.169	0.023	0.113	0.091
GangHwa 5 year	1.23%	0.94%	1.71	1.77	0.218	0.138	0.159	0.075	0.101	0.024	0.123	0.098
GangHwa 6 year	1.53%	1.16%	2.22	2.80	0.328	0.180	0.183	0.106	0.125	0.027	0.117	0.090
Punggi 3 year	0.29%	0.20%	2.09	3.47	0.066	0.029	0.033	0.010	0.022	0.008	0.019	0.017
Punggi 4 year	1.3%	0.82%	2.68	2.14	0.233	0.129	0.144	0.090	0.055	0.022	0.109	0.036
Punggi 5 year	1.09%	0.76%	1.95	2.68	0.190	0.088	0.148	0.073	0.097	0.019	0.071	0.069

¹⁾Total saponin: Rb₁+ Rb₂+ Rc+ Rd+ Re+ Rf+ Rg₁+ Rh₁.

²⁾PD: Rb₁+ Rb₂+ Rc+ Rd.

³⁾PT: Re+ Rf+ Rg₁+ Rh₁.

표 8. 4년근 수삼의 조사포닌과 총사포닌의 함량 (the result of the one-way analysis variance)

	금산	음성	진안	홍천	강화	풍기
Crude saponin(%)	1.53	0.83	1.29	1.06	1.54	1.30
Total saponin(%)	1.35	0.72	0.92	0.78	1.15	0.82

같은 고려인삼이지만 지역별 조사포닌과 주종사포닌의 함량이 많을 때는 거의 50%까지 차이가 나는 것은 주로 토양조건, 기후조건, 재배기술 등의 영향을 많이 받고 있기 때문이라고 사료된다.

표 9. 년근별 ginsenoside 함량 차이

Age	Dried* weight(g)	Increase (g/yr)	Growth rate(%)	saponin content		Increase mg/yr/root	rate (%)
				(%)	(mg/root)		
1	0.25			(4.80)**	(12.0)		
2	1.69	1.44	5.00	4.89	82.6	(70.6)	3.06
3	5.62	3.93	13.67	6.49	364.7	282.1	12.25
4	12.60	6.98	24.28	6.51	820.3	455.6	19.80
5	22.90	10.30	35.83	7.98	1827.4	1007.1	43.75
6	29.00	6.10	21.22	7.98	2314.2	486.8	21.14
		28.75	100			2302.2	100

*cited from reference(8)

**Figures in parenthesis are estimated values.

(2) 향기성분 차이조사

최근 향기요법 등의 성행으로 더욱 주목받고 있는 향기성분은 대부분의 약용식물들마다 가지고 있는 독특한 휘발성 정유 성분이다. 향기성분은 약재마다의 독특한 특징을 가지고 있어 약재의 이미지를 결정하는 중요한 성분이며 특히 인삼의 향기성분은 인삼 및 홍삼의 가공식품 개발 및 생산에 있어 제품에 인삼의 이미지를 심어주는 중요한 역할을 하는 성분이기도하다. 그러나 같은 종의 약재나 향기식물일지라도 기후 및 일조량 등 생육환경에 따라 그 조성의 차이를 가질 수 있다.

1) 향기성분의 분석

일반적으로 향기성분은 휘발성이 강하기 때문에 GC와 GC-mass를 이용하여 분석을 수행한다. 그러나 특성상 추출정제가 까다롭고 여러 가지 혼합물들은 분리 정제하는 과정에서 소실되어 분석이 어려운 부분이 있다.

하지만 최근에는 특정 향기성분을 감지할 수 있는 여러 가지 센서가 장착되어 있는 전자코기술이 발달되어 비교적 간단한 방법으로 향기성분의 조성차이를 비교할 수 있는 기술이 개발되어, 이를 이용하여 각 지역별 인삼의 향기성분을 비교하였다.

4. 지역별 인삼근권 토양의 미생물상 비교

(1) T-RFLP 원리 및 방법

최근 T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) 분석은 토양이나 바다, 맑은 물 등의 여러 환경에서 미생물의 군집을 분석하는데 사용되고 있다. T-RFLP(그림7.)는 적어도 1%의 군집까지 검출해낼 수 있는 기법으로써 우점종의 분석뿐 아니라 전반적인 미생물의 분포에 유력하게 쓰인다.

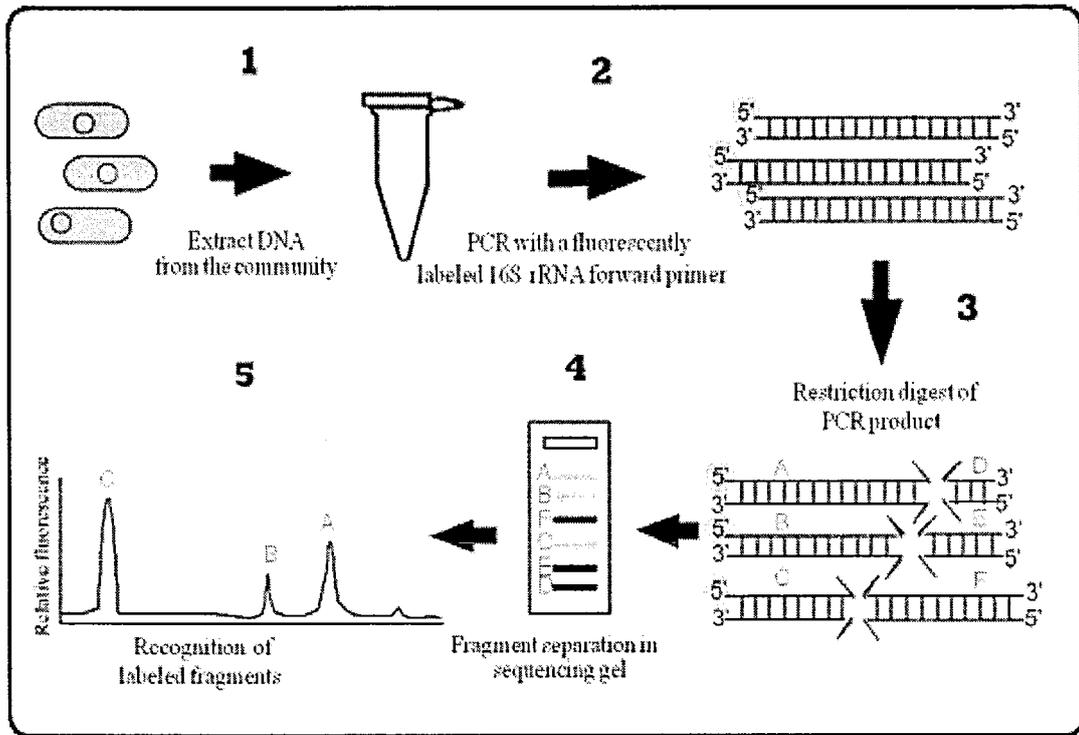


그림 7. 인삼근부 병원균의 분석을 위한 T-RFLP의 개념도.

1) DNA 추출

인삼 뿌리 주변의 모든 Fungi를 동시에 분석하기 위해 인삼 뿌리의 근면을 부드럽게 긁어 모든 DNA를 추출하였다.

