

微生物이 생성한 植物組織崩壞酵素를 利用한 人蔘 Saponin 의 抽出

金 相 達 · 徐 正 埴*

韓國人蔘煙草研究所

*慶北大學校 農科大學 食品加工學科

(1981년 6월 30일 수리)

Extraction of Ginseng Saponin by the Treatment of Microbial Macerating Enzyme

Sang Dal Kim and Jung Hwn Seu*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

*Dept. of Food Technology, College of Agriculture, Kyung-Pook National University

(Received June 30, 1981)

Abstract

The purpose of this study was to extract saponin efficiently from ginseng leaves and peelings by macerating them with microbial enzyme. To begin with, we selected G-211 strain having the highest macerating activity among several rotting molds of fresh ginseng. Crude macerating enzyme was prepared from this G-211 strain by ammonium sulfate precipitation, and was applied to macerating leaves and peelings of ginseng.

The optimal pH of the enzyme for maceration was 5.0 in both leaves and peelings of ginseng. The optimal pH for the extraction of soluble matters and saponins was 4.5 and 5.5 in ginseng leaves and ginseng peelings, respectively. When this enzyme was treated together with crude cellulase from *Trichoderma viride* (To4), the extract content of saponin was 3.45% for ginseng leaves and 3.90% for ginseng peelings.

Their yields were 39.8% and 39.3% of total saponin amounts in ginseng leaves and ginseng peelings, respectively. The ginsenoside patterns of saponins extracted with the treatment of enzymes were also studied by HPLC technics.

緒 論

1854年 Garriques 가 美國人蔘인 *Panaxquinquefolium* L에서 saponin 성분을 분리하여 panaquilon 이라고 명명한 바 있고 1957年 Brekhman 이 saponin 성분이 人蔘의 有效成分인 것을 암시한 후 Shibata⁽¹⁾등을 위시한 여러 學者들에 의해 人蔘 saponin 에 대한 研究가 진행되어 왔다.⁽²⁾ 그러나

saponin 을 위시한 人蔘成分의 연구는 대부분 人蔘 根단을 對象으로 이루어 졌으며 人蔘葉이나 白蔘 製造時 副産物로 生成되는 人蔘皮에 함유된 성분 에 관해서는 거의 研究된 바 없으며 최근에는 비 로스 몇몇 學者들에 의해서 人蔘葉의 saponin 및 人蔘葉成分의 藥理作用에 대한 研究가 시작되었 다.^(6,10,11)

지금까지 研究對象이 되어왔고 藥用으로 사용되

어 온 人蔘根에 비해 saponin 함량으로 본다면 副産物로 대부분 廢棄되고 있는 人蔘葉이나 人蔘皮에는 主根의 거의 2배 정도까지의 saponin 이 함유되어 있다. (5, 7, 8)

이들 副産物 中 극히 일부가 香粧品등의 目的으로 이용되고 있으나 값비싼 有機溶媒와 高溫과 長時間을 요구하는 非經濟인 溶媒抽出方法⁽³⁾을 택하고 있는 실정이므로 이에 비해 溫和한 條件에서 抽出할 수 있는 酵素의 抽出方法을 摸索하고자 하였다. 本人들은 植物組織崩壞力(macerating activity)이 강력한 酵素 生成菌을 1株 選定하여 이 菌株에서 얻은 macerating enzyme 을 人蔘葉 및 人蔘皮에 處理시킴으로써 効果적으로 saponin 을 抽出할 수 있었다.

材料 및 方法

1. 材料

本實驗에 使用한 人蔘葉은 경기도 포천産 6年生 人蔘葉을 8月 말경에 수확하여 風乾시킨 후 葉莖 및 葉條를 除去하고 5cm² 정도로 일정하게 절단하여 使用하였으며, 人蔘皮는 忠南 錦山産 4年根 水蔘에서 剝皮, 乾燥하여 얻은 白蔘製造 副産物인 人蔘皮片을 구입하여 협잡물을 除去하고 使用하였다.

2. 酵素生成菌

植物組織崩壞酵素(macerating enzyme)의 生成菌은 부패된 貯藏水蔘에서 分離한 5種의 絲狀菌중에서 組織崩壞力이 가장 강한 *Rhizopus* 屬 1株를 選定하여 G-211 로 命名하였으며, cellulase 生成菌株로는 國立環境研究所 水質微生物 研究室에서 分離받은 *Trichoderma vivide* 菌株를 使用하였다.

3. 粗酵素의 調製

Wheat bran 고체배양기에 接種된 菌株를 接種하여 30°C에서 5일동안 배양시킨 후 7배량의 0.01M acetate buffer(pH 5.0)로 4°C에서 추출하여 (NH₄)₂SO₄를 飽和시킴으로써 얻어진 沈澱을 dialysis 한 후 냉동건조시켜 使用하였다. 한편 부가적으로 첨가한 菌株는 Tokyo kasei 製 시판酵素 pectinase 및 hemicellulase 를 使用하였다.

