

## 인삼엽 단백질의 추출 및 영양가

김지화\*·이무성·남창우

\*(주)일화기술연구소, 동덕여자대학교 식품영양학과

### Protein Concentrate from Ginseng Leaf and its Nutritive Value

Ji-Hwa Kim\*, Mu-Seung Lee and Chang-Woo Nam

\*Technical Research Institute of Il Hwa Co., Ltd.

Department of Food and Nutrition, Dongduck Women's University, Seoul

#### Abstract

This study was investigated to evaluate the feasibility of protein concentrate for human food from ginseng leaf. The protein concentrate was prepared from ginseng green leaf by treating with cold acetone, followed by protein extraction with 0.2% NaOH containing 0.5% 2-mercaptoethanol and 0.5% sodium dodecyl sulfate. Proximate composition of the ginseng leaf protein concentrate (LPC) showed that fat and ash was less than 1%, protein was about 75%, total sugar and total saponin was 5% and 1.2%, respectively. As compared to the provisional amino acid pattern reported by FAO/WHO, ginseng LPC was found to be poor in S-containing amino acids, which were the first limiting amino acid. The amino acid score and E/T ratio of ginseng LPC were 43.1 and 3.02, respectively. Digestibility of ginseng LPC by pepsin and trypsin was lower than that of milk casein.

Key words: ginseng leaf protein concentrate, amino acid composition, *in vitro* digestibility

#### 서 론

엽단백질의 농축물(leaf protein concentrate: LPC)은 오랫동안 단백질 식량으로 이용하려는 연구가 활발하게 수행되어 왔다. 그러나 엽단백질은 곡류나 두류의 단백질만큼 충분히 연구되어 있지 않아 아직도 검토해야 할 문제가 많다. LPC의 제조방법으로는 가열법, 산침전법<sup>(1)</sup>, 용매분별법<sup>(2)</sup>, 하전고분자에 의한 응집법<sup>(3)</sup> 등이 보고되었고 근년에는 alfalfa를 사용한 Pro-Xan process<sup>(4)</sup> 또는 Pro-Xan II process<sup>(5)</sup> 등이 개발 연구되었으나 식품으로서의 영양가, 색, 맛, 독성, 경제성 등 많은 문제점이 남아 있다. 엽단백질은 곡류단백질에 비하여 lysine의 함량이 많고 합황아미노산을 제외한 모든 필수아미노산이 풍부하게 함유되어 있어 탈지대두단백질과 거의 동등한 영양가를 갖는다고 보고된 바 있다<sup>(6)</sup>.

인삼은 옛부터 민간의약으로 사용해온 생약으로서 이제까지 발표된 논문은 대부분이 사포닌의 생리 및 약리

작용<sup>(7)</sup>에 관한 것이었고 단백질 및 아미노산조성에 관한 연구는 김<sup>(8)</sup>, 이 등<sup>(9)</sup>, 최 등<sup>(10)</sup>의 보고가 있으나 이들은 모두 인삼근을 대상으로 수행되었다. 한편 인삼엽의 활용에 대한 연구로는 양 등<sup>(11)</sup>, 김 등<sup>(12)</sup>이 수행한 인삼엽차의 개발연구에 관한 보고가 있을 뿐 단백질 이용에 대한 보고는 아직 없다. 이에 본 연구는 인삼엽의 대체단백질로서의 이용 및 타당성을 검토하기 위하여 인삼엽으로 LPC를 조제하고 그의 아미노산 조성과 인공소화시험을 수행하여 영양적 가치를 검토한 결과를 보고하는 바이다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

본 실험에 사용한 인삼엽은 경기도 이천군 신둔면 용면리에서 1988년 8월 하순에 5년근을 수확할 때 마른 잎은 버리고 신선한 생엽만을 채취한 것이다. 채취한 인삼엽은 즉시 실험실로 옮겨 깨끗이 수세한 후 잘게 절단하여 냉장고에 보관하면서 사용하였다.

