

백삼 물추출물의 갈변반응중 갈색도 및 성분의 변화

도재호·김경희·장진규·양재원·이광승

한국인삼연구초연구소

Changes in Color Intensity and Components during Browning Reaction of White Ginseng Water Extract

Jae-Ho Do, Kyung-Hee Kim, Jin-Gyu Jang, Jai-Won Yang
and Kwang-Seung Lee

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon

Abstract

Changes of color intensity and components during browning reaction of water extracts from white tail ginseng were investigated. Temperature dependence was described by the Arrhenius relationship with an activation energy of 16 kcal/mole. Temperature sensitivities (Q_{10} value) for water extracts of ginseng was 1.90 between 70°C and 80°C, 1.67 between 80°C and 90°C and 1.46 between 90°C and 100°C. pH value of the solution treated at 90°C and 100°C slightly increased with an increase in reaction time. Among ginseng saponins ginsenoside-Re was most unstable against heat-treatment, while diol group saponins were more stable against heat-treatment. Hydrogen donating activity (reducing activity for α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) and 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) positive substances of browning reaction products increased in proportion to the length of browning reaction time and temperature, whereas folin positive substances decreased by heat-denaturation of ginseng protein at initial reaction time and then increased thereafter.

Key words: browning reaction, white ginseng, water extract, ginsenosides.

서 론

인삼의 갈변에 관한 연구는 김⁽¹⁾이 보고한 홍삼의 갈변에 관한 연구를 시작으로 해서 홍삼액기스의 색상변화⁽²⁾, 항산화효과^(3,4), 갈변촉진연구^(5,6), 아미노산과 당류변화⁽⁷⁾ 등이 이루어졌으나 인삼갈변물질 그 자체에 대해서는 거의 보고된 바가 없으며, 특히 갈변기작에 대해서도 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 인삼의 갈변기작을 연구하던 중 인삼추출물의 갈변에 따른 갈색도 및 성분변화와 같은 기초실험을 행하여 우선 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료용액의 조제

시중에서 구입한 4년생 백미삼(白尾蔘) 300g에 증

Corresponding author: Jae-Ho Do, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, 302 Shinsung-Dong, Yousung-Ku, Taejon, 302-345

류수 4,000 ml를 가하면서 waring blender로 분쇄한 후 4°C에서 24시간 추출하고 면포로 여과하였다. 이 여액을 다시 4°C, 3,300×g에서 1시간 동안 원심분리하여 상등액(3,630 ml)을 시료용액으로 사용하였다.

갈색도 및 pH 측정

상기용액을 80 ml씩 취하여 밀폐시킨 후 70~100°C의 각 온도에서 120시간까지 열처리하여 갈색화반응을 시킨 용액의 상등액을 spectrophotometer (UV-200 S, Shimadzu Co.)를 사용하여 440 nm에서 흡광도를 측정하였으며, pH 값은 pH/ion meter 150 (Corning)을 사용하여 측정하였다.

조사포닌 및 Ginsenoside 함량 측정

시료용액 50 ml를 분액여두에 취하고 diethyl ether 50 ml를 가하여 진탕한 후 ether 층을 제거하고 나서, 수포화 n-butanol 50 ml를 가하여 진탕한 후 butanol

층을 분리해내고 다시 수포화 *n*-butanol 50 ml 를 가하여 같은 조작을 3회 더 반복하여 butanol 층을 분리하여 모두 합했다. 여기에 증류수 50 ml 를 가하여 진탕한 후 물층을 버리고 butanol 층을 감압농축하여 조사포닌량으로 하였다⁽⁸⁾.

Ginsenoside 함량은 HPLC 를 이용하여 홍 등⁽⁹⁾의 방법에 따라 분석하였다.

수소공여능 측정

시료용액의 수소공여능은 α, α' -diphenyl- β -picryl-hydrazyl(DPPH)을 이용한 방법으로 측정하였다⁽¹⁰⁾. 즉, DPPH 15 mg 을 100 ml ethanol 에 용해한 후 증류수 100 ml 를 가하고 나서 50%의 ethanol 용액으로 517 nm 에서 DPPH 용액의 흡광도를 약 1.5 정도로 조정하였다. 이 용액 5 ml 와 시료용액 0.5 ml 를 가하여 혼합한 후 30초 후에 517 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 이때 수소공여활성은 대조구와의 흡광도의 차이가 0.01일 때 1 unit 로 하였다.