4. 各種 酵素活性化도 測定

가. 組織崩壞力(Macerating Activity)

4年生 水蔘根의 중앙부분을 7mm 정도의 두께로 원통형으로 절단한 후 평량된 절편 3개를 동량의 Mcllvaine buffer (pH 5.0)로 희석한 50ml의 粗酵素에 넣고 40°C에서 2시간 60rpm으로 회전

당 반응시켰다. 반응 후 수삼절편을 물로 씻고 여과지로 표면의 물을 제거한 후 잔존중량을 측정하여 다음의 식으로 조직분해력을 求하였다.

$$(W_o - W_e) / W_o \times 100$$

W_o: 반응 전의 수삼절편중량

W_e: 반응 후의 수삼절편중량

나. Cellulase 群의 測定

Avicellase 는 1% Avicell 현탁액 또는 CMCase 는 1% Sodium Carboxymethyl Cellulose 용액 (Mcllvaine buffer pH 5.6) 2ml와 buffer로 희석한 粗酵素 1ml를 40°C에서 30분간 반응시켜 DNS (2,4-dinitrosalicylic acid)발색법⁽²⁶⁾으로 환원당을 정량한 후 미리 작성한 glucose calibration curve를 이용하여 환산하였으며, 편의상 40°C에서 30분간에 1μg의 glucose를 생성하는 酵素量을 1unit로 하였다. 濾紙分解力(filter paper degrading activity, FPD)은 Toyo filter paper No. 51을 1cm×1cm로 절단하여 상기 組織崩壞力 測定方法에 準하여 감량비율을 測定하였다.

다. Pectinase 群의 測定

Pectin saccharifying activity(exo-PMG)는 buffer (acetate buffer, pH 5.0)에 용해한 1% pectin (Tokyo kasei 製 Citrus pectin)용액 2ml와 粗酵素용액 1ml를 40°C에서 30분간 反應시켜 生成된 환원당을 상기 DNS 발색법으로 定量하였으며, pectin liquefying activity(endo-PMG)는 1% pectin 용액 3ml와 buffer 2ml 및 粗酵素 1ml를 40°C에서 30분간 反應시킨 후 Oswald 점도계를 使用하여 낙하시간을 測定하였으며 酵素대신 물을 使用하여 反應시킨 대조구의 낙하시간에 대한 相對値로 表示하였다.

5. 組織分解率

人蔘葉 0.6g 또는 人蔘皮 1.0g을 Mcllvaine buffer(pH 5.0)에 용해한 1%의 酵素액 40ml에 현탁하여 40°C에서 2시간 100rpm으로 진탕 反應시킨 후 한 접의 꺼-즈로 여과하여 감소된 중량을 反應前 시료의 건물중량으로 나누어 배분율을 表示하였다.

$$\frac{\text{시료의 건물량} - \text{반응후 잔여시료건물량}}{\text{시료의 건물량}} \times 100$$

6. 可溶成分 收率

상기 조직분해율 測定方法에서 꺼-즈 여과된 여액을 원심분리하여 침전시킨 후 그 상등액의 일정량을 70°C에서 증발 건조시켜 그 중량을 反應前 시료의 乾物量으로 나누어 배분율로 表示하였

다. 이때 buffer 成分의 무게는 별도 대조구로 실험하여 그 값을 감 하였다.

7. 分解殘渣率

崩壊되어 나온 세포단위나 세포벽등의 분해잔사량을 調査하기 위해 상기 조직분해를 측정방법에서 꺼—즈 여과된 여액을 원심 침전시킨 후 80°C에서 恒量이 될 때까지 건조한 후 그 중량을 시료의 건물량으로 나누어 백분율로 表示하였다.

8. Saponin의 定量方法

시료를 後述하는 saponin의 용매추출 방법으로 抽出하거나, 酵素로 處理함으로써 抽出되어나온 saponin 함유액을 여과한 후 원심침전하여 그 상등액에 동량의 ethyl ether로 3회 脫脂시킨 후 水층을 取하여 동량의 水飽和 butyl alcohol로 3회 추출하여 다음 方法으로 定量分析하였다.

가. Vanillin-H₂SO₄ 變色方法

Hiai⁽²⁷⁾의 方法을 약간 變形하여 즉 saponin의 水飽和 butanol 용액 100μl에 무수 ethanol로 녹인 8% vanillin 용액 0.5ml를 加하여 ice bath에 넣고 미리 냉각시킨 72% H₂SO₄(V/V) 5ml를 서서히 加하여 잘 혼합시켜 60°C에서 10분간 變色시킨 후 550nm에서 흡광도를 測定하여 정제 순품 saponin을 使用해서 作成한 calibration curve로 환산하여 定量하였다.

나. HPLC에 의한 定量法

Saponin의 수포화 butanol 용액 10ml를 60°C에서 감압농축시킨 후 2.0ml의 methyl alcohol에 용해시켜 milipore 여과장치로 여과한 후 HPLC (High Performance Liquid Chromatograph)에 50 μl를 injection 하여 얻은 chromatogram을 표준 순품 ginsenoside 들을 使用하여 作成한 calibration curve에 의하여 환산 定量하였다. 이때 HPLC의 측정조건은 다음과 같다.