Corresponding author: Chang-Woo Nam, Department of Food and Nutrition, Dongduck Women's University, Seoul 136-714

### 전처리 시료의 조제

잘게 절단한 인삼엽에 4배 용량의 냉아세톤(-20°C)을 가하여 waring blender(Nissei AM-11)로 1분간 마쇄한 후 즉시 흡인여과하고 잔사에 다시 4-5배 량의 냉아세톤을 가하여 마쇄, 여과하는 조작을 4-5회 반복하여 잔사의 녹색을 제거한 다음 환풍건조기(Hwa Sung HS-83)로 50°C 이하에서 건조시킨 다음 분쇄하여 전처리 시료로 하였다.

### 인삼엽 단백질의 추출 및 LPC 조제

전처리 시료로부터 단백질의 추출 및 LPC의 조제는 保井 등<sup>(13)</sup>이 개발한 방법을 약간 수정하여 다음과 같이 실시하였다. 전처리 시료 20g에 0.5% sodium dodecyl sulfate(SDS), 0.5% 2-mercaptoethanol(2-ME)을 함유하는 0.2% NaOH 용액 300 ml를 가하여 때때로 저어주면서 12시간 방치 추출하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 추출액을 얻었다. 잔사는 같은 조작을 4회 반복한 다음 추출액을 합하여 단백질 추출액으로 하였다. 추출액에 10% acetic acid를 가하여 pH 2.5로 조정하여 단백질을 침전시키고 2-3시간 방치한 후 원심분리하였다. 분리한 단백질은 0.2% NaOH 용액으로 녹이고 Toyo No. 6 여지로 여과한 후 투석막에 넣어 흐르는 물에서 3일간 투석시켰다. 투석막 내용물을 비이커에 옮기고 2배 용량의 무수에탄올을 가하여 단백질을 침전시킨 후 여과하여 회수하였다. 다시 에테르로 세척한 다음 환풍건조하여 인삼 LPC를 조제하였다.

### 일반성분의 분석

AOAC 법<sup>(14)</sup>에 준하여 수분은 상압가열 건조법, 회분은 회화법, 조지방은 에테르 추출법으로 측정하였다. 조단백질은 micro-Kjeldahl 법으로 측정한 질소량에 6.25를 곱하여 나타내었고 총당은 phenol-sulfuric acid 방법<sup>(15)</sup>에 따라 정량하였다.

### 사포닌의 분석

조사포닌의 분리 및 정량은 Namba 등<sup>(16)</sup>의 butanol 추출 증량법에 준하였고 각 ginsenoside 함량은 총 사포닌을 5% MeOH 용액으로 만든 후 HPLC(Beckman model 334)를 사용하여 정량하였다.

분석조건은 Spherisorb NH<sub>2</sub> 컬럼을 사용하였으며 용매는 CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O : n-BuOH = 80 : 20 : 25(v/v/v)였고 검출기는 Shodex RI였다.

### 아미노산의 분석

아미노산의 분석은 분해관에 시료 50 mg을 넣고 6 N HCl 10 ml를 가해 탈기시킨 후 밀봉하여 110±1°C에서 24시간 가수분해하고 진공건조시킨 다음 0.1 M citrate buffer 용액(pH 2.2)으로 용해하여 Waters HPLC amino acid analysis system을 사용하여 분석하였다.

시료 10 μl를 Econo sphere C<sub>8</sub> 5 μ+Guard 컬럼에 주입하고 검출기로는 Fluorescence를 사용하였다.

Tryptophan은 Spies 등<sup>(17)</sup>의 p-dimethylamino-benzaldehyde 법에 준하여 580 nm에서 비색정량하였다.