2) PCR amplification

추출된 모든 DNA로부터 곰팡이 DNA만을 증폭하기 위해 fungi specific ITS Primer ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')와 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하였다. 이때 사용된 Primer는 T-RFLP 분석을 위해 형광라벨을 부착하였다.

이외에 필요한 시약들을 조합하여 만든 Pre-Mix(Taq-polymerase + dNTP + 10X reaction buffer)와 증류수와 추출한 DNA를 함께 반응시켰다. PCR 조건은 <표 10>과 같다.

표 10. ITS 증폭을 위한 PCR의 cycle setting

과 정	온 도(℃)	시 간	
Pre-denaturation	94	5분	
Denaturation	94	45초	33 cycle
Annealing	55	45초	
Polymerization	72	1분	
Last Polymerization	72	7분	
Store	8	∞	

3) PCR Product의 정제 및 제한효소처리

- 전기영동을 이용해 PCR증폭이 깨끗하게 수행 되어졌는지 확인한 후 PCR 산물을 정제하여 T-RFLP분석을 위해 제한효소를 처리한 뒤 탈염을 하여 준비한다.
- 모세관 전기영동 (Capillary electrophoresis :CE) : 3-5 번 (A fifth to a third) 탈염된 제한 효소 반응물을 sequencing을 위해 최적화로 맞춰진 기본값을 사용하여 모세관 전기 영동을 수행한다. 이 과정은 불충분한 형광 신호를 유도하여, peak가 적고 높이도 낮게 나오는 경우가 있다. 주입 시간과 주입 전압은 DNA 회수를 조절하기 위해 다양하게 할 수 있다. 기본적인 샘플 주입 시간은 보통 10초이나, 주입시간이 길어지면 회석된 샘플로부터의 DNA 회수가 증가하여 높은 형광신호와 더 많은 peak를 관찰할 수 있다. 더 나아가 주입 전압은 주입된 DNA의 양에 직접적으로 비례하고 기본값은 3kV이나 변경가능하다. CE를 수행하기 위한 적절한 부피가 유지되도록 탈염된 산물을 더 농축시킬 수도 있다.

III. 연구결과

1. 2004년 홍삼 분석 결과

(1). 지역별 홍삼의 total extract 및 saponin 분석

본 실험은 홍삼 속에 들어있는 사포닌의 함량을 분석하는데 목적이 있으므로 비교적 정제도가 높은 DAION HP-20 (이온교환 수지) 흡착법을 이용하였으며, 추출 조건을 동일하게 하기위하여 지역별 홍삼을 분쇄한 뒤 30mesh 거름망을 이용해 균일하게 한 뒤 80% 주정을 이용하여 80℃로 가열, 8시간 환류 추출을 5회 반복하였으며, 추출물을 60℃에서 항량이 될 때까지 건조하여 extract의 수율을 계산하였다.

표 11. 지역별 extract 수율 및 saponin 함량 비교

sample 지역	시료의 량	extract (%)	saponin (%)	지수
충북조합	10g	41.47	3.964	50
안성조합	10g	36.69	3.774	20
김포조합	10g	42.76	3.352	40
부여조합	10g	39.34	3.101	40
풍기조합	10g	39.50	2.641	20
개성조합	10g	45.51	3.722	20

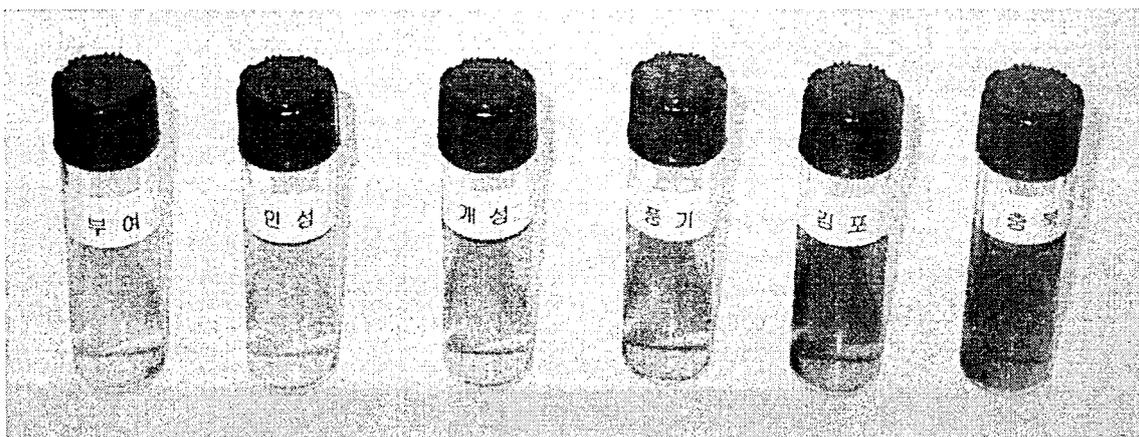


그림 8. 지역별 총 추출물의 색도 비교.

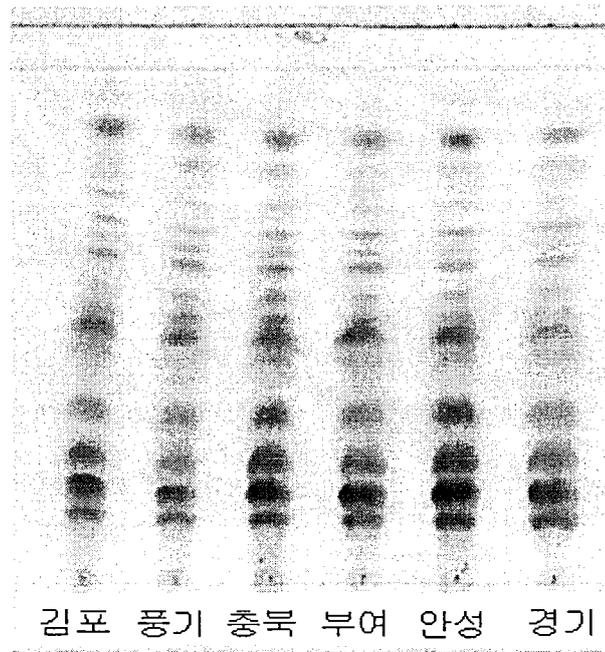


그림. 9. 지역별 사포닌 TLC 분석.

Extract 및 조사포닌 분석결과 Extract수율의 경우는 가장 높은 개성조합이 45.51%, 가장 낮은 안성조합이 36.69%로 추출물에 있어서는 지역별로 다소 높은 차이를 보였다(표 11). 하지만 DAION HP-20 수지를 이용해 Extract에서 진일보 분리한 crude saponin의 수율은 지역별로 또 다른 양상을 보였다(표 11). 이러한 결과는 6개 지역의 홍삼제품의 지수가 20에서 50으로 개체간 상당한 차이로 인한 원인일 것으로 추정된다. 즉 지수가 많을수록 단위홍삼의 굵기가 작아 사포닌의 함량이 많아질 수밖에 없다. 따라서 지수와 조사포닌의 함량을 감안하면 개성조합의 홍삼이 다른 지역보다 높은 사포닌 함량을 나타낸 것을 알 수 있다.