3,5-Dinitrosalicylic acid(DNS) 및 Folin 시약 양성물질량 측정

DNS 및 folin(Folin & Ciocalteu's phenol reagent)시약 양성물질량은 Bernfeld⁽¹¹⁾, Lowry 등⁽¹²⁾의 방법에 따라 측정하였으며, glucose 와 bovine serum albumin 을 각각 표준곡선 작성시 표준품으로 사용하였다.

결과 및 고찰

갈색도 및 pH 의 변화

온도를 70°C에서 100°C까지 달리해서 120시간까지 열처리하면서 갈색도를 조사한 결과(Fig. 1), 70°C에서는 갈색화반응이 거의 진행되지 않았으나 온도가 높을수록, 시간이 경과할수록 반응이 촉진됨을 알 수 있다. 이 결과는 최 등⁽²⁾이 보고한 홍삼액기스의 경우와 거의 유사하여 시료용액내의 반응기질 또는 반응중간물질들이 존재하는 한 계속 진행될 것으로 생각된다. Fig. 1의 결과를 이용하여 Arrhenius plot 를 행한 결과는 Fig. 2와 같다. 이 직선의 기울기를 Arrhenius 방정식에 대입하여 갈변에 미치는 활성화에너지를 계산한 결과 약 16 kcal/mole로서 pear juice 의 21.9 kcal/mole⁽¹³⁾, glucose/aspartame system 의 22 kcal/mole 보다는 낮았으며 glucose/glycine system

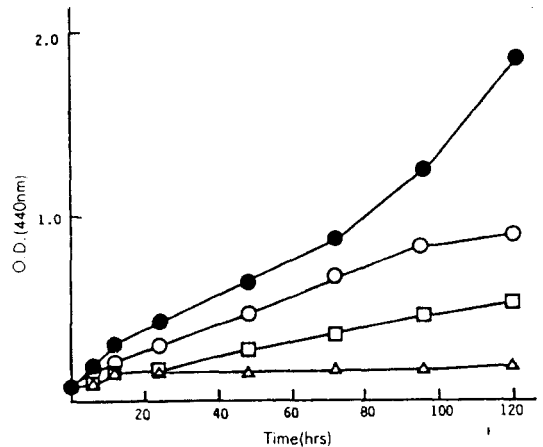


Fig. 1. Brown pigment formation in ginseng water extract at various temperature. —Δ— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C, —●— 100°C

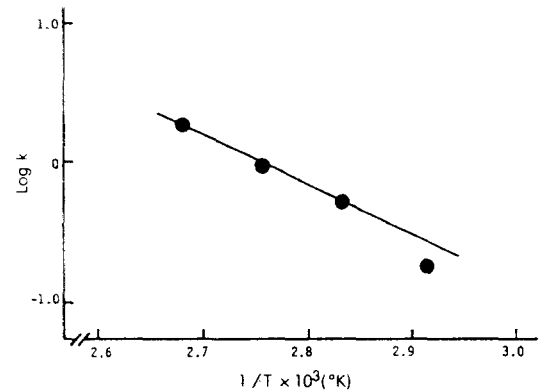


Fig. 2. Arrhenius plot for browning of ginseng water extract over the temperature range 70-100°C.

의 15.5 kcal/mole 과 비슷한 결과였다⁽¹⁴⁾. Q₁₀값은 평균치가 70~80°C에서는 1.90, 80~90°C에서는 1.67, 90~100°C에서는 1.46이었다. 갈변반응 중 pH 값의 변화는 Fig. 3과 같이 70, 80°C 처리구는 반응초기에는 약간씩 감소하다가 시간이 경과할수록 다시 증가하여 반응전과 비슷한 값을 나타내었으나 90, 100°C의 경우는 반응전보다 약간 증가하였다. 비효소적 갈변에 의해 일어나는 여러가지 현상 중의 한 부분을 차지하는 것이 산도 및 환원력의 증가이다. 산도의 증가원인은 amino-carbonyl 반응시 amino 기의 결합, Strecker 분해에 의해서 carboxyl 기가 CO₂ 가스로 변하여 소실되기 때문이며, 그외에 amino-carbonyl 반응에 의해서 여러가지의 reductone 이 생기지만 환원형의

