

방사선 조사 인삼의 성분변화에 관한 분석

한병훈* · 한용남 · 류재하¹ · 김용철 · 강영화 · 권중호² · 진 강³

서울대학교 천연물과학연구소, ¹숙명여자대학교 약학대학, ²한국 원자력연구소, ³국립 보건안전연구원
(1995년 6월 25일 접수)

Component Profile Analysis of Irradiated Korean White Ginseng Powder

Byung Hoon Han, Yong Nam Han, Jae-Ha Ryu¹, Yong Chul Kim, Young Hwa Kang,
Jung-Ho Kwon² and Kang Chin³

Natural Products Research Institute, Seoul National University, ¹College of Pharmacy,

Sookmyung Women's University, ²Korea Atomic Energy Research Institute,

³National Institute of Safety Research

(Received June 25, 1995)

Abstract□Currently, some food materials are disinfected by γ -irradiation (using Co-60) or ethylene oxide treatment. These treatments were applied to ginseng powder and the ginseng components such as ginsenosides, polyacetylenes and phenolic acids were analyzed by HPLC to determine any compositional changes due to irradiation. No appreciable difference was observed in the HPLC pattern of ginsenosides, polyacetylenes of ginseng powder after 10 kGy irradiation or ethylene oxide treatment (EO : CO₂ = 3 : 7, w/w%) from those of untreated fresh ginseng powder when they were analyzed soon after treatments. When the ginseng powders were stored at room temperature for three years after the same treatment, the HPLC patterns of polyacetylenes and phenolic acid fraction showed appreciable change from those of fresh ginseng powder, however, the HPLC patterns of three year old samples did not show any appreciable difference.

Key words□ γ -irradiation, ethylene oxide, HPLC pattern, ginsenosides, polyacetylenes, phenolic acid.

서 론

식품의 살균과 장기 보존을 위해 사용되고 있는 ethylene oxide를 사용한 화학약품 처리법을 개선하기 위해 방사선 조사법이 일부 식품에 실용화되고 있다. 약품의 경우 오염도가 높은 효소제제, 동물성 생약인 우황 등에 대해 타당성 조사가 선진국에서 실시되고 있다.

인삼분말 제품의 경우 장기 보존법으로 ethylene

oxide 훈증처리법이 사용되어 왔으나, 최근 식품첨가물 규격 기준의 개정에 따라 이 보존법의 이용이 제한되고 있다.¹⁾ 따라서, 이를 대체할 수 있는 살균, 보존법으로서 방사선 조사 살균법²⁾을 이용할 경우 그 안정성 및 성분의 보존성에 관한 연구가 절실하게 요망되므로 본 연구에서는 방사선 조사 인삼, 무처리 및 ethylene oxide 처리 인삼에 대하여 현재까지 보고된 인삼의 생리활성 성분들인 인삼사포닌 (ginsenoside), 페놀성 화합물, 폴리아세틸렌 화합물등의 변화 여부를 처리 직후 및 처리 후 3년간 보존한 시료를 대상으로 비교 검토하였다.

*To whom correspondence should be addressed.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에서는 백삼분말은 1989년도 금산산 4년근 수蓼를 자연 건조한 후 분쇄하여 70~80 mesh 이하의 분말로 한 것을 사용하였다. 백삼분말의 방사선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 Co-60 감마선원을 이용하여 10 kGy의 총 흡수선량을 조사하였으며, 이때 흡수선량의 확인은 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였다.

백삼분말의 ethylene oxide(EO) 훈증처리는 국내에서 가장 많이 이용되는 처리조건 하에서 실시하였다. 즉 gas 혼합비는 EO : CO₂ = 3 : 7(w/w%), 온도 55 °C, 상대습도 40~50%, 압력 0.8 kg/cm², 가스밀도 1.77 kg/m³의 chamber 내에서 10시간 살균처리후 탈기하였으며, 본 조건은 국내에서 식품에 활용되고 있는 상업적 조건으로서, EO처리를 위해 개봉하였던 포장 은 무균실내에서 다시 밀봉하였다.