이번 실험에서 총추출물과 saponin 추출의 결과가 일치하지 않는 또 하나의 원인은 Extract속 존재하는 비 saponin류의 함량이 지역에 따라 높은 차이를 갖기 때문인 것으로 추측된다. 특히 추출물의 색도 비교를 통해(그림 9) 육안으로 쉽게 알 수 있는 것처럼 색소물질의 함량차이가 사포닌 분석에 상당한 변수를 초래하였다. 이와 같은 홍삼의 색소는 홍삼 제조과정 중 호화 현상에 의해 생겨나는 것으로 지역별 전분의 함량차이 혹은 홍삼 제조공정의 차이에 의해 색도가 달라질 수 있기 때문에 보다 신뢰성 있는 비교분석을 위해서는 개체중량이 동일한 수삼을 이용하여 분석하는 것이 바람직하다.

(2) T-RFLP를 이용한 2004년 병든 인삼과 정상인삼의 토양 미생물 다양성 비교분석

인삼근권의 T-RFLP 분석 결과

- 연천과 포천지역에서 농가의 도움을 받아 5년근, 6년근 병든 삼과 정상 삼을 구하였다.

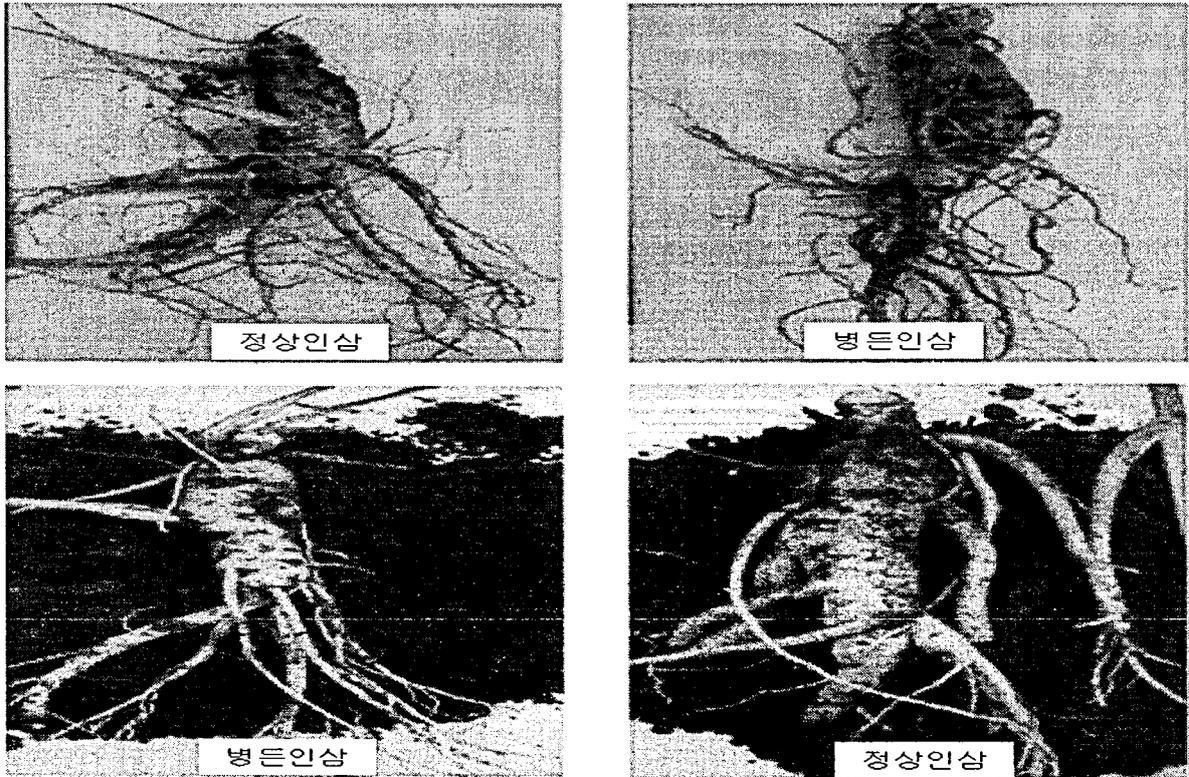


그림 10. 인삼시료사진

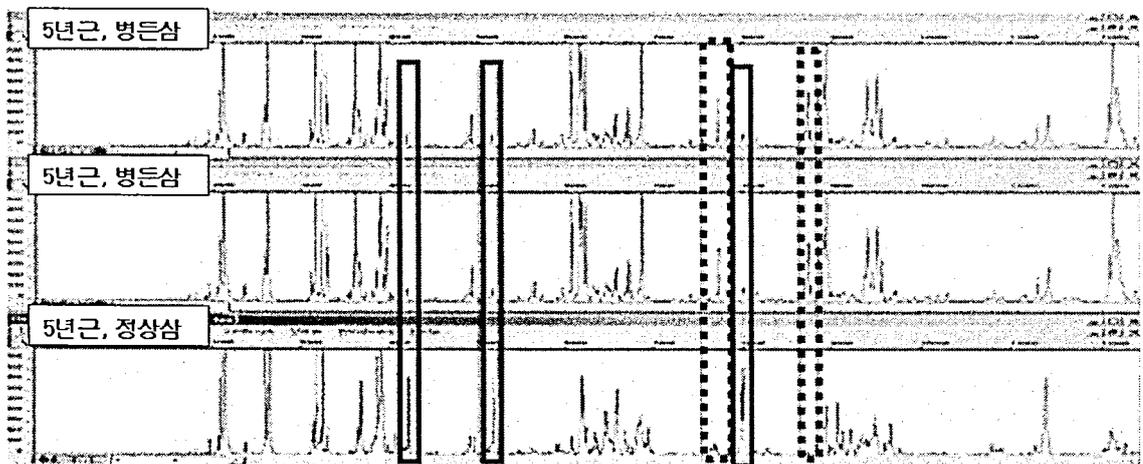


그림 11. 5년근 병삼과 정상삼의 T-RFLP 패턴 비교.

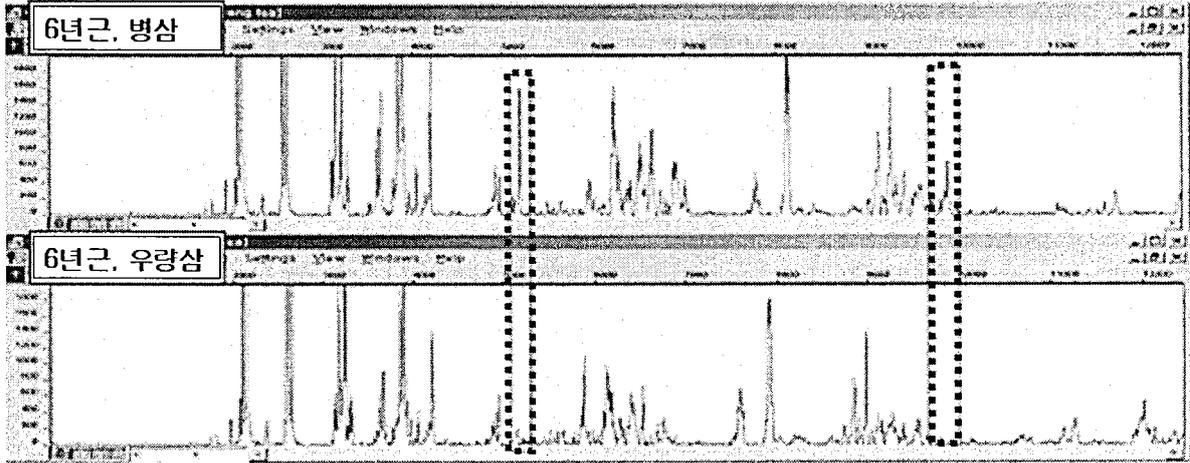


그림 12. 6년근 병든삼과 정상삼의 T-RFLP 패턴분석.