### 인공소화 시험

인삼엽으로 조제한 LPC의 인공소화 시험은 milk casein을 대조구로하여 pepsin(1:10,000, Junsei Chemical Co. 제품) 및 trypsin(2,000 E/g, Merck사 제품)을 사용하여 田代 등<sup>(18)</sup>의 방법을 일부 변경하여 실시하였다. Pepsin의 경우 시료 100 mg을 0.12 M NaCl-HCl 용액(pH 2.0) 2.5 ml에 녹이고 pepsin 수용액(5.0 mg/ml) 0.5 ml를 가하여 37°C에서 0-24시간 반응시킨 후, 10% TCA 3.0 ml를 가하여 반응을 정지시키고 4°C에서 24시간 방치한 후 상등액 일정량을 취하여 micro-Kjeldahl 법으로 질소량을 정량하여 다음 식으로 소화율을 산출하였다.

$$\text{소화율} = \frac{P - (A + B)}{N - B} \times 100$$

N: 시료의 총 질소량                      A: 효소의 blank 치

P: 상등액의 총 질소량                    B: 시료의 blank 치

Trypsin의 경우는 시료를 0.12 M phosphate buffer(pH 8.0), trypsin을 5 mM HCl에 녹여서 사용하는 이외에는 pepsin의 경우와 같은 방법으로 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분

인삼엽 전처리 시료와 LPC의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 인삼엽을 -20°C 아세톤과 함께 마쇄하여 탈기시킨 전처리 시료중의 조단백질은 17.5%였으며, 이 전처리 시료 100g을 0.2% NaOH(0.5% SDS, 0.5% 2-ME 함유)로 추출한 후 산처리, 투석 등의 과정을 거쳐서 약 7.8g의 LPC를 얻었으며

조단백질 함량은 75.3%이었다. 이는 保井 등<sup>(13)</sup>이 보고한 시금치(90.4%)와 무우잎(87.2%) LPC 보다는 낮은 값이지만 이 등<sup>(13)</sup>이 칩잎에서 조제한 LPC(60-67%)에 비하면 많다. 또 이들이 조제한 LPC의 조지방은 약 4-6%로서 인삼 LPC의 0.3%에 비하여 월등하게 많다. 지방은 LPC의 저장 중 품질을 저하시키는 원인이 되며 Henry 등<sup>(20)</sup>은 흰쥐 성장실험에서 가열건조법으로 조제한 LPC의 영양가가 10-20% 저하되는 것은 함유된 지방의 산화에 기인한다고 지적한 바 있다.

**사포닌의 함량**

인삼의 생엽, 탈지엽 및 LPC에 함유되어 있는 조사포닌과 ginsenoside 함량은 Table 2와 같다. 생엽, 탈지엽 및 LPC의 조사포닌은 각각 14.46, 5.83 및 1.19%이고 ginsenoside는 각각 6.92, 2.87 및 0.32%로서 각 시료간에 현저한 차이를 나타내었다. Ginsenoside로서 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re, Rg<sub>1</sub> 등 6종을 정량하였으며 panaxadiol과 panaxatriol 계의 비는 각각 0.56, 1.26 및 1.67이며 인삼근에 비해 인삼엽에 triol 계 사포닌이 많다는 사실은 김 등<sup>(21)</sup>의 결

과와 일치한다. 그러나 탈지엽과 LPC에서는 diol 계 사포닌이 많으며 그 비율은 이들이 실험한 인삼근 1.74에 비하여 낮은 값을 나타내지만 인삼근의 비율과 유사한 경향을 나타내고 있다.

**인삼 LPC의 아미노산 조성**

인삼 LPC의 아미노산 조성은 Table 3과 같이 aspartic acid의 함량이 13.4%로 가장 많고 methionine이 1.5%로 가장 적었다. 이는 최 등<sup>(10)</sup>이 보고한 인삼근의 아미노산 조성에서 arginine의 함량이 가장 많은 것과는 다른 결과를 나타내었다. 또 인삼 LPC의 아미노산 조성을 달걀단백질<sup>(22)</sup>의 그것과 비교하여 볼 때 glutamic acid, serine, methionine 및 lysine의 함량이 적으나 필수아미노산의 함량은 달걀단백질의 49.3%에 비하여 54.5%로 높은 값을 나타내었다.