2. HPLC 분석용 시료의 조제

무처리 백삼, EO처리 백삼, 방사선 조사 백삼 및 신선한 백삼(3년 보존 시료의 분석시) 각각 300 g을 분말로 하여 n-헥산 1l를 가하고 밀봉하여 암소에서 일주일간 냉침 후 여과한 여액과 또한 이중 일부를 취해 5%-NaOH 수용액으로 세척하고 물로 3회 세척하여 무수망초로 탈수한 n-헥산 용액을 폴리아세틸렌 성분의 HPLC pattern 분석시료로 하였다. n-헥산 추출 후 남은 잔사를 메탄올 1l씩 2회 3시간씩 환류 냉각하여 메탄올 추출물을 얻고 이를 물에 분산시킨 후 에테르 300 ml씩 3회 추출하였다. 에테르 분획을 1 N NaOH로 추출한 다음 물 분획을 1 N HCl로 중화 후 에테르 추출하여 산성 분획을 얻어 지용성 페놀 성분의 분석 시료로 하였다.

에테르 추출후 남은 물층을 n-부탄올 300 ml씩 3회 추출하고 농축하여 BuOH분획을 얻고 이를 사포닌 분석시료로 하였다.

최초 시료 분석 후, 3년간 보존한 시료의 분석은 좀더 양호한 분석 조건을 이용하였다.

3. 인삼의 사포닌 성분의 분석

BuOH 분획 10 mg씩을 메탄올 2 ml에 녹인 후 0.45 µm pore size FH membrane filter로 여과하여 HPLC에 적용하였다. 각 ginsenoside들의 peak는 본 실험실에서 확보하고 있는 표준품과 비교하여 동정

하였다.

<HPLC 분석조건(최초시료)>

- Column : Cosmosil RP-18(Nacalai tesque, 5 µm particle size, 4.6 mm×150 mm)
- Solvent : ① Ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rf acetonitrile-water(30 : 70, v/v), flow rate 2 ml/min
- ② Ginsenoside-Re, Rg₁, acetonitrile-water(20 : 80, v/v), flow rate 1.5 ml/min
- Injection volume : 10 µl
- Detector : 203 nm UV, 0.2 AUFS
- Chart speed : 0.5 cm/min

<HPLC 분석조건(3년 보존 후의 시료)>

- Column : Spheri-5 RP-18(Spectra-Physics, 5 µm particle size, 4.6 mm×220 mm)
- Solvent : acetonitrile-water (40 : 60, v/v), flow rate 2 ml/min
- Injection volume : 10 µl
- Detector : 203 nm UV, 0.2 AUFS
- Chart speed : 0.5 cm/min

4. 인삼의 폴리 아세틸렌 성분 분석

n-Hexane 가용분획 및 이들의 5% NaOH 수용액 세척후의 n-hexane 분획을 0.45 µm pore size FH membrane filter로 여과하여 HPLC pattern 분석으로 이들 상호간의 성분을 비교하였다.

<HPLC 분석조건(최초시료)>

- Colum : Silica gel(LiChrosorb Si-60, 10 µm particle size, 4×250 mm)
- Solvent : n-hexane/ether(20 : 7, v/v), flow rate : 1 ml/min
- Injection volume : 50 µl
- Detector : 254 nm UV, 0.4 AUFS
- Chart speed : 0.5 cm/min

<HPLC 분석조건(3년 보존 후의 시료)>

- Column : RSIL Silica(Alltech, 5 µm particle size, 4.6×250 mm).
- Solvent : n-hexane/EtOAc(95 : 5, v/v), flow rate : 1 ml/min
- Injection volume : 50 µl
- Detector : UV 254 nm, 0.02 AUFS
- Chart speed : 0.5 cm/min

5. 인삼의 페놀 성분(에테르 가용성 산성분획)의 분석

Ether 가용성 산성분획 10 mg을 취하여 무수망초를 가하여 탈수한 다음 농축하고 MeOH 1 ml에 녹인 후 0.45 μ m pore size FH membrane filter로 여과하여 페놀성 화합물 성분을 HPLC로 분석하였다.

<HPLC 분석조건>

- Column : RSIL Silica(Alltech, 5 μ m particle size, 4.6 mm \times 250 mm).
- Solvent : n-hexane/EtOAc/AcOH(85 : 15 : 0.1, v/v), flow rate : 1 ml/min
- Injection volume : 10 μ l
- Detector : 254 nm, 0.05 AUFS
- Chart speed : 0.5 cm/min

결과 및 고찰

1. 인삼 사포닌 성분의 비교분석 결과

인삼의 사포닌 성분은 현재까지 29종이 분리, 보고되어 있으며,³⁾ 그 약리작용 또한 다양하게 알려지고 있는 인삼의 대표적인 유효성분이라고 할 수 있다. 본 연구실에서 분리한 인삼 사포닌 성분들 중 함량 및 그 효능면에서 추가되는 7종의 표준품을 지표로 하여 각 인삼 분말 시료의 사포닌 분획에서 방사선 조사에 의한 이들 성분의 변화정도를 비교 검토하였다.