위의 자료는(그림 11과 12) 병든삼과 정상삼의 근권 미생물의 다양성을 분석하여 그 차이를 한 눈에 비교할 수 있도록 한 T-RFLP 분석 결과이다. 각각의 그림에서 Peak는 미생물 DNA의 5'단편을 나타낸 것이다. 다시 말하면 peak의 수는 미생물의 다양성을 표현한 것이며 peak의 높이는 미생물의 점유율을 표현해 주는 것이다. 그림에 나타내어있는 검정 점선 상자안의 peak는 병든삼에만 우점하고 있는 미생물의 peak를 표시한 것이며, 검정 실선은 안의 peak는 정상인삼에 우점하고 있는 미생물의 peak를 표시한 선이다. 지금까지는 이와 같은 미생물 다양성 연구를 인삼에 적용한 사례가 전무하여 앞으로 더 많은 시료를 비교분석 해 봐야 확실히 밝혀지겠지만 T-RFLP 분석결과 이병삼과 정상삼의 사이에 차이가 난 것으로 보아 병든삼에서 특이적으로 병을 유발 시키는 병원균과 정상삼에서 병에 대한 길항성을 나타내는 균이 존재하는 것으로 추정되어진다.

그러나 위 T-RFLP 그래프에서는 시료에 따른 미생물 다양성의 차이는 한눈에 구분할 수는 있지만 그래프에 나타나는 각각의 peak가 어떠한 균인지는 알 수 없는 단점이 있다. 따라서 각각의 peak가 어떤 균을 지목하는지를 알기 위해서는 인삼근권 미생물을 탐색하기 위한 대량의 Random cloning 과 염기서열 분석 등의 더 많은 실험을 하여 인삼 근권의 미생물에 대한 미생물 D/B를 구축해야한다.

2. 2005년 지역별 인삼 실험 결과

(1) amylose and amylopectin 분석

- 지역별 인삼을 굵기가 같은 것만 취하여 완전히 건조 시킨 뒤 균일하게 분쇄하여 전분 추출 및 분석을 수행하였다.

1) 실험 결과

아밀로스과 아밀로펙틴의 함량비는 지역별로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다으나 아밀로스과 아밀로펙틴의 함량에는 지역별로 차이를 보였다. 풍기와 공주지역은 함량이 비교적 낮았으며, 김포지역은 25.6%/100g으로 가장 높은 함량을 나타내었다.

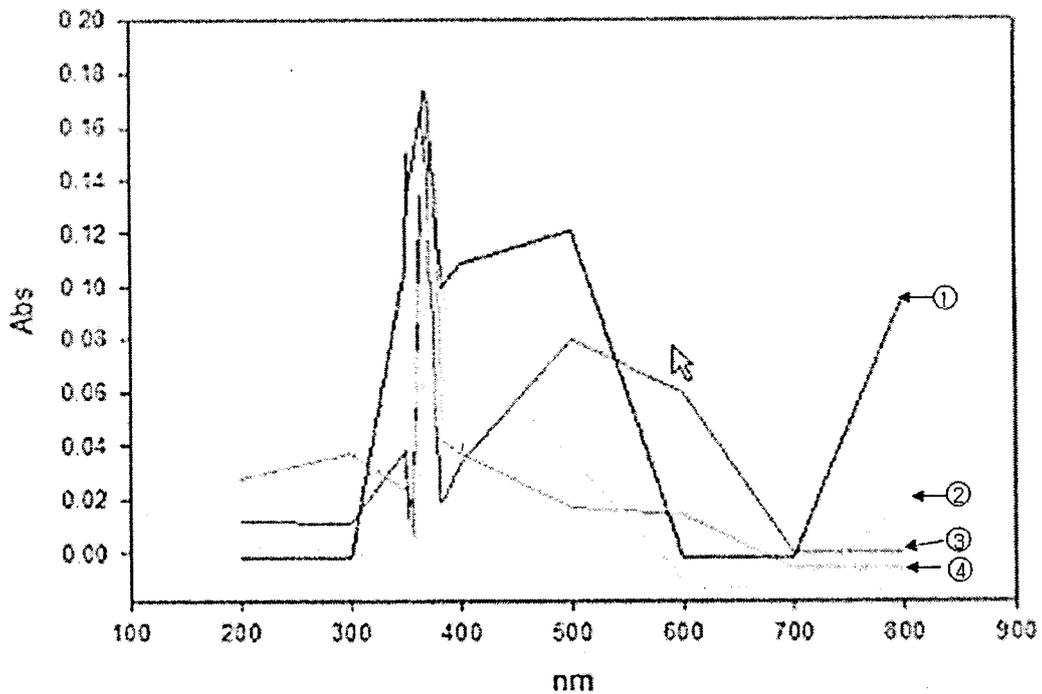


그림 13. Spectrophotometer를 이용한 지역별 전분분석 그래프.

* ①: 공주 ②: 풍기 ③: 이천자경중 ④: 이천천풍

표 11 . 재배지역별 전분추출함량 비교

재배지역	최대흡수파장(nm)	비교
풍기	368	13.6g/100g 중
공주	368	14.4g/100g 중
이천	368	22.4g/100g 중
김포	368	25.6g/100g 중
포천	368	20g/100g 중

(2) 지역별인삼의 밀도 측정 결과

신선한 인삼의 밀도와 수분함량을 측정한 결과 수분함량은 이천과 김포지역 인삼이 가장 낮게 측정되었으며, 밀도는 이천과 김포지역이 가장 높게 나타났다 (표 12). 따라서 밀도지수와 수분 함량을 고려할 때 이천과 김포인삼이 실험에 사용된 다른 지역인삼보다 조직밀도가 높은 것으로 추정된다.

홍삼의 상품성을 저하시키는 요인으로 홍삼의 내공과 내백이 있는데 내공내백의 형성은 홍삼을 만들기 전 인삼의 보관 등 몇 가지요인이 있을 수 있으나 홍삼의 원료인 인삼의 밀도가 높을수록 내공과 내백의 형성률이 낮을 것으로 추정된다.

표 12. 재배지역별 인삼의 밀도

	동체(F.W)	동체 (D.W)	수분함량	부피	밀도
풍기	75.39	20.9	72.27%	126ml	0.83
공주	84.93	22.79	73.16%	134ml	0.74
포천	1.88	0.55	70.74%	106ml	0.93
이천(천풍)	2.11	0.71	66.35	101ml	0.97
이천(자경종)	1.67	0.47	71.85	106ml	0.93
김포	1.37	0.47	67.30%	98ml	1.03

* 밀도 = 부피/질량

(3) 지역별 홍삼의 경도측정 결과

지역별 인삼으로 홍삼을 만들어 경도를 측정한 결과 김포와 공주를 제외한 나머지 지역이 220cm/Kg으로 대등한 수치를 보였으며, 다만 김포지역만이 250cm/Kg으로 가장 높은 수치를 보였다.