또 인삼 LPC의 필수아미노산과 1973년 FAO/WHO 위원회에서 제시한 amino acid pattern<sup>(23)</sup>과 비교한 결과를 Table 4에 나타내었다. 인삼 LPC의 제 1제한아미노산은 함황아미노산이며 그 amino acid score는 43.1이다. 그리고 단백질의 전체 구성아미노산에 대한 필수아미노산량의 비를 나타내는 E/T ratio는 3.02로서 FAO/WHO의 2.25보다 높다. 일반적으로 엽단백질의 제한아미노산은 methionine이라는 보고<sup>(4)</sup>가 많다. 그러나 methionine 함량은 단백질 추출액에서 단백질을 응고시킬 때 그 응고방법에 따라서 다르다는 보고<sup>(24)</sup>도 있어 낮은 methionine 함량이 엽단백질의 특성이라고 단정 지을 수는 없다.

**인공소화 시험**

Fig. 1은 pepsin 소화를 경시적으로 나타낸 것으로서 LPC의 소화율은 milk casein 보다 낮게 나타났

Table 1. Proximate compositions of defatted ginseng leaf and its leaf protein concentrate

Compositions	Pretreatment	Ginseng LPC
	(Defatted leaf)	
Weight (g)	100	7.82
Moisture (%)	9.88	8.08
Crude protein (%)	17.50	75.34
Crude fat (%)	0.86	0.31
Total sugar (%)	25.38	5.22
Ash (%)	5.67	1.14

Table 2. Contents of saponin and ginsenosides in the leaf, defatted leaf and LCP of ginseng

(Unit: %)

	Crude saponin	Ginsenoside							Ratio (PD <sup>a</sup> /PT <sup>b</sup> )
		Rb <sub>1</sub>	Rb <sub>2</sub>	Rc	Rd	Re	Rg <sub>1</sub>	Total	
Leaf	14.46	0.23	0.36	0.43	1.46	2.46	1.98	6.92	0.56
Defatted leaf	5.83	0.16	0.26	0.28	0.90	0.86	0.41	2.87	1.26
LPC	1.19	0.08	0.03	0.05	0.04	0.07	0.05	0.32	1.67

a) PD (panaxadiol ginsenoside): Rb<sub>1</sub> + Rb<sub>2</sub> + Rc + Rd

b) PT (panaxatriol ginsenoside): Re + Rg<sub>1</sub>

Table 3. Amino acid composition of ginseng leaf protein concentrate

Amino acids	(g amino acid/16gN)	
	Ginseng LPC	Whole egg protein <sup>a)</sup> (commercial)
Aspartic acid	13.41	10.1
Glutamic acid	12.56	13.4
Serine	2.93	7.7
Histidine	2.34	2.4
Glycine	4.59	3.4
Threonine	4.21	4.8
Arginine	6.82	6.5
Alanine	6.05	6.0
Tyrosine	4.53	4.3
Methionine	1.51	3.5
Valine	7.03	6.7
Phenylalanine	7.33	5.5
Isoleucine	6.19	5.8
Leucine	11.39	9.0
Lysine	4.42	7.1
Tryptophan	1.68	1.5
Total amino acid	96.99	97.7
Total essential amino acid	52.82	48.2
Essential amino acid, %	54.46	49.3

a) Data from Yamaguchi and Kandatsu (1973)<sup>(22)</sup>

Table 4. Essential amino acid patterns of ginseng leaf protein concentrate

Amino acids	(g amino acid/16g·N)	
	FAO/WHO (1973) pattern <sup>a)</sup>	Ginseng LPC
Isoleucine	4.0	6.19
Leucine	7.0	11.39
Lysine	5.5	4.42
Methionine + cystine	3.5	1.51
Phenylalanine + tyrosine	6.0	11.86
Threonine	4.0	4.21
Tryptophan	1.0	1.68
Valine	5.0	7.03
E/T ratio <sup>b)</sup>	2.25	3.02

a) Provisional amino acid scoring pattern from Report of a Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee.

b) g essential amino acid per g total amino acid N.