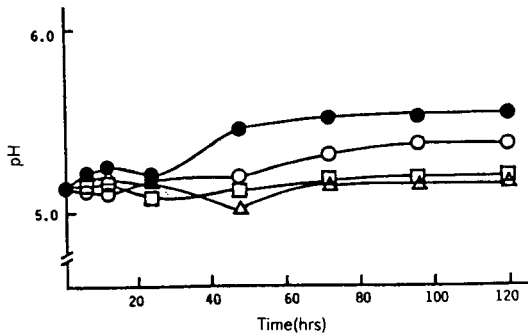


Fig. 3. Variation of pH during browning reaction of ginseng water extract at various temperatures.

—△— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C,
—●— 100°C

reductone은 ascorbic acid의 경우와, 같이 산성물질이며 이 산성에 의해 pH가 저하된다고 한다⁽¹⁵⁾. 본 실험에서도 더 장기간 갈색화반응을 진행시키면 pH값의 저하가 일어나리라고 예상된다.

사포닌량의 변화

갈색화반응 기간 중 조사포닌량의 변화는 70°C에서는 96시간까지 사포닌량이 증가하다가 그 이후에는 감소하였으며, 80°C에서는 24시간, 90°C와 100°C에서는 6시간까지 증가하다가 이후에는 감소하였다(Fig. 4) 이와 같은 현상은 백삼에만 존재하는 malonyl-ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd가 수용성 사포닌이며 malonyl기는 열에 불안정한 물질이기 때문에 쉽게 분해되어 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd 또는 acetyl saponin, quinquenoside-R₁, ginsenoside-Rs₁, -Rs₂로 변하기 때문이다⁽¹⁶⁾. 일정시간 경과 후의 사포닌량의 감소는 사포닌이 장시간의 열처리에 의해서 사포닌 분자내의 당부분이 분해되어 prosapogenin으로 되기 때문이라고 판단된다⁽¹⁷⁾. HPLC를 이용하여 인삼내에 함유된 사포닌 중에서 많은 비율을 차지하고 있는 사포닌의 양적인 변화를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 이때 인삼내에 소량 존재하는 ginsenoside-Rf, -Ra 등은 chromatogram 상에서의 작은 peak 때문에 계산이 어려웠으며, 본 분석조건에서는 ginsenoside-Rg₁, -Rg₂ 및 prosapogenin이 분리되지 않아 ginsenoside-Rg₁, -Rg₂ 및 prosapogenin을 합하여 계산하였다. Diol계 사포닌(ginsenoside-Rd, -Rc, -Rb₂, -Rb₁)의 경우, 70~80°C에서는 72시간까지는 결합되어 있던 malonyl기가

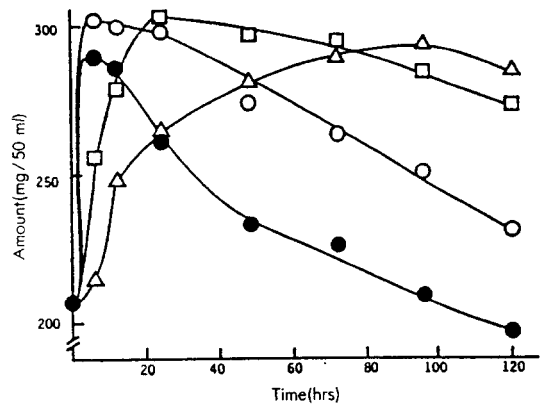


Fig. 4. Variation in amount of crude saponin(n-BuOH ext.) during browning reaction of ginseng water extract at various temperatures.