Model: Waters Associate Model 244

Column: μ Bondapak for carbohydrate analysis
Solvent System: Acetonitrile/H₂O/butanol (80/20/15)

Flow rate: 1.5 ml/min

Detector: RI

Sensitivity: 8X

Chart speed: 1cm/min

9. Saponin의 용매추출 방법

人蔘皮에 함유된 saponin을 다음의 Fig. 1과 같은 方法으로 추출하여 Vanillin-H₂SO₄法으로 定量하였다.

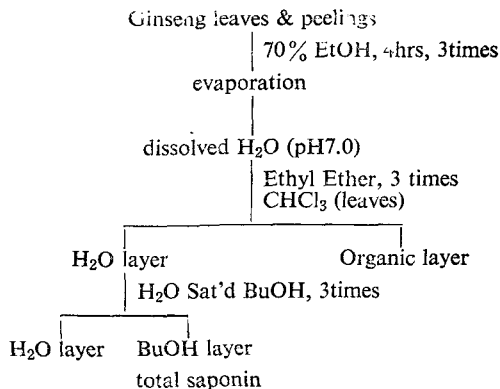


Fig. 1. Schematic Diagram for extraction of saponin

結果 및 考察

1. 人蔘葉 및 人蔘皮의 Saponin 含量

本實驗에 使用한 人蔘葉 및 人蔘皮의 saponin 含量을 調査하여 본 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Contents of Saponin in Leaves and Peelings of Korean Ginseng.

Materials	Saponin content (%)	
	Vanillin - H ₂ SO ₄	HPLC
leaves	8.62	6.25
peelings	9.75	9.42

이러한 結果는 人蔘葉에 含有되어 있는 saponin 含量이 TLC plate densitogram을 利用하여 12.9%라고 한 趙⁽⁴⁾의 結果나 Vanillin-H₂SO₄法으로 定量하여 12.80%라고 한 李⁽⁵⁾의 報告나 butanol층의 中量법으로 조사하여 11.61%라고 報告한 金⁽⁶⁾의 結果보다는 다소 낮은 含量이나, HPLC를 利用하여 6.0%, 2.5%라고 各各 報告한 Tanaka⁽⁶⁾나 洪⁽⁷⁾등의 結果보다는 다소 높은 含量이었다.

人蔘皮에 含有된 saponin 含量은 HPLC로 定量하여 9.3%라고 報告한 洪⁽⁷⁾의 結果와 거의 유사하나, butanol층의 中量법으로 13.96%라고 定量한 張等⁽⁸⁾의 報告보다는 조금 낮은 含量이다.

이와같은 含量의 차이는 시료 人蔘의 재배년수나 재배지역의 상이함과 시료의 보관기간이나 혹은 saponin 定量方法의 차이에 기인된 것이라고 생각된다.

위의 結果중 人蔘葉 saponin의 含量이 測定方法에 따라 2% 정도의 차이가 나는데 이것은 Vanillin-H₂SO₄ 變色 定量方法의 경우 chloroform 처리로

도 미처 제거되지 못한 chlorophyll 이나 Vanillin-H₂SO₄에 발색되는 미량의 물질 때문인 것으로 생각된다. 그러나 일반적으로 人蔘葉이나 人蔘皮에 함유된 saponin 함량은 실제 약용으로 사용하고 있는 白蔘이나 紅蔘의 主根에 함유된 4.0~6.0%의 saponin 함량보다는 훨씬 높다. 이미 人蔘葉에 함유된 saponin의 利用可能性에 對해 Yahara⁽¹⁰⁾ 등에 의해 언급되었으며, 人蔘葉 saponin의 약리작용에 對해서도 Saito等⁽¹¹⁾이 報告한 바 있다. 그러므로 거의 活用되고 있지 않은 人蔘葉이나 人蔘皮에 함유되어 있는 높은 含量의 saponin을 活用함으로써 人蔘製品 製造의 경제성을 크게 높일 것으로 생각된다.

2. 使用菌株의 各種 酵素活性度

植物의 組織崩壞力이 가장 강하여 선정된 G-211 菌株 및 補助的으로 使用된 cellulase 生成菌株인 *Trichoderma viride* 菌株과 고려인삼연구소 병충

해연구실에서 분양받은 人蔘근부병 原因菌인 *Fusarium* 菌株, *Sclerotinia* 菌株를 對象으로 各種 酵素의 分泌能을 調査하였다.

高等植物의 세포는 primary, secondary cell wall로 둘러싸여져 있고 각 세포들은 middle lamella로 膠着되어 組織을 형성하고 있는데 cell wall의 主體는 cellulose로 된 microfibril로써 pectic substance나 hemicellulose로 된 matrix로 싸여져 있으며, middle lamella는 cell wall cementing material인 pectic substance가 主體이라고 한다.^(12, 16), 그러므로 植物組織을 붕괴하여 細胞內의 有效成分을 溶出시키기 위해서는 먼저 middle lamella를 분해시키고 이어서 遊離된 各細胞들의 cell wall을 分解시켜야 한다고 추측된다. 그래서 식물 조직 붕괴에 主役을 한다는 cellulase 群과 pectinase 群 酵素⁽¹²⁻¹⁷⁾의 분비능에 대해 조사하였으며 그 결과는 Table 2.와 같다.