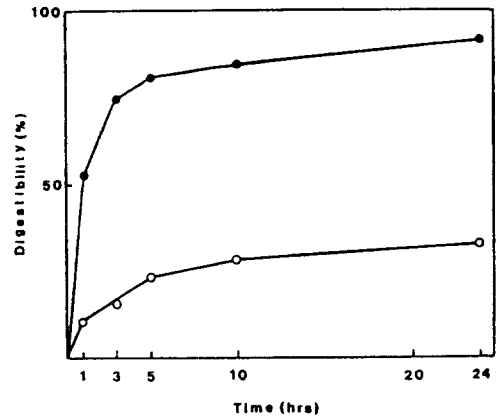


Fig. 1. In vitro pepsin digestibility of the ginseng leaf protein concentrate.

●—●, milk casein; ○—○, ginseng LPC.

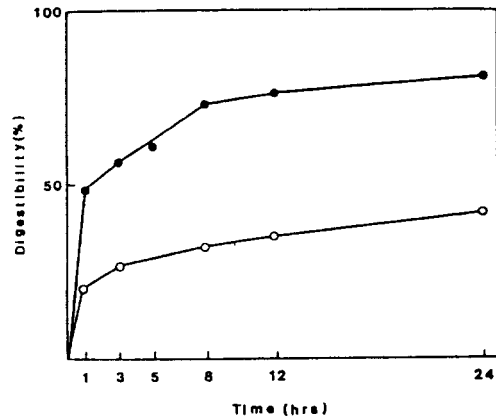


Fig. 2. In vitro trypsin digestibility of the ginseng leaf protein concentrate.

●—●, milk casein; ○—○, ginseng LPC.

다. 또 LPC의 소화속도는 milk casein보다 느리고 24시간 반응에서도 milk casein이 약 92% 분해되는데 비해서 LPC는 약 32%에 불과하다. Trypsin 소화도 Fig. 2와 같이 milk casein보다 낮으며 반응 24시간 후 milk casein 약 81.4%에 비해 LPC는 42.4%로 극히 낮으나 pepsin 보다는 소화율이 약간 높은 편이다. 따라서 인삼 LPC의 소화율 저하 원인을 검토하고 *in vivo* 실험을 통하여 성장시험, 소화율, 생물가, net protein utilization(NPU) 및 보족효과 등의 생물학적 평가를 해볼 필요가 있다고 사료된다.

요 약

인삼엽 단백질의 식량화를 위하여 엽단백질 농축물

(LPC)을 조제하여 그 아미노산 조성과 인공소화율을 검토하였다.

인삼엽을 -20°C 냉아세톤으로 처리하고 0.2% NaOH(0.5% SDS, 0.5% 2-ME 함유)로 단백질을 추출하여 인삼 LPC를 얻었다. 인삼 LPC의 일반성분으로는 지방과 회분이 1% 미만이었고 단백질은 75% 내외로 많았으며 총 당은 약 5% 이었다. 총 사포닌 함량은 약 1.2%이고 panaxadiol 과 panaxatriol 의 비는 1.67이었다.

아미노산 조성은 aspartic acid의 함량이 약 13.4%로 가장 많았으며 methionine의 함량은 매우 낮았다. 필수아미노산도 고루 들어 있었고 총 아미노산에 대한 필수아미노산은 54.5%이었고 E/T ratio는 3.02이었다. LPC의 제 1제한아미노산은 함황아미노산이고, 그 amino acid score는 43.1이었다. Pepsin 및 trypsin을 사용한 인삼 LPC의 소화율은 비교단백질인 milk casein에 비하여 낮았다.