(4) 지역별 사포닌 분석

지역별 인삼의 사포닌분석을 위해 크기와 굵기가 비슷한 인삼을 취하여 동체와 세근을 나누어 추출을 하였고 추출물로부터 조사포닌을 추출하여 각각의 함량을 비교하였다.

표 13. 지역별 홍삼의 경도 측정결과

지역		EX(BRIX 60)	조사포닌함량
이천	동체	38.60%	3.6
	세근	42.33%	10.2
	total	39.02%	4.21
김포	동체	32.87%	3.23
	세근	40.10%	9.82
	total	33.89%	3.84
포천	동체	28.46%	2.61
	세근	40.19%	12.08
	total	33.88%	3.37
풍기	동체	36.23%	3.08
	세근	42.57%	8.78
	total	38.92%	4.04
공주	동체	28.69%	2.38
	세근	37.08%	8.5
	total	31.84%	3.08
홍천	동체	37.08%	3.32
	세근	42.07%	12.89
	total	38.90%	3.89

표 14. 재배지역별 조사포닌 추출함량 비교

지역	EX(BRIX 60)		
	동체	세근	total
이천	38.60%	42.44%	39.02%
김포	32.87%	40.10%	33.89%
포천	28.46%	40.19%	33.88%
풍기	36.23%	42.57%	38.92%
공주	28.69%	37.08%	31.84%
홍천	37.08	42.07%	38.9%

1) 재배지역별 HPLC 분석결과

HPLC 분석결과 일부 경기 북부지역에서 조사포닌 및 총사포닌의 함량이 타 지역 보다 높게 나타나는 것을 알 수 있다. 주요 7종 사포닌의 경우를 비교한 결과 Rb1은 다른 지역보다 이천과 김포, 포천지역 인삼에서 많이 검출 되었으며, Rb2는 이천과 김포지역 인삼에서, Rc는 이천과 풍기, 공주지역 인삼에서 월등하게 많은 양이 검출되었다

표 15. 지역별 인삼사포닌의 HPLC 분석결과 성분별 비교표

	이천	김포	풍기	포천	공주
	면적 [uV*sec] %	면적 [uV*sec] %	면적 [uV*sec] %	면적 [uV*sec] %	면적 [uV*sec] %
Rb1	37.49	35.97	23.64	32.18	23.90
Rb2	11.60	16.25	9.08	8.90	7.56
Rc	14.32	4.95	10.59	1.60	12.30
Rd	1.23	1.71	1.58	1.27	1.58
Rf	8.44	5.70	7.31	8.89	6.72
Rg1,Re	26.92	35.42	47.79	47.16	47.93
합계	100%(227.61mg)	100%(169.11mg)	100%(172.26mg)	100%(172.26mg)	100%(120.39mg)

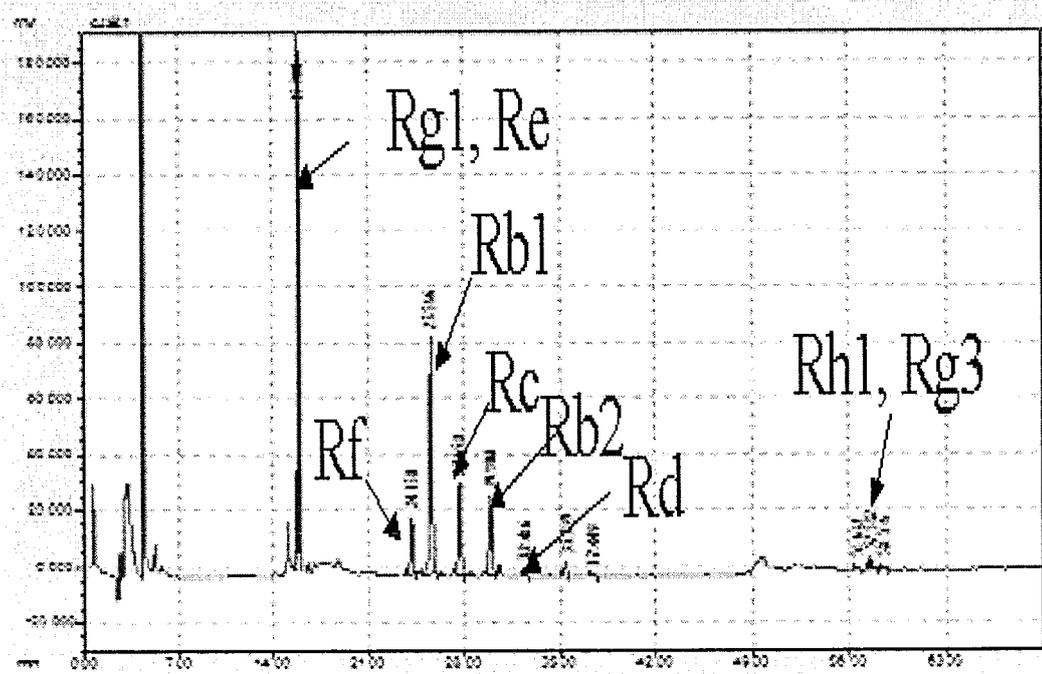


그림 14. 이천(천풍)인삼의 HPLC 결과.

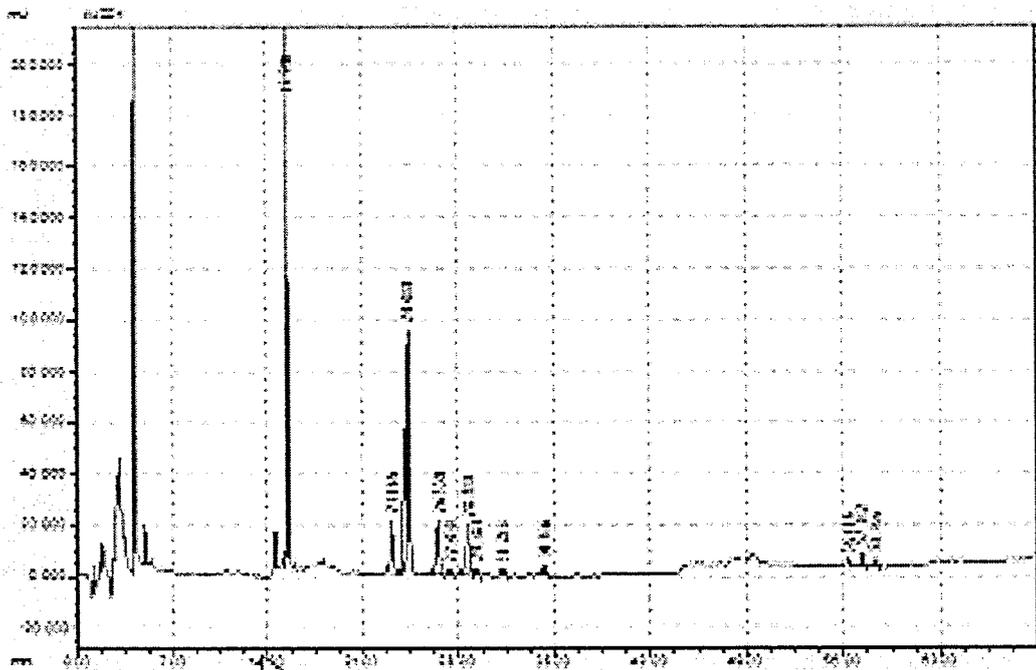


그림 15. 이천(자경종)인삼의 HPLC 결과.