무처리 백삼, 에틸렌 옥사이드 처리 및 방사선조사 백삼시료 각각으로부터 얻은 사포닌 분획의 HPLC 분석 결과는 모두 동일한 정성적 결과를 얻어 방사선 조사에 의해 예견되는 사포닌 성분상의 변화는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1, 2).

3년간 보존한 시료와 새로이 구입한 백삼으로부터 얻은 사포닌 분획의 HPLC chromatogram은 Fig. 3과 같다. 각 chromatogram의 피크들은 모두 동일한 정성적 패턴을 나타내었고 각 성분들의 상대적인 함량비를 비교해보면 신선한 백삼과 3년이 지난 무처리 백삼에 비해 에틸렌옥사이드 처리 및 방사선조사 백삼의 사포닌 분획에서 Re의 함량이 다른 사포닌 성분에 비해 약간 감소되었음을 관찰할 수 있었으나, 이는 시료의 제조 과정 중에 발생할 수 있는 오류 범위 안에 포함되는 정도의 미미한 차이로 생각된다. 따라서 3년의 시간적인 경과와 방사선 조사 및 에틸렌옥사이드 처리에 의해 사포닌 분획의 성분상 차이는

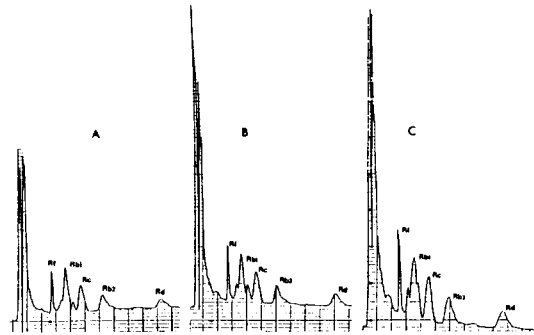


Fig. 1. HPLC chromatograms of saponin fractions A : untreated, B : radio-irradiated and C : ethylene oxide treated white ginseng (Ginsenoside -Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd and Rf) Column : Cosmosil RP-18 (5 μ m, 6 mm \times 150 mm); Solvent : acetonitrile-water (30 : 70, v/v), flow rate 2 ml/min; Detector : 203 nm UV, 0.2 AUFS

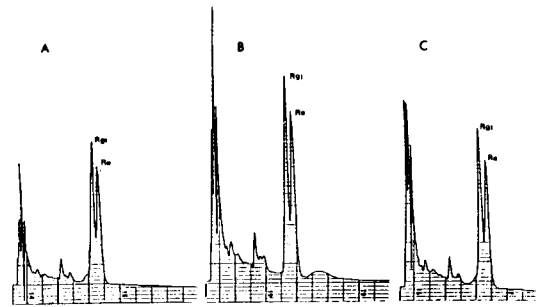


Fig. 2. HPLC chromatograms of saponin fractions from A : untreated, B : radio-irradiated and C : ethylene oxide treated white ginseng (Ginsenoside -Re and -Rg₁) Column : Cosmosil RP-18 (5 μ m, 6 mm \times 150 mm); Solvent : acetonitrile-water (20 : 80, v/v), flow rate 1.5 ml/min; Detector : 203 nm UV, 0.2 AUFS

없는 것으로 판단할 수 있다.

2. 인삼의 폴리아세틸렌 성분의 비교분석 결과

인삼의 폴리아세틸렌 성분은 항암작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며,^{4,5)} 공기 또는 빛에 의하여 쉽게 변화하는 물질이므로 표준품의 확보가 어렵다. 따라서 본 연구에서는 각 인삼분말 시료에 대하여 n-헥산 분획과 분석에 방해가 될 수 있는 산성 물질의 제거를 위해 이를 1N NaOH 용액으로 세척한 분획을 얻어 HPLC chromatogram 패턴의 변화를 비교 검토하였다.