Table 2. Interrelationship of Macerating Action and Cellulase and Pectinase Activity of Several Strains

	G-211	<i>T. viride</i> (To4)	<i>T. viride</i> (reesei)	<i>Fusarium</i>	<i>Sclerotinia</i>
Cellulase group					
Avicellase (u)	7	7	30	1	—
CMC ase (u)	134	178	189	—	141
FPD (%)	10.6	21.3	61.7	2.8	1.8
Pectinase group					
exo-PMG (u)	135	95	50	28	110
endo-PMG (% ^{a)})	52.5	95.1	63.3	52.9	73.3
Macerating activity (%)	20.9	17.8	4.4	11.7	4.3

a) Percentage of non-enzymatic reaction

위의 결과에서 보는 바와 같이 pectinase 특히 endo-PMG를 강하게 생성하는 G-211 菌株의 酵素가 가장 macerating activity가 強하였는데 이는 macerating enzyme의 本體는 pectinase이고 그중에서도 특히 endo-type의 pectinase가 가장 관계가 크다는 Suzuki⁽¹⁸⁾의 보고와 일치되는 결과이다. Cellulase 群의 경우는 *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, (To4.), G-211 菌株 順으로 強하게 생성되었는데 *T. Reesei* 菌株의 경우는 특히 濾紙分解力 (FPD activity)이 強하였으나 植物組織分解力에는 별다른 영향을 미치지 못했다.

Toyama 등⁽²⁰⁾은 *Trichoderma viride*의 cellulase 群 중에 CMC 분해효소 및 Avicell 분해효소는 植

物細胞壁 분해에는 큰 영향을 못 미치고 濾紙崩壞力과 가장 큰 관계가 있다고 하였으며 野菜, 果實 등 실제 食品에 응용할 경우에는 細胞分離酵素에 첨가하는 補助酵素로써 효과가 좋았다고 하였는데⁽²¹⁾ 본 실험에 사용한 *T. viride* (To 4) 菌株의 경우는 cellulase 群의 생성능도 높은 동시에 人蔘組織崩壞力도 상당히 높았다. 그러나 *T. reesei* 菌株은 濾紙分解力등 cellulase 群 酵素의 생성능은 아주 強하였으나 macerating activity는 상당히 낮았는데 이는 pectinase 群 酵素의 생성능이 적은데 기인된 것으로 생각된다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때 人蔘組織崩壞力은 cellulase 群 보다는 pectinase 群과의 관계가 훨씬 더 크다는 것이 확인되었으며

이 점은 遠藤⁽²²⁾이나 Yamazaki⁽²³⁾ 등이 여러가지 精製方法으로 단일물질로 精製한 endo-PG가 maceration 作用을 한다는 報告등으로도 추측이 될 수 있다.

이 후 G-211 菌株가 생성한 粗酵素를 편의상 組織崩壞酵素(macerating enzyme)이라고 칭한다.

3. 酵素處理에 미치는 pH의 영향

가. 人蔘葉 및 人蔘皮 組織의 崩壞率

G-211 菌株의 粗酵素에 의한 人蔘葉 및 人蔘皮 組織의 崩壞作用에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 1% 粗酵素液을 사용하여 試驗한 결과 다음 Fig. 2와 같이 人蔘葉이나 人蔘皮 共히 pH 5.0에서 그崩壞用이 가장 높았다.

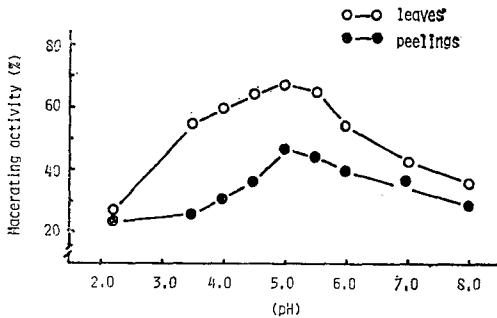


Fig. 2. Effect of pH on Macerating Activity of enzyme Produced by G-211 Strain.

石井⁽¹²⁾ 등 *Aspergillus*의 酵素는 감자나 무우가 共히 pH 2~3, *Rhizopus*의 酵素는 각각 3~5, 2~3에서 가장 분해율이 높으며 Suzuki⁽¹⁸⁾는 감자의 경우 pH 5.0과 6.5의 두 점에서 최대분해율이 나타났다고 보고하였는데 이는 시료의 종류나 菌株에 따라 다양하게 차이가 나기 때문이라고 생각된다.

한편 분해율을 볼 때 人蔘葉의 경우는 67.8% 정도까지 붕괴될 때 비해 人蔘皮는 47.3% 정도 밖에 분해되지 않았는데 이 결과는 감자가 70% 정도 당근이 75% 정도로 붕괴될 수 있다는 石井⁽¹²⁾나 Suzuki⁽¹⁸⁾ 등의 실험결과보다는 약간 낮은 분해율이다. 특히 人蔘皮의 낮은 분해율은 人蔘皮에 함유된 難分解性物質인 lignin 등에 기인된 것으로 추측되어진다.