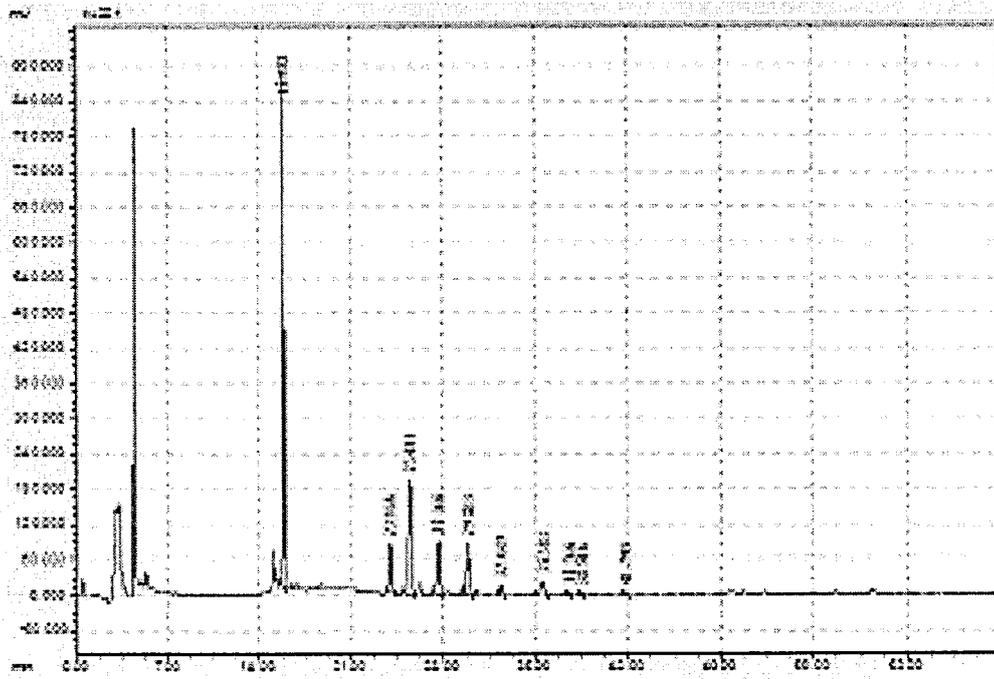


그림 16. 김포의 HPLC 결과.

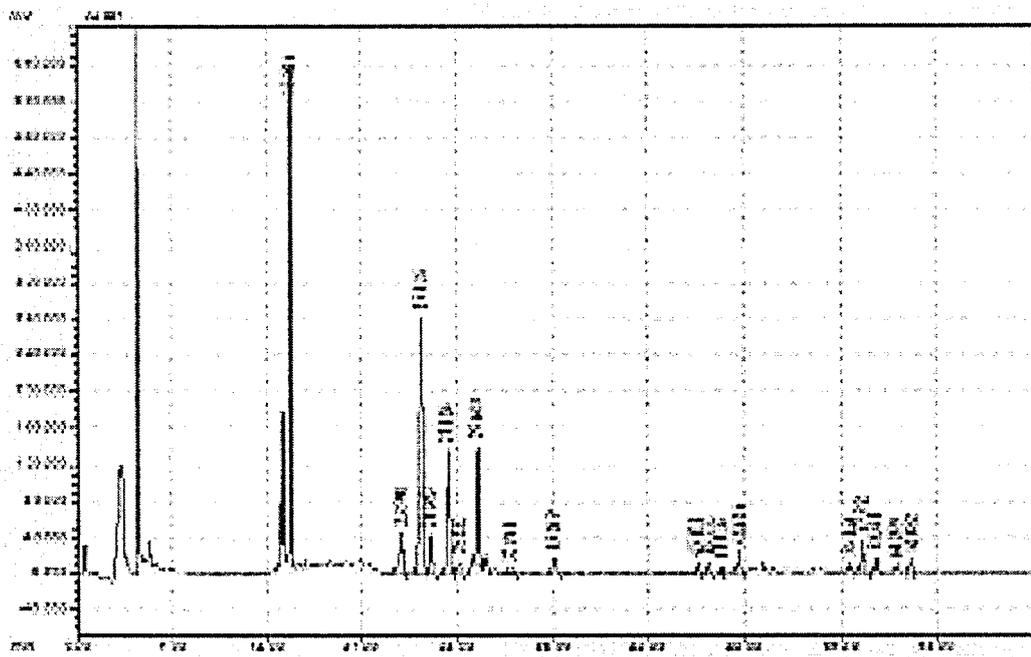


그림 17. 풍기인삼의 HPLC 분석결과.

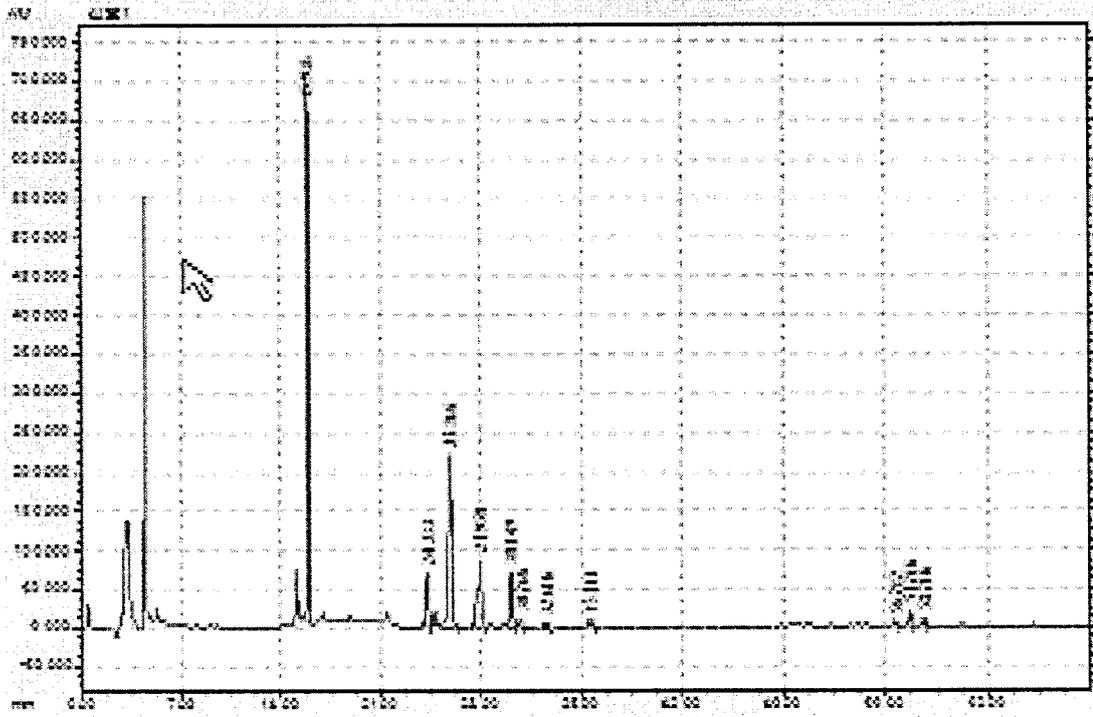


그림 18. 포천인삼의 HPLC 분석결과.