각 시료의 n-헥산 분획 즉, 폴리아세틸렌 성분 함유

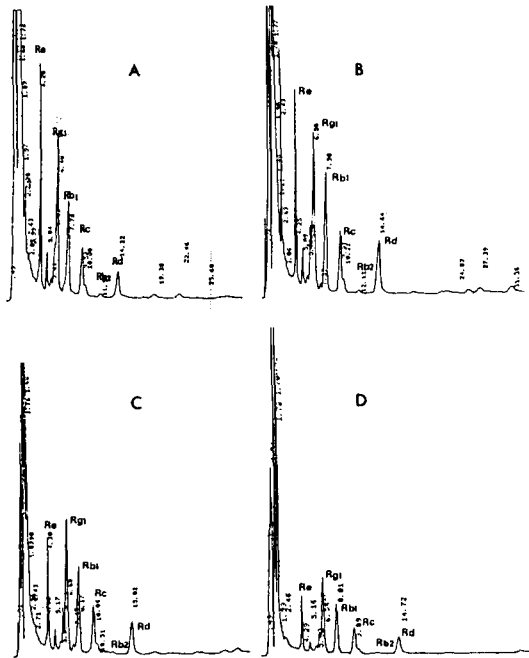


Fig. 3. HPLC chromatograms of saponin fractions from A : untreated fresh, B : untreated old, C : ethylene oxide treated and D : radio-irradiated white ginseng (B,C,D : 3 year old samples) Column : Spheri-5 RP-18 (5 μ m, 4.6 mm \times 220 mm); Solvent : acetonitrile-water (40 : 60, v/v), flow rate 2 ml/min; Detector : 203 nm UV, 0.2 AUFS

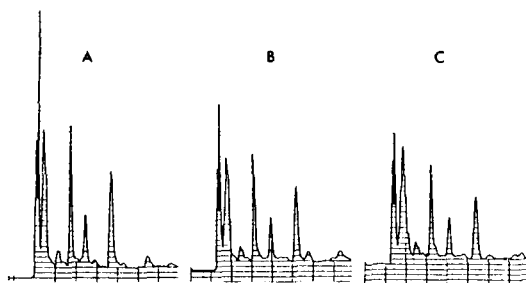


Fig. 4. HPLC chromatograms of polyacetylene fractions from A : untreated, B : radio-irradiated and C : ethylene oxide treated white ginseng Column : LiChrosorb Si-60, (10 μ m, 4 mm \times 250 mm); Solvent : n-hexane/ether (20 : 7, v/v), flow rate 1 ml/min; Detector : 254 nm UV, 0.4 AUFS

분획의 비교분석 결과, 모두 동일한 HPLC pattern을 나타내었다(Fig. 4). 3년이 경과한 후의 변화 여부를

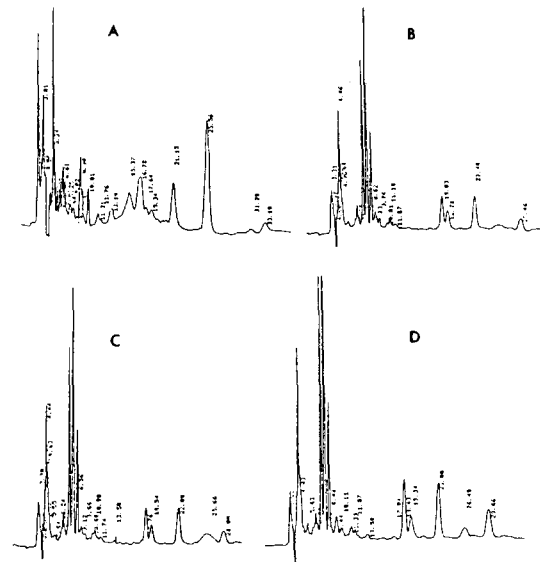


Fig. 5. HPLC chromatograms of polyacetylene fractions from A : untreated fresh, B : untreated old, C : ethylene oxide treated and D : radio-irradiated white ginseng (B,C,D : 3 year old samples) Column : RSIL Silica (5 μ m, particle size, 4.6 mm \times 250 mm); Solvent : n-hexane/EtOAc (95 : 5, v/v), flow rate 1 ml/min; Detector : UV 254 nm, 0.02 AUFS