나. 可溶性物質 抽出率

Macerating enzyme (G-211 菌株의 酵素)의 가용성물질 추출율에 미치는 pH의 영향은 다음 Fig 3과 같이 人蔘葉의 경우는 pH 4.5에서 人蔘皮는 pH 5.5에서 가장 많은 가용성물질이 추출되었으

人蔘葉의 경우에는 47.5%까지의 가용성물질을 얻을 수가 있었는데 外山⁽²⁴⁾ 등이 葉茶에 細胞分解酵素 및 cellulase를 혼합작용시켰을 때 56.3%의 가용성물질을 얻었다는 결과보다는 다소 낮은 抽出率이었다.

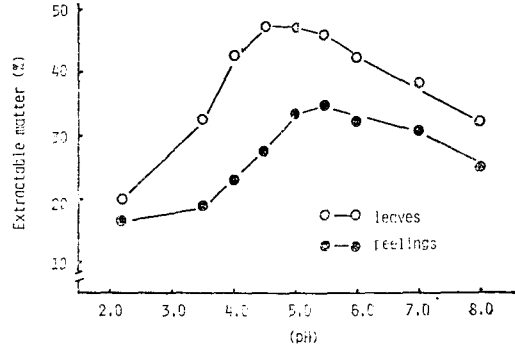


Fig. 3. Effect of pH on the Amounts of Extractable Matters.

다. 分解殘渣物

人蔘葉 및 人蔘皮를 酵素分解시켜 거즈로 여과한 후 원심침전시키면 분리된 세포단위의 單細胞나 파괴되고 남은 細胞壁, mitochondria 등의 잔사물들이 얻어지는데 이는 현미경으로도 관찰되어진다. 이러한 고형잔사물의 수율에 미치는 pH의 영향은 다음 Fig. 4와 같이 人蔘葉이나 人蔘皮 共히 pH 5.0에서 가장 높았는데 이 결과는 上記한 組織崩壞率과 일치된다.

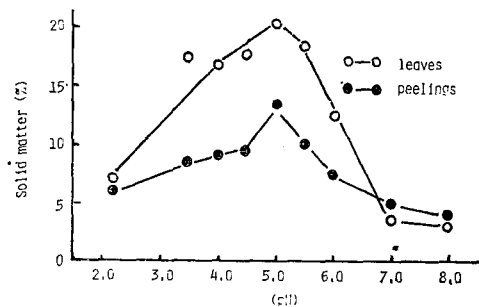


Fig. 4. Effect of pH on the Amounts of Solid Matters Obtained by Maceration

라. saponin의 抽出率

G-211 菌株의 조직붕괴효소를 처리하여 人蔘葉, 人蔘皮를 분해시키므로써 抽出될 수 있는 saponin의 수율을 조사하여 본 결과는 다음 Fig 5와 같이 人蔘葉은 pH 4.5에서 人蔘皮는 pH 5.5에서 가장 높은 추출율을 나타내었으며 人蔘葉의 경우는 3.

48%, 人蔘皮는 3.97%가 추출되었다. saponin 추출율의 pH에 대한 영향은 可溶性抽出物의 pH에 대한 영향과 일치하였는데 이와 같은 경향은 人蔘葉, 人蔘皮의 組織이 붕괴되어 細胞가 분해되면서 세포내용물이 추출됨과 동시에 saponin이 추출되기 때문인 것으로 추측된다. 그러나 추출된 가용성물질의 절대량과는 반드시 비례 하지는 않았다.

4. 酵素供用に 의한 saponin 추출율 및 組織崩壊 現象

G-211 균주 및 *Trichoderma viride* (To4) 균주로 조제한 조직붕괴효소 (Macerating enzyme)와 粗 cellulase를 단독으로 또는 병용하여 조직분해율과 saponin 추출율을 조사하여 본 결과는 Table 3과 같다.

이때 사용한 粗酵素量은 1%이었으며 40°C에서

12시간 진탕 반응시켰으며 Vanillin-H₂SO₄ 발색법으로 saponin을 정량하였다.

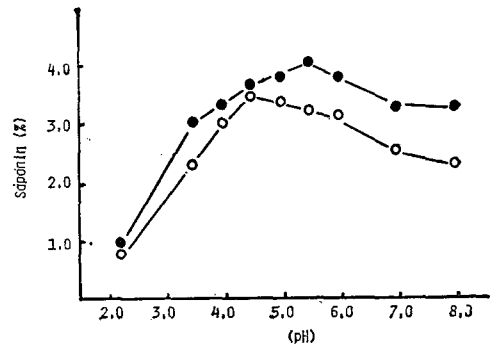


Fig. 5. Effect of pH on the Extraction of Saponin

Table 3. Effect of Various Enzyme Treatment on Yields of Saponin and Total Extract.

	leaves			peelings		
	saponin	macerating ratio	extraction matter	saponin	macerating ratio	extraction matter
M.E. ^{a)} only	3.29	68.2	47.2	3.92	47.5	34.5
Cellulase only	3.15	59.2	47.5	3.72	42.1	33.8
M.E.+cellulase	3.42	70.3	48.3	3.98	50.8	34.4
M.E.+pectinase ^{b)}	3.30	68.0	43.8	3.92	49.8	34.0
M.E.+hemicel- ^{c)} lulase	1.56	23.2	18.7	1.50	21.8	15.2

(%)

a) macerating enzyme

b) 0.5% pectinase

c) 0.5% hemicellulase

위의 결과와 같이 macerating enzyme과 cellulase를 병용함으로써 人蔘葉의 경우는 3.42%, 人蔘皮의 경우는 3.98%로 가장 높은 추출율을 나타내었으며 조직분해율이나 가용성물질 추출량도 같은 경향이였다.