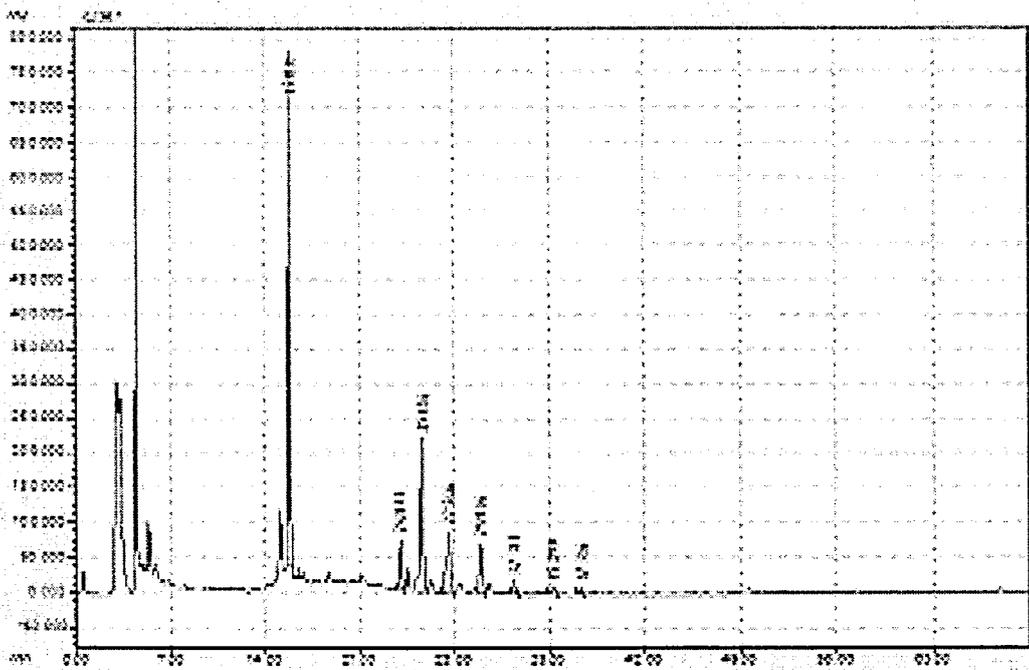


그림 19. 공주인삼의 HPLC 분석결과.

(5) 지역별 인삼의 향기성분 분석 결과

전자코를 이용한 지역별 인삼의 향기성분 조성패턴 분석결과 포천과 공주 지역이 매우 비슷한 조성 패턴을 보였고, 이천 자경종도 근접한 조성패턴을 보였지만 이천 천풍은 다른 지역과 상당한 차이를 보였다. 또한 김포와 풍기지역 인삼은 분석결과가 반복을 증가할 때마다 결과치가 너무 많은 차이를 보여 신뢰도는 낮지만 균집양상을 고려할 때 공주와 포천, 이천 자경종과 근접한 결과가 나타났다. 전체적으로 볼 때 이천 천풍을 제외한 나머지 인삼은 조성패턴이 비슷한 것으로 추정되어 향기성분의 조성은 지역간의 차이보다 품종간의 차이가 클 것으로 예상되나 다양한 지역의 다양한 시료를 반복년수를 늘려 실험할 필요성이 있다.

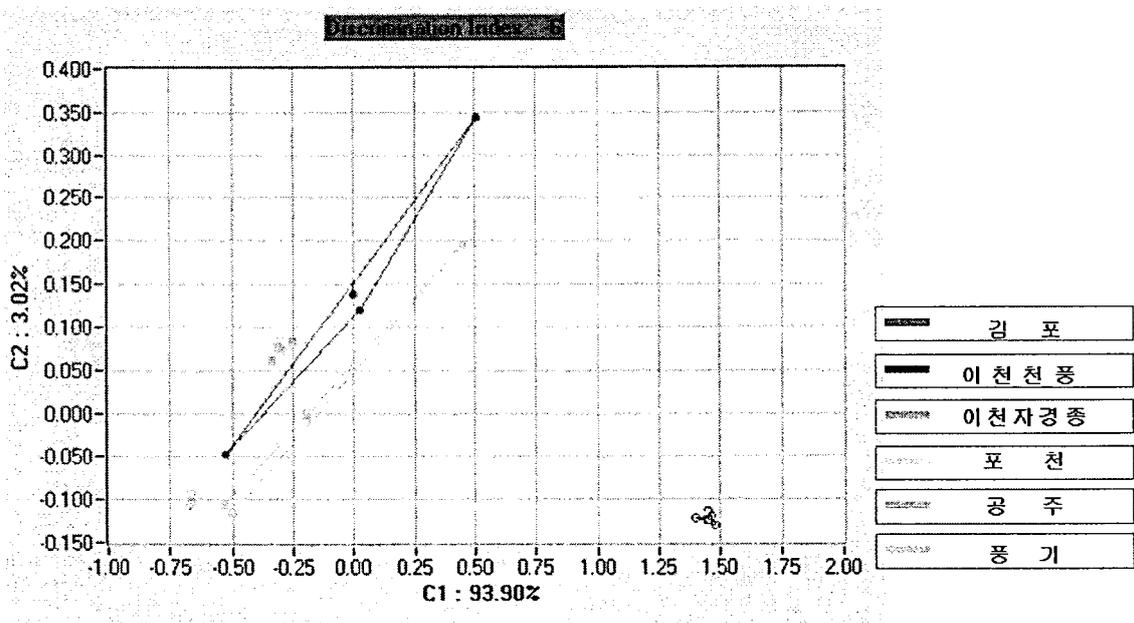


그림. 20. 전자코를 이용한 지역별 향기성분의 조성 비교

IV. 결론 및 제언

지금까지 국내삼과 국외삼의 많은 논문을 비교, 검토하던 중 인삼의 산지별 사포닌의 함량 및 비율에 차이가 있다는 것을 알 수 있었다. 이에 본 실험에서는 국내재배지의 기후 및 환경조건이 인삼 사포닌에 어떠한 영향을 미치는지를 다음 몇몇 방법을 통하여 그 차이를 구명하고 또한 그 차이가 있다면 이를 이용한 지역별 특성화 인삼재배 및 양질의 품질이 우수한 인삼을 재배하고자 함이 본 실험의 목적이라 할 수 있다.

· 조직학적 분석

인삼의 조직학적 분석을 위해 수분함량과 전분분석 및 경도(홍삼)측정 실험을 하였다.

수분함량은 이천 천풍(66.35%)과 김포지역(67.30%) 인삼이 가장 낮았고 밀도에 있어서도 김포(1.03)와 이천 천풍(0.97)이 가장 높은 지수를 보였다.