—△— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C,
—●— 100°C

분해되어 ginsenosides로 변하면서 그 양이 증가하다가 그 이후에는 감소되었으며, 90~100°C에서는 6시간 또는 그전까지는 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 Saponin 구조에서⁽¹⁶⁾ C-20 위치의 -glucose(6-1) glucose(pyranose type, -Rb₁), -glucose(6-1) arabinose(pyranose type, -Rb₂), -glucose(6-1) arabinose(furanose type, -Rc) 부분 중에 1분자 또는 2분자의 당이 분해되어 ginsenoside-Rd, -Rg₃로 전환되고 또 C-3 위치의 glucose 1분자만 남게되면 항암물질로 알려진 ginsenoside-Rh₂⁽¹⁸⁻²⁰⁾로 전환되고 계속 열분해에 의해 aglycone 상태로 되기 때문이라고 판단된다. 한편 triol계 사포닌(ginsenoside-Re, -Rf, -Rg₁, -Rg₂)의 경우, -Re는 열에 상당히 불안정하여 70°C에서도 분해가 일어나며 90°C에서 72시간 후에는 약 1/10로 감소된 반면, ginsenoside Rg group(Rg₁, Rg₂ 또는 prosapogenin)의 양은 계속 증가하였는데 이것은 ginsenoside-Re의 C-6 위치의 -glucose(2-1) rhamnose(Pyranose type) 결합형태에서 rhamnose가 분해되어 ginsenoside-Rg₁으로 전환되거나, C-20 위치의 glucose 1분자가 분해되어 -Re, -Rg₁이 ginsenoside-Rh₁으로 전환되거나 또는 C-6 위치의 rhamnose가 분해되어 Rg₂가 Rh₁으로 전환되고 계속 분해가 일어나 prosapogenin으로 되기 때문인 것으로 사료된다. 이렇게 열처리에 의해 사포닌 분자에서 떨어져 나온 당류들은 백삼 추출물 중에 존재하는 아미노

Table 1. Variation in amount of ginsenosides in white tail ginseng water extract during browning reaction at various temperatures (Unit; mg / 50 ml)

Temp. (°C)	Time (hrs)	n-BuOH ext.	Ginsenosides						Total
			Rg group & prosapogenin	Re	Rd	Rc	Rb ₂	Rb ₁	
Control		207.2	13.34	28.48	12.77	14.41	17.54	25.61	112.14
70	6	214.3	16.79	32.83	16.09	18.85	21.24	31.47	137.27
	12	248.2	16.82	30.05	16.52	19.35	24.81	36.99	144.54
	24	264.2	19.20	29.63	18.31	22.10	29.10	45.86	164.20
	48	280.5	21.67	27.39	19.51	23.78	31.75	48.54	172.64
	72	287.8	25.10	25.51	21.36	23.98	31.64	52.31	179.90
	96	293.8	24.85	23.20	20.02	23.57	31.59	49.92	173.15
	120	285.3	27.06	21.73	20.30	23.86	31.10	48.93	172.98
80	6	256.1	18.79	32.26	17.34	20.73	27.14	40.44	156.70
	12	279.0	20.30	29.34	18.76	22.78	30.31	46.24	167.73
	24	303.4	25.72	27.83	20.96	24.98	34.34	52.50	186.33
	48	296.5	33.80	21.61	20.76	24.74	34.01	52.08	187.00
	72	296.2	41.71	18.84	21.90	24.72	34.81	52.65	194.63
	96	284.7	47.74	13.74	18.83	20.64	30.86	44.76	176.57
	120	273.7	49.95	7.28	17.58	17.52	24.76	36.94	154.03
90	6	302.5	25.10	29.91	20.13	23.52	31.03	47.61	177.30
	12	293.5	29.36	24.05	18.99	22.55	30.44	46.81	172.20
	24	298.6	36.11	17.27	16.91	18.83	26.11	39.52	154.75
	48	274.4	46.37	9.21	16.04	16.93	23.79	34.89	147.23
	72	263.7	48.72	7.52	16.15	15.85	22.06	32.42	142.72
	96	251.5	55.64	5.81	16.15	15.06	20.85	30.14	143.65
	120	231.0	54.46	3.48	13.19	11.17	15.22	22.14	119.66
100	6	289.6	34.27	20.24	17.93	19.85	28.18	43.01	163.48
	12	285.9	49.60	17.14	18.89	20.62	28.57	43.51	178.33
	24	261.5	64.04	7.87	15.77	15.32	21.68	31.61	156.29
	48	228.3	57.04	4.48	13.06	11.05	16.16	23.07	124.88
	72	225.1	61.78	2.88	12.29	9.14	13.14	18.31	117.54
	96	207.0	63.11	1.96	9.81	5.71	8.54	10.98	100.11