문 헌

1. Miller, R.E., Fremery, D., Bickoff, E.M. and Kohler, G.O.:Soluble protein concentrate from alfalfa by low-temperature acid precipitation. *J. Agr. Food Chem.*, 23, 1177(1975)
2. Bray, W.J. and Humphries, C.:Solvent fractionation of leaf juice to prepare green and white protein products. *J. Sci. Food Agr.*, 29, 839(1978)
3. Anelli, G., Fiorentini, R., Massignan, L. and Galoppin, C.:The poly-protein process: A new method for obtaining leaf protein concentrates. *J. Food Sci.*, 42, 1401(1977)
4. Knuckles, B.E., Bickoff, E.M. and Kohler, G.O.: Pro-xan process:Methods for increasing protein recovery from alfalfa. *J. Agr. Food Chem.*, 20, 1055(1972)
5. Edwards, R.H., Miller, R.E., Fremery, D., Knuckles, B.E., Bickoff, E.M. and Kohler, G.O.:Pilot plant production of an edible white fraction leaf protein concentrate from alfalfa. *J. Agr. Food Chem.*, 23, 620(1975)
6. Wilson, R.F. and Tilley, J.M.A.:Amino-acid composition of lucerne and of lucerne and grass protein-preparations. *J. Sci. Food Agr.*, 16, 173(1965)
7. The research institute office of monopoly R.O.K.: Abstracts of korean ginseng studies, 64-85(1975)
8. 김동연: 홍삼의 갈변에 관한 연구. *한국농화학회지*, 16,

- 60(1973)
9. 이성우, 黑崎敏晴, 우상규, 유태현: 고속액체크로마토그래피에 의한 각종 인삼제품 중의 유리아미노산 조성의 분석. *한국영양식량학회지*, 11(3), 37(1982)
10. 최 청, 윤상홍, 배만중, 안봉진: 한국인삼의 연근별 단백질 및 아미노산 조성. *한국식품과학회지*, 17, 1(1985)
11. 양회천, 이석영: 인삼엽을 이용한 다류제조에 관한 연구. *한국농화학회지*, 22, 51(1979)
12. 김상달, 도재호, 오훈일, 이송재: 인삼엽차 제조방법이 품질에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, 13, 267(1981)
13. 保井忠彦, 吉澤裕子: 綠葉たん白質の新分離法. *營養と食糧*, 34, 303(1981)
14. A.O.A.C.: *Official methods of analysis*, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., p.211(1980)
15. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P. A. and Smith, F.:Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350(1956)
16. Namba, T., Yoshizaki, M., Tominori, T., Kobashi K., Mitsui, K. and Hase, J.:Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs III. *Yakugaku Zasshi*, 94, 252(1974)
17. Spies, J.R. and Chambers, D.C.:Chemical determination of tryptophan:Study of color-forming reactions of tryptophan, p-dimethylaminobenzaldehyde, and sodium nitrite in sulfuric acid solution. *Anal. Chem.*, 20, 30(1948)
18. 田代操, 牧善輔: 葉たん白質の營養價. *營養と食糧*, 32, 299(1979)
19. 이가순, 임국이, 최우영, 오만진: 침입단백질의 분리 및 그 성질에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, 14, 345(1985)
20. Henry, K.M. and Ford, J.E.:The nutritive value of leaf protein concentrates determined in biological tests with rats and by microbiological methods. *J. Sci. Food Agr.*, 16, 425(1965)
21. 김석창, 최강주, 고성용, 주현규: 인삼의 근, 엽 및 경의 일반성분, 용매별 액기스 및 사포닌 함량 비교. *고려인삼학회지*, 11, 118(1987)
22. Yamaguchi, M. and Kandatsu, M.:Nutritional evaluation of dietary proteins with regard to body protein metabolism in adult rats using purified whole egg protein as a standard reference. *Agr. Biol. Chem.*, 37, 809(1973)
23. Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee: Energy and Protein Requirement(1973)
24. Wang, J. and Kinsella, J.E.:Composition of alfalfa leaf protein isolates. *J. Food Sci.*, 40, 1156(1975)

(1989년 4월 4일 접수)