조전분 분석은 김포(32%)와 이천 천풍(32%)이 가장 많았으며 경도측정에서는 김포가 가장 높은 수치를 보였고 다음으로 이천 천풍이 높은 수치를 보였다.

조직학적 분석을 종합해보면 다음과 같은 결론을 예측할 수 있다. 수분함량이 낮고 밀도지수가 높으며 조전분 함량이 높을수록 홍삼을 만들었을 때 홍삼의 강도가 높을 것이라는 것을 예측할 수가 있다. 따라서 수행한 모든 조직학적 분석에서 다른 지역에 비하여 양호한 결과를 나타낸 이천과 김포지역의 인삼은 홍삼 및 인삼(홍삼)정과 등으로 가공하였을 때 상품가치가 높은 것으로 추정된다.

· 주요성분분석

인삼의 주요성분 분석을 위해 향기성분과 사포닌 분석을 수행한 결과 향기성분의 조성은 이천 천풍이 타 지역과 달리 매우 독특한 양상을 보였으며 이천 자경종 또한 다른 지역 인삼과 약간의 차이를 보였으나 나머지 지역은 비슷한 것으로 추정된다. 본 연구의 분석은 향기성분의 조성 패턴을 알아보기 위한 전자코 분석으로 각각의 향기 성분이 어떤 물질인지는 추정하기 힘들지만 해를 거듭하여 몇 차례 반복실험을 한다면 지역별 혹은 품종별 인삼의 향기성분 조성에 따른 차이를 명확히 할 수 있을 것으로 예상된다.

HPLC 분석결과 일부 경기 북부지역에서 조사포닌 및 총사포닌의 함량이 타지역보다 다소 높게 나타나는 것을 알 수 있다. 주요 7종 사포닌의 경우를 비교한 결과 Rb1은 다른 지역보다 이천과 김포, 포천지역 인삼에서 많이 검출되었으며,

Rb2는 이천과 김포지역 인삼에서 월등하게 많은 양이 검출되었다. 따라서 이번 분석에서 사용된 인삼만을 고려할 때 ginsenoside 부분에서 경기지역 인삼이 다른 지역에 비하여 Rb1과 Rb2 부분에서 다른 지역 인삼에 비하여 차별화 할 수 있는 점이다.

그러나 이러한 결과는 연교차 및 일교차, 일조량, 토양미생물의 다양성과 공생 균근균과 인삼의 상호작용, 경작자의 기술을 비롯한 여러 가지 요인을 간과 할 수 없다. 따라서 지역별로 균일한 시료를 더 많이 확보하여 각각의 분야와 연계된 실험이 3~5년 이상 반복실험을 해야 보다 신뢰성이 있는 자료를 얻을 수 있을 것으로 생각되며 이러한 연구가 계속 진행되어 신뢰성 있는 자료가 확보된다면 한국의 인삼 경작자에 대한 좋은 지도 자료가 될 것으로 사료된다.

V. 참고 문헌

- 고성룡, 최강주, 김석창, 한강완. 1995. Panax(인삼)속 식물의 사포닌화합물 함량 및 조성. 고려인삼학회 19(3):254~259
- 김천석, 김세봉. 2001. 역상 고속액체크로마토그래피를 이용한 홍삼 사포닌의 정량. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9(1):21~25
- 김미라, 김인해, 심재한. 2005. Solvent Free Solid Injector(SFSI)를 이용한 수삼, 홍삼, 백삼의 향기성분 분석방법. 한국환경농학회지 24(2):164~168
- 김명수, 이일호, 박찬수, 송기준, 홍순근. 토양화학·미생물 : 인삼의 염류 장해에 관한 연구
- 노봉수. 2005. 전자코를 이용한 휘발성분의 분석과 식품에의 이용. 한국식품과학회지 37(6):1048~1064
- 백은경, 서용기, 이근, 이동언, 박석준, 이진희, 이강표, 김동섭, 허남운, 백무열. 2005. 인삼 유화 음료의 품질 인자 규명 및 저장 수명 예측 한국식품과학회지 37(4):597~602
- 신지영, 최언호, 위재준. 2001. 인삼 조사포닌의 시로운 분리 방법. 한국식품과학회지 33(2): 166~172이부용. 2003. 국내 인삼산업 현황 및 새로운 인삼 제품 개발 전망. 식품산업과 영양 8(2):~9
- 안영남, 이선영, 정명근, 최갑주, 강광희. 2002. 4년생 인삼의 수확시기에 따른 ginsenoside 및 인삼 화학성분의 변화. Korean J. Crop Sci 47(3):216~220
- 양덕조, 김용해, 윤길영, 이성식, 권진이, 강현미. 1997. Red - Colored Phenomena of Ginseng (Panax ginseng C. A. Meyer) Root and Soil Environment. 고려인삼학회지 21(2):91~97
- 이동원, 박영신, 김덕찬. 2005. 마이크로파를 이용한 인삼으로부터 유효성분의 추출. 한국공업화학회 16(3):427~433
- 이미경, 최강주, 김정숙, 권중호. 2005. Electron Beam 조사가 인삼분말의 지방질 안정성에 미치는 영향 고려인삼학회지 29(1):49~54
- 이종원 , 이성계, 동재호. 2002. 한국산 및 외국산 홍삼의 사포닌 및 무기물 성분 비교. 고려인삼학회지 26(4):196~201
- 이성계. 2000.인삼 향의 관능적, 화학적 특성 분석 및 전자코를 이용한 홍삼의 원산지 판별법 개발. 한국응용생명화학회 7(2):60~62

- 이충렬, 황원균, 신차균, 이학성, 한성태, 임병옥, 고성권. 2004. 수삼의 지역별 연근별 인삼사포닌 함량 비교. 한국식품과학회지 36(5):847~850
- 장순애, 문숙경. 2005. 인삼 다당체 추출 공정 개발을 위한 인삼의 추출 조건 및 원료에 따른 총당 변화. 한국식품저장유통학회지 (View | Down / 5 pages)
- 하대철, 이종원, 도재호, 박채규, 류기형. 2004. 열풍건조온도에 따른 수삼건조속도 및 건조수삼의 이화학적 특성. 한국식품영양과학회지 33(4):741~746
- 허수정, 김미혜, 박성국, 이종옥. 2005. 인삼 및 인삼제품류의 중금속 함량. 한국식품과학회지 37(3):329~333
- 홍희도. 2004. 인삼중 사포닌 성분의 정성 및 정량 분석. 한국작물학회
- 황진봉, 하재호, 허우덕, 남궁배, 이부용. 2005 국내산 백삼과 태극삼의 크기 및 연근별 인삼사포닌 함량. 한국식품과학회지 (View | Down / 5 pages)
- Ando, T., Tanaka, O. and ShiBata, S. 1971. SyoyaKugaku Zasshi. 25(1):28
- William A. Court, John G. hendel, Jama Elmi. 1996. Reverse-phase high-performance liquid chromatographic determination of ginsenosides of Panax quinquefolium. Journal of Chromatography A 755(3):11-17

주 의

1. 이 보고서는 경기도농업기술원에서 시행한 경기농업육성 학술용역과제의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 경기도농업기술원에서 시행한 학술용역사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가 및 지방자치단체 과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.