Analysis conditions for HPLC, Model; Waters Associate Model 244. Column; μ -Bondapak carbohydrate analysis (3.9 × 300mm), Eluant; Acetonitrile: Water: n-BuOH = 80:20:10, Detector; Differential Refractometer(RI), Sensitivity; 8X, Flow rate: 1.8 ml/min, Chart speed; 0.5 cm/min, Injection vol. 10 μ l(10% solution)

화합물과 반응하여 갈색화 반응에 크게 관여하리라고 예상된다.

수소공여능

인삼갈변물질의 항산화효과에 대해서는 많은 보고가 있는데 model system 즉, glucose와 glycine을 수용액 중에서 가열해서 생성된 melanoidin 분자 중에는 비교적 안정한 유리기(free radical)가 존재하며, 산화방지제의 항산화능은 이러한 유리기에 의해서 발휘되기 때문에 melanoidin의 유리기와 항산화능과의 관계가 있다고 하였다⁽¹⁵⁾. 항산화물질의 가장 특징적인 역

활인 oxidative free radical과 반응하는 것을 이용하여 환원성 물질의 분석시약인 DPPH를 사용하여 수소공여능을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 70°C에서는 120시간까지 열처리하여도 수소공여능의 증가는 거의 없었지만 온도가 높고, 처리시간이 길어질수록 수소공여능이 증가하였다. 이 결과는 갈색도의 증가와 거의 비례함을 알 수 있었다.

DNS 및 Folin 양성물질

환원당 정량시약인 DNS 용액을 이용하여 DNS 양성물질량의 변화를 조사한 결과, 처리온도가 높고 처리

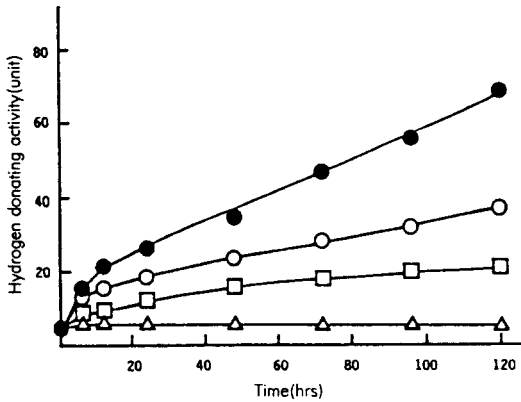


Fig. 5. Variation of hydrogen donating activity during browning reaction of ginseng water extract at various temperatures.

The activity was measured by absorbance change of DPPH at 517 nm.

—△— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C

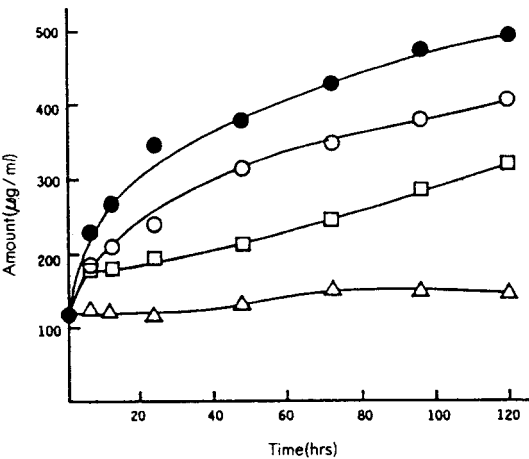


Fig. 6. Variation in amount of DNS positive substance during browning reaction of ginseng water extract at various temperatures.