검토하기 위해 재실험하여 얻은 HPLC chromatogram을 Fig. 5에 나타내었는데, 신선한 백삼과 다른 3가지 시료(3년이 지난 무처리 백삼, 에틸렌옥사이드 처리 및 방사선조사 백삼)의 HPLC pattern은 많은 차이를 보이고 있다. 즉, 16분대 이후의 피크가 오래된 3가지 시료의 경우 신선한 백삼시료에 비해 현저히 감소하고 그대신 6~8분대의 피크가 증가한 것을 알 수 있다. 따라서 6~8분대의 피크들은 폴리아세틸렌 성분의 분해 산물임을 추측할 수 있었다. 그러나 무처리 백삼, 에틸렌옥사이드 처리 및 방사선 조사 백삼 상호간에 성분이 특별히 더 분해되거나 변화한 점은 관찰되지 않는 것으로 보아 이러한 성분변화는 단순한 시간 경과에 의한 것으로 생각된다. 또한, 5%-NaOH 세척전(Fig. 5)과 후(Fig. 6)의 경우도 모두 동일한 HPLC pattern을 나타내었다.

3. Ether 가용성 페놀 성분의 비교분석 결과

인삼의 페놀성 성분들은 Han^{6, 12)} 등에 의하여 인삼의 향산화 유효성분으로 분리, 보고된 바 있으며, 본 연구실에서 확보하고 있는 3종의 표준품을 이용

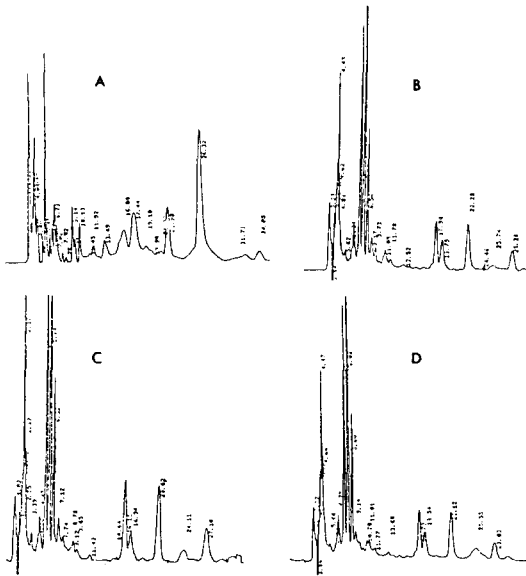


Fig. 6. HPLC chromatograms of polyacetylene fractions (after washing with 5% NaOH) from A : untreated fresh, B : untreated old, C : ethylene oxide treated and D : radio-irradiated white ginseng (B,C,D : 3 year old samples) Column : RSIL Silica (5 μ m, particle size, 4.6 mm \times 250 mm); Solvent : n-hexane/EtOAc (95 : 5, v/v), flow rate 1 ml/min; Detector : UV 254 nm, 0.02 AUFS

하여 각 인삼분말 시료의 성분변화를 비교하였다.

각 시료로부터 얻은 ether 분획의 HPLC 분석은 다른 주성분의 방해로 인해 미량의 페놀성 물질을 검출하지 못하였다. 따라서 산성인 페놀성 물질을 알카리 추출 후 중화하고 다시 ether 추출하여 ether 가용성 산성 분획을 제조함으로써 방해물질을 제거, 분석이 가능하였다. 표준품으로는 salicylic acid, ferulic acid, caffeic acid를 확보하여 시료의 HPLC 분석시 spike test를 통해 각 피크를 동정하였다.

표준품으로 사용된 3가지 화합물은 모든 시료에서 검출되었으나, 각 시료들의 HPLC chromatogram pattern은 차이가 있음이 관찰되었다(Fig. 7).

각 시료의 표준품 함량비를 검토해보면 신선한 백삼 시료에 비해 3년이 경과한 다른 3가지 시료들은 ferulic acid 및 caffeic acid의 함량이 상대적으로 감소되어 있음을 알 수 있다.

이는 ferulic acid와 caffeic acid의 aromatic ring과 conjugation하고 있는 vinyl carboxyl group이 변화