Macerating enzyme과 cellulase를 단독으로 사용할 때보다 병용함으로써 middle lamella를 분해하고, 또 분리된 세포들의 세포벽 분해작용등 일련의 붕괴작용이 협동작용으로 일어남으로써 saponin 추출율 및 조직 분해율이 높은 것으로 추측된다. 이 결과는 4종의 藥茶를 대상으로 cellulase 및 cell separating enzyme을 혼합 작용 시킴으로써 훨씬 많은 엽차 성분을 추출할 수 있었다는 外山등⁽²⁴⁾의 보고를 미루어 보더라도 설명될 수 있다.

5. 酵素處理 후 抽出된 saponin의 HPLC pattern

人蔘葉 및 人蔘皮를 macerating enzyme (G-211

菌株) 및 cellulase(*T. viride*, Toyama)로 分解시켜 얻은 saponin을 前記의 butanol抽出方法으로 抽出한후 HPLC를 이용하여 ginsenoside 別로 분리하였으며 그 chromatogram은 다음 Fig.6, Fig 7과 같다.

위의 chromatogram에서 볼 수 있듯이 人蔘葉에는 대부분이 triol系 saponin인 ginsenoside-Rg, -Re, -Rd, -Rc 등이었고 diol系 saponin은 거의 나타나지 않았으나 人蔘皮에는 ginsenoside-Re가 약간 많이 함유되어 있는 점을 제외하고는 人蔘根에서 얻은 saponin pattern과 거의 同一한 양상이었다.

人蔘葉에는 triol系 saponin이 diol계 saponin보다 훨씬 많이 함유되어 있다는 사실은 triol계/diol계의 비율이 人蔘根이 0.81, 細根이 0.65 정도인데 반해서 人蔘葉은 1.51이라고 보고한 金등⁽²⁵⁾의

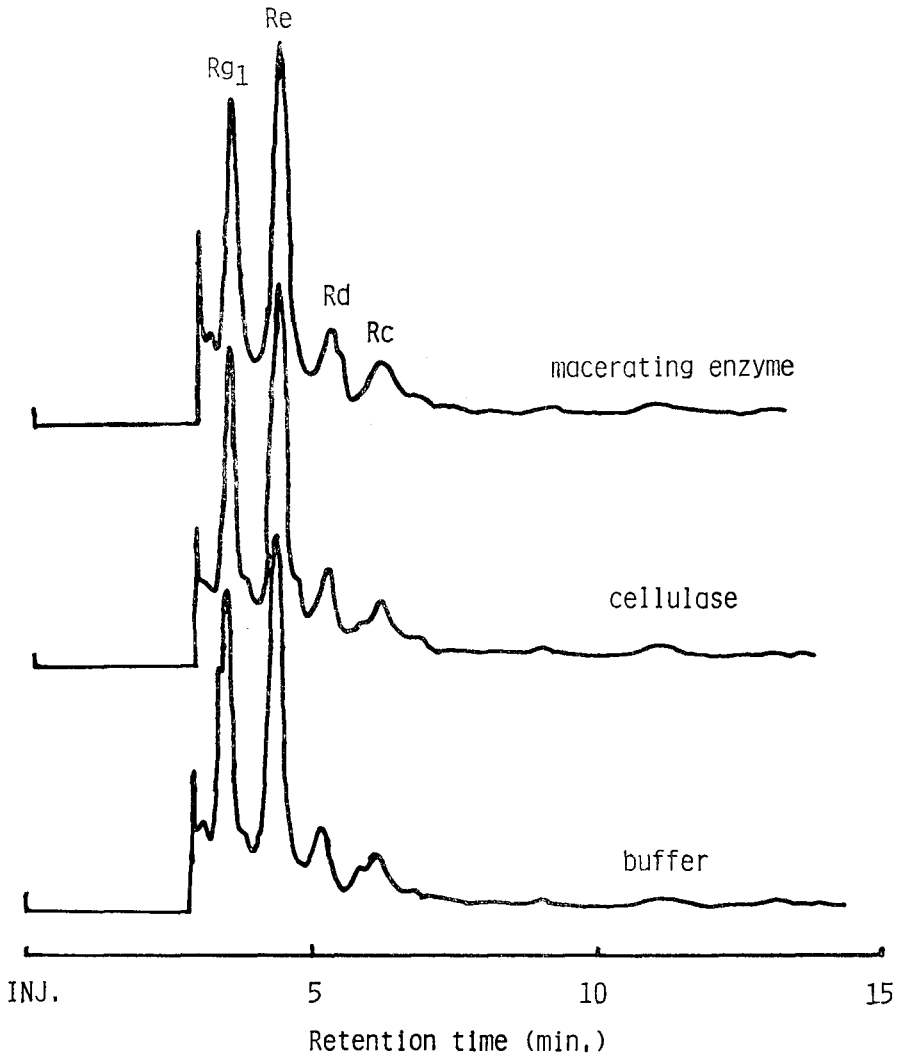


Fig. 6. Chromatogram of Saponin Extracted from Ginseng Leaves by Enzyme Treatment.