—△— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C, —●— 100°C

시간이 갈수록 그 양은 증가하여 100°C의 경우 120시간 경과 후에는 초기함량의 4~5배 정도 증가하였다 (Fig. 6). 이것은 백삼 물추출물 중에 존재하는 비환원성 고분자 다당류 또는 환원력이 없는 sucrose 등이 장기간의 열처리에 의해서 분해가 일어나 환원력이 있는 저분자 당류로 변화하거나⁽²¹⁾, 당과 아미노산의 갈변반응에 의해서 환원성 물질 등이 생성되기 때문이라고도 생각된다⁽¹⁵⁾. Folin 양성물질량은 처리온도에 관

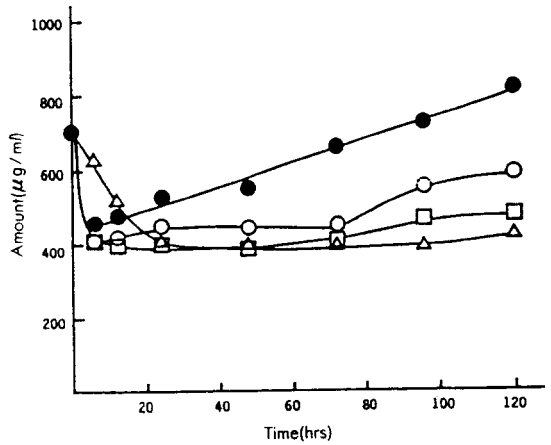


Fig. 7. Variation in amount of folin positive substance during browning reaction of ginseng water extract at various temperatures.

—△— 70°C, —□— 80°C, —○— 90°C, —●— 100°C

계없이 갈색화반응 초기에는 감소했다가 서서히 증가하는 경향이였다. 반응초기의 감소는 인삼단백질이 열변성에 의해 침전되었기 때문이며, 증가하는 이유는 갈변반응에 의해서 생성되는 중간물질인 reductone 중에서 catechol, hydroquinone 등과 같은 aromatic aci-reductone류가 생성되기 때문이라고 사료된다⁽¹⁵⁾. 단백질도 amino acid 및 amine 류와 같이 갈변반응에 관여하는데^(15,22), 단백질의 유리 amino기는 환원당이나 carbonyl 화합물과 반응한다. 유리 amino기는 lysine 잔기의 ε-amino기 또는 N-말단 아미노산의 amino기이며, 이 외의 amino acid 잔기도 일부 반응한다. 이렇게 하여 유리 amino기의 50% 이상이 당과 결합하면 단백질은 갈색화되고, 분자량은 증가하며 불용성화된다. Gelatin의 경우는 겔형성능을 잃어버리며 trypsin이나 pepsin과 같은 단백질분해효소에 대해서도 저항성을 나타낸다⁽¹⁵⁾. 최근에는 갈변물질이 carboxypeptidase A, aminopeptidase N⁽²³⁾, glucosyltransferase⁽²⁴⁾ 등의 효소활성을 저해한다는 보고가 있으며 저자 등도 인삼갈변물질과 여러가지 효소활성과의 관계에 대해서 연구해 보고자 한다.

요 약

인삼갈변기작을 연구하기에 앞서 인삼갈변에 따른 갈색도 및 성분변화에 대해 조사한 결과는 다음과 같다.

100°C에서 120시간까지 열처리하여도 갈색화반응은 계속 지속되었으며 갈변에 대한 활성화에너지는 약 16 kcal/mole, Q_{10} 값은 평균치가 70~80°C에서는 1.90, 80~90°C에서는 1.67, 90~100°C에서는 1.46이었다. 반응액의 pH는 90°C와 100°C의 경우 약간씩 증가하는 경향이였다. 인삼사포닌 중에는 ginsenoside-Re가 열에 불안정하였으며 diol계 사포닌은 비교적 열에 안정하였다. 항산화능과 DNA 양성물질량은 온도가 높을수록, 반응시간이 경과할수록 증가하였으며, folin 양성물질량은 반응초기에 단백질의 침전과 함께 감소했다가 서서히 증가하였다.