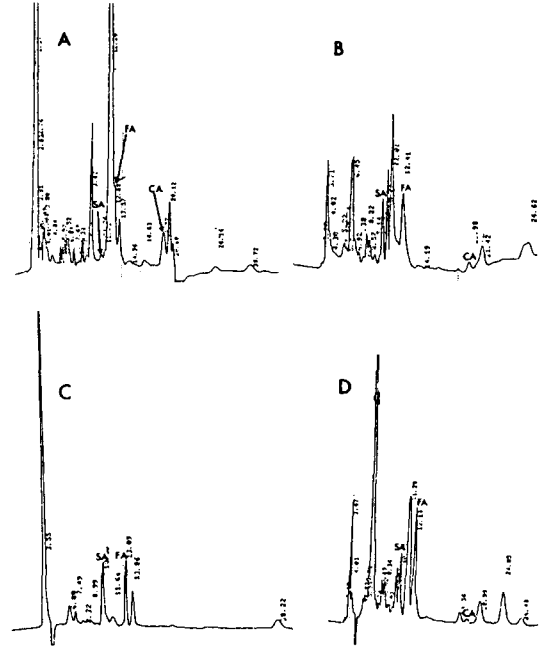


Fig. 7. HPLC chromatograms of ether soluble acidic fractions from A : untreated fresh, B : untreated old, C : ethylene oxide treated and D : radio-irradiated white ginseng (B,C,D : 3 year old samples); SA : salicylic acid; FA : ferulic acid; CA : caffeic acid; Column : RSIL Silica (5 μ m, particle size, 4.6 mm \times 250 mm); Solvent : n-hexane /EtOAc/AcOH (85 : 15 : 0.1, v/v), flow rate 1 ml/min; Detector : 254 nm, 0.05 AUFS.

하기 쉬운 구조이기 때문에 장시간 방치되는 동안 광반응 또는 공기와의 접촉에 의한 산화에 의해 변성된 것으로 추측이 된다.

한편, 3년이 경과한 무처리 백삼, 에틸렌옥사이드 처리 및 방사선 조사 백삼의 페놀성분을 비교해 볼 때, 방사선 조사 백삼의 페놀성분이 특별히 더 분해되거나 변화한 점은 관찰되지 않았다. 따라서 방사선 조사에 의해 페놀성분의 변화 측면에서는 큰 단점이 없음을 알 수 있었다.

또한, 신선한 백삼의 chromatogram 중 12분대의 major 피크가 다른 세가지 시료에서는 소실되고 그 대신 6.5분대에 새로운 피크가 나타난 것을 볼 때 또 다른 산성 물질의 변화도 일어난 것을 예측할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 인삼의 방사선 조사 살균, 보존법에 대한 안정성 연구의 일환으로, 인삼 성분의 보존성을 검토하였다. 분석 시료는 C₆₀-60 감마선원을 이용한 10 kGy의 총 흡수선량을 조사한 인삼, gas 혼합비 EO:CO₂=3:7(w/w%)의 ethylene oxide 처리 및 무처리 인삼으로 하였다.

인삼의 유효성분으로 밝혀진 성분 중에서 인삼사포닌(ginsenoside), 폴리아세틸렌, 에테르 가용성 페놀화합물 성분에 대해 HPLC에 의한 pattern 분석을 실시한 결과 방사선 조사 인삼, 에틸렌옥사이드 가스 처리 인삼, 무처리 인삼 상호간에 성분변화를 인정할 수 없었다.

그러나 수용성 페놀화합물의 경우 에틸렌옥사이드 처리 인삼 검체에서 약간의 성분변화를 인정할 수 있었고 방사선 조사 인삼 검체에서는 이 성분의 변화가 없었다.

감사의 말씀

본 논문의 내용은 과학기술처 특정연구사업 과제의 일부이며 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. 보건사회부 : 식품첨가물 규격기준 개정내용(1991. 5. 28).
2. IAEA : International Consultative Group on Food Irradiation, IAEA-TECDOC-639, February (1992).
3. Shoji, J. : *Recent Advances in Ginseng Studies*, Hirokawa Publishing Co., Japan, p.11 (1989).
4. Hwang, W. I. and Oh, S. K. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **8**, 153 (1984).
5. Lee, S. D. and Hwang W. I. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **15**, 106 (1991).
6. Han, B. H., Park, M. H., Woo, L. K., Woo, W. S. and Han, Y. N. : *Korean Biochem. J.*, **12**, 33 (1979).
7. Han, B. H. and Park, M. H. : *Korean J. Pharmacog.*, **9**, 169 (1978).
8. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. : *Arch. Pharm. Res.*, **4**, 53 (1981).
9. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N., and Shin, S. C. : *Yakhak Hoeji*, **28**, 232 (1984).
10. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. : *Korean Biochem. J.*, **18**, 337 (1985).
11. Han, B. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **15**, 74 (1991).
12. Han, B. H., Park, M. H., Han, Y. N. and Suh, D.-Y. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **16**, 328 (1992).