결과나 人蔘主根에는 triol 계나 diol 계 saponin 이 거의 동일한 비율로 함유되어 있는 반면 人蔘地上部에는 diol 계 saponin 이 0.35~0.45의 비율로 함유되어 있다는 梁⁽²⁵⁾의 보고 등으로 이미 알려져 있다. 人蔘皮의 saponin pattern 은 洪⁽⁷⁾의 HPLC 를 이용한 ginsenoside 別 정량분석결과와 거의 일치되는 결과이다. 그러나 G-211 균주의 macerating enzyme 을 處理한 人蔘皮 saponin 의 경우에는 ginsenoside-Rb₁ 이 약간 감소하고 감소한 Rb₁ 량과 거의 동일한 량으로 ginsenoside-Rd 가 증가됨을 알았다. 이것은 G-211 균주의 macerating enzyme 에는 ginsenoside-Rb₁ 의 구조중 20위치에 결

합되어 있는 β -1-6 결합의 glucose 중 한 분자의 glucose 를 절단하여 ginsenoside-Rd 로 전환시키는 酵素가 존재한다는 것을 추측할 수 있다.

6. saponin 의 酵素處理抽出方法과 溶媒抽出方法의 比較

溶媒抽出方法으로 人蔘葉이나 人蔘皮의 saponin 을 추출하기 위해서는 75%의 ethyl alcohol 이나 methyl alcohol 로 60°C 에서 장시간 반복추출하여야 하는 단점이 있으며 특히 人蔘葉의 경우는 有機溶媒에 의한 chlorophyll 의 混入이 항상 問題가 되고 있다. 그래서 비경제적이고 작업상 難點이 많은 現行의 有機溶媒를 이용한 saponin 추출방법

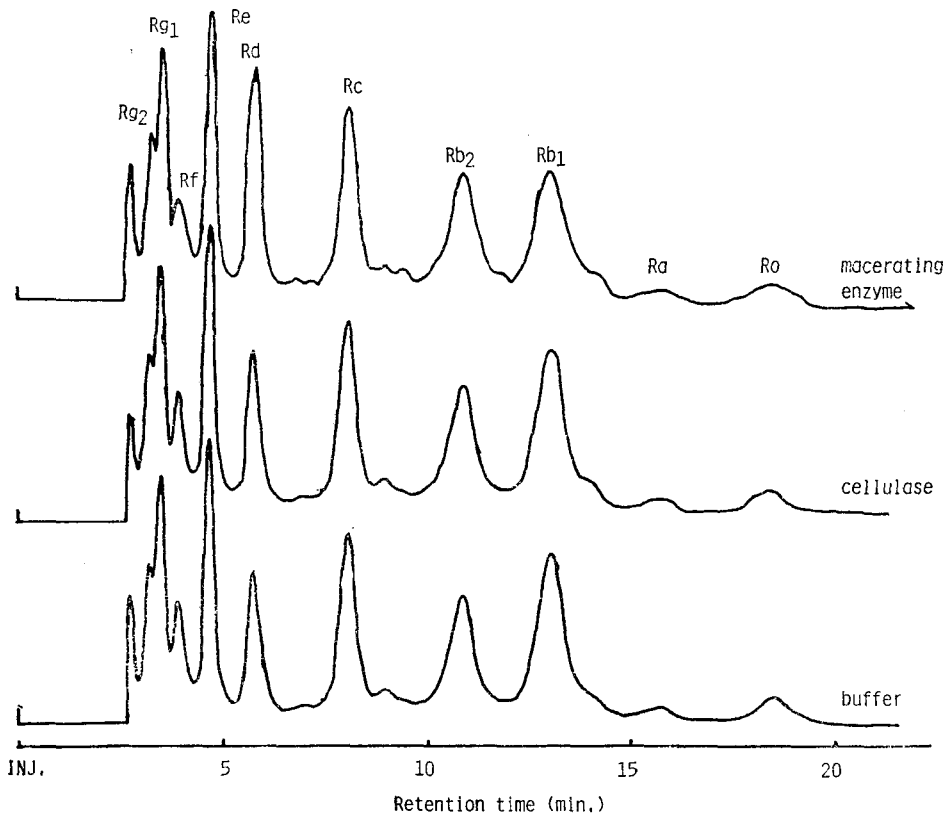


Fig. 7. Chromatogram of Saponin Extracted from Ginseng Peelings by Enzyme Treatment.

을 보완하기 위하여 용매추출방법과 酵素處理抽出方法 및 병용방법을 비교조사해 본 결과는 Table 4 와 같았다. 이때 酵素處理區는 G-211 균주의 macerating enzyme 과 T. vivide (To4) 균주에서 얻은 cellulase 를 pH 5.0 buffer 에 0.5%씩 混合處理하여 40°C에서 12시간 진탕반응시켰으며 추출된 saponin 은 Vanillin-H₂SO₄ 發色法으로 定量分析하였다. 한편 enzyme 處理後 溶媒抽出區는 enzyme 處理 후 分解되지 않고 남은 찌꺼기를 前述한 saponin 의 溶媒抽出方法으로 抽出한 saponin 量과 enzyme 處理로 抽出된 saponin 量을 合한 數值로 표시하였다. 溶媒抽出區는 試料를 아무런 處理하지 않고 原狀態 그대로 前述한 saponin 溶媒抽出方法으로 抽出하여 그 saponin 量을 定量하였다.