문헌

1. 김동연: 홍삼의 갈변에 관한 연구, 한국농화학회지, 16, 60(1973)
2. 최진호, 김우정, 박길동, 성현순: 열처리가 홍삼엑기스의 색변화에 미치는 영향, 고려인삼학회지, 4, 314(1980)
3. 김상달, 도재호, 오훈일: 고려인삼 갈변물질의 항산화효과, 한국농화학회지, 24, 61(1981)
4. 최강주, 김동훈: 수삼추출물 및 Glucose 또는 Arginine 첨가 추출물의 특성과 항산화작용에 대하여, 고려인삼학회지, 5, 106(1981)
5. 도재호, 김상달, 오훈일, 홍순근: 당, 아미노산 및 무기질소화합물이 인삼 갈변촉진에 미치는 영향, 한국농화학회지, 25, 295(1982)
6. 김상달, 도재호, 오훈일: pH, 유기산, 아스코르빈산 및 자외선조사가 인삼 갈변촉진에 미치는 영향, 한국농화학회지, 25, 300(1982)
7. 김만욱, 박래정: 수삼 물추출물의 갈변반응 중 아미노산과 당류변화, 고려인삼학회지, 5, 96(1981)
8. Namba, T., Yoshizaki, M. and Bae, K.H.: Studies on the physicochemical evaluation of the ginseng preparations, Proc. Symp^l WAKAN YAKU, 10, 66(1977)
9. 홍순근, 박은규, 이춘녕, 김명운: 인삼 사포닌의 High Performance Liquid Chromatography에 의한 분리, 약학회지, 23, 181(1979)
10. Blois, M.S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199(1958)
11. Bernfeld, P.: Amylases, α and β . In Methods in Enzymology, Colowick, S.P. and Kaplan, N.E.(ed). Academic press, New York, Vol.1, p.149-150(1955)
12. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193, 265(1951)
13. Beveridge, T. and Harrison, J.E.: Nonenzymatic browning in pear juice concentrate at elevated temperature, J. Food Sci., 49, 1335(1984)
14. Stamp, J.A. and Labuza, T.P.: Kinetics of the maillard reaction between aspartame and glucose in solution at high temperature, J. Food Sci., 48, 543(1983)
15. 中林敏郎, 木村進, 加藤博通: 食品の變色とその化學, 光琳書院, 東京, pp.223~289(1967)
16. 慇谷朗, 大浦彦吉, 奥田拓道: 藥用人蔘 '85, -その基礎-臨床醫學研究-, 共立出版(株), 東京, p.232(1985)
17. Shibata, S., Ando, T. and Tanaka, O.: Chemical studies on the oriental plant drugs. XVII. The prosapogenin of the ginseng saponins(Ginsenosides-Rb₁, Rb₂, and -Rc), Chem. Pharm. Bull., 14, 1157(1966)
18. 太原充子, 甲野裕之, 宗志平, 小田島齋夫, 北川勳, 阿部博子, 林趨明, 有地滋: Ginsenosides의 癌細胞에對する作用, (1) 癌細胞의 増殖抑制及び再分化誘導について, 和漢醫藥學會誌, 2, 170(1985)
19. Odashima, S., Ohta, T., Kohno, H., Matsuda, T., Kitagawa, I., Abe, H. and Arichi, S.: Control of Phenotypic expression of cultured B16 melanoma cells by plant glycosides, Cancer Res., 45, 2781(1985)
20. Ota, T., Fujikawa-yamamoto, K., Zong, Z., Yamazaki, M., Odashima, S., Kitagawa, I., Abe, H. and Arichi, S.: Plant-glycoside modulation of cell surface related to control of differentiation in cultured B16 melanoma cells, Cancer Res., 47, 3863(1987)
21. Choi, J.H., Kim, W.J., Yang, J.W., Sung, H.S. and Hong, S.K.: Quality changes in red ginseng extract during high temperature storage. J. Korean Agric. Chem., 24, 166(1981)
22. 渡邊乾二, 加藤保子: 糖-タンパク質, -タンパク質系におけるアミノ-カルボニル反應, 化學の生物, 22, 319(1984)
23. Öste, R.E., Dahlqvist, A., Sjötröm, H., Norén, O. and Miller, R.: Effect of maillard reaction products on protein digestion. In vitro studies, J. Agric. Food Chem., 34, 355(1986)
24. Kobayashi, S., Koga, K., Hayashida, O., Nakano, Y. and Hasegawa, Y.: Inhibitory effects of maillard reaction products on glucosyltransferase of Streptococcus mutans, Agric. Biol. Chem., 52, 3169(1988)

(1989년 3월 13일 접수)