이 結果와 같이 enzyme 處理만으로서도 人蔘葉의 경우 전체 saponin 含量的 39.8% 人蔘皮의 경우는 39.3%나 추출할 수 있었다. 그러므로 人蔘의 부산물인 人蔘葉이나 人蔘皮의 saponin 을 食品

Table 4. Comparison of Extraction Yield of Saponin according to Enzymatic Treatment and Solvent Extraction.

	solvent extraction after enzymatic treatment		solvent extraction	
	leaves	peelings	leaves	peelings
enzyme treat	3.45	3.90		
solvent extract	5.21	6.02	8.64	9.82
total yield	8.66	9.92	8.64	9.82

이나 醫藥品의 目的으로 사용하고자 할 경우는 비경제적이고 有害한 有機溶媒抽出方法보다는 경제적이고 효율높은 酵素抽出方法을 도입하는 것이 바람직하다고 생각되어진다.

要 約

人蔘葉 및 人蔘皮를 植物組織崩壞酵素 (macerating enzyme)로 分解시킴으로써 人蔘의 有效成分인 saponin 을 효율적으로 抽出하고자 水蔘腐敗菌

중 組織崩壞力이 강력한 1種의 G-211 菌株를 選定하여 調製한 粗酵素로써 실험하였다.

組織崩壞作用의 最適 pH는 人蔘葉, 人蔘皮 共히 pH 5.0 이었으며 可溶性物質抽出率 및 saponin 抽出率은 人蔘葉이 pH 4.5, 人蔘皮가 pH 5.5에서 가장 효과가 컸다.

組織崩壞酵素와 粗 cellulase 을 併用處理하므로써 人蔘葉, 人蔘皮 각각 3.45%, 3.90%의 saponin 을 抽出할 수 있었는데 이 抽出率은 전체 saponin 含量의 39.8%. 39.3%에 해당되는 收率이었다.

또한 抽出된 saponin 을 HPLC 를 利用해서 各 ginsenoside 別 pattern 도 調査하였다.

參 考 文 獻

- 1) Shibata, S., O. Tanaka.; *Chem. Pharm. Bull.* **14**, 1157 (1966)
- 2) The Research Institute, Office of Monopoly; Abstract of Korean Ginseng Studies 64-85 (1975)
- 3) 朴恩昌; 日本特許. 昭 50-36616 (1975)
- 4) 桓趙成; 서울大學校 大學院 博士學位論文 P 17 (1977)
- 5) 李鍾華, 朴 蕪, 李政明; 韓農化誌 **22**,45(1980)
- 6) Tanaka.; O., *Proc. 2nd Int. Ginseng Symposium* 145 (1978)
- 7) 洪淳根, 朴恩奎, 李春寧, 金明運, 藥學會誌 **23**, 181, (1979)
- 8) 金萬旭, 崔康注; 高麗人蔘研究所 研究報告書 381 (1979)
- 9) 張仁完, 崔康注; 專賣技術研究所 研究報告書 683 (1975)
- 10) Yahara, S., Tanaka, O. Komori; T. *Chem. pharm. Bull.* **24**, 2204 (1976)
- 11) Saito, H. Morita, M. Takagi; K. *Japan J. Pharmacol* **23**, 43 (1973)
- 12) 石井茂孝 等; 日農化誌 **43**, 536 (1969)
- 14) *idem, ibid* **43** 544 (1969)
- 14) *idem, ibid* **44**, 299 (1970)
- 15) *idem, ibid* **44**, 306 (1970)
- 16) 島齒平雄; 食品工業 **9**, 52 (1966)
- 17) Wood, R. K. S., *Ann. Rev. plant physiol.* **11**, 299 (1960)
- 18) Suzuki, H., Abe, T. Urade, M. Nisizawa, K. and Kuroda; *A. J. Ferment. Technol.* **45**, 73 73 (1967)
- 19) Suzuki, H., Henmi, N. Nisizawa, K. kuroda; *A. ibid* **45**, 1080 (1979)
- 10) Ogawa, K., Toyama, N. *ibid*, **43** 661 (1965)
- 21) Toyama, N.; *ibid*, **43**, 668 (1965)
- 22) 遠藤章; 日農化誌, **40**, R 39, (1966)
- 23) Yamasaki, M., Yasui, T. Arima, K. *Agr. Biol. chem.* **30**, 1119 (1966)
- 24) 外山信男, 大渡久行; 日釀工 **44**, 830. (1966)
- 25) 梁熙天; 全北大農大論文集 **8**, 117 (1977)
- 26) Miller, G. L.: *Anal. chem.* **31**, 426 (1959)
- 27) Hiai, S., Oura, H., Odaka, Y., Nakajima, T; *Planta medica.* **28**, 363 (1975)