

## 백삼분말의 항산화 활성에 대한 감마선과 에틸렌옥사이드 처리의 영향

한용남 · 김선영 · 한병훈 · 권중호\*

서울대학교 천연물과학연구소, \*경북대학교 식품공학과  
(1995년 6월 25일 접수)

## Comparative Effects of Gamma Irradiation and Ethylene Oxide Fumigation on Antioxidant Activity of White Ginseng Powder

Yong Nam Han, Sun Young Kim, Byung Hoon Han and Joong Ho Kwon<sup>1</sup>

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

(Received June 25, 1995)

**Abstract**□The antioxidant activity and the pharmacologically active constituents such as nucleosides and phenolic substances of *Panax ginseng* C.A. Meyer (white ginseng powder) treated with gamma irradiation (RI group) and ethylene oxide fumigation (EO group) were compared with those of non-treated ginseng (control group). High performance liquid chromatograms of nucleosides in three groups were similar with each other. The bathochromic effect of phenolic substances at UV absorption region tends to be higher for EO group than RI group. This tendency was also observed in heat treatment of each group. However, the antioxidant activity may have some effects on the labile property of phenolic substances. In summary, the gamma-irradiated ginseng was more stable than the ethylene oxide-treated ginseng, but both ginseng samples gave the similar antioxidant activity.

**Key words**□*Panax ginseng* C.A. Meyer, gamma irradiated ginseng, lipid peroxidation, ginseng phenolic substances.

### 서 론

인삼제품을 포함한 건조식품의 살균법으로 ethylene oxide(EO)에 의한 gas 훈증법이 대부분 이용되었으나 최근에는 EO에 의한 살균효과의 불충분, 환경공해 등의 문제점이 지적되면서<sup>1)</sup> EO의 사용이 제한됨에 따라 새로운 살균법의 마련이 요구되고 있다.

최근 권 등<sup>2)</sup>과 한 등<sup>3)</sup>은 살균효과를 나타내기에 충분한 방사선 조사선량인 10 kGy를 고정시키고, 방사선 조사 효율을 높이기 위해 백삼을 분말로 만든 시료를 사용한 조건하에서 백삼의 성분에 대한 안정성 연구를 수행하였다. 그 결과 인삼사포닌, 조지방, 조

단백질, 전당 등은 방사선 조사와 EO처리에 대해 비교적 안정하였으나, 함황 아미노산, 환원당, 산도 등은 EO처리에 의해 유의적으로 변화되었음을 밝혔고,<sup>2)</sup> 또한 인삼사포닌, 폴리아세틸렌, ether 가용성 페놀화합물도 위의 2가지 방법의 처리에 의해 변화하지 않았음을 보고하였다.<sup>3)</sup>

본 연구에서는 인삼의 성분들 중에서 열처리에 의해 쉽게 변화하는 것으로 알려진 묽은 에탄올 가용성 페놀화합물이 방사선 조사와 EO처리에 의해 변화하는가를 조사하였고, 또한 이 성분이 나타내는 지질 과산화 억제작용 지표로 항산화활성을 조사하여 그 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 및 전처리

본 실험에 사용한 백삼분말은 1989년도 금산산 4년근 水蓼를 자연 건조한 후 분쇄하여 70~80 mesh 이하의 분말로 한 것이다. 백삼분말의 방사선 조사는 한국원자력연구소에 소개하는 Co-60 감마선원을 이용하여 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 이때 흡수선량의 확인은 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하였다.

백삼분말의 ethylene oxide(EO) 훈증처리는 국내에서 가장 많이 이용되는 처리조건 하에서 실시하였다. 즉 가스 혼합비는 EO : CO<sub>2</sub> = 3 : 7(w/w%), 온도 55°C, 상대습도 40~50%, 압력 0.8 kg/cm<sup>2</sup>, 가스밀도 1.77 kg/m<sup>3</sup>의 chamber 내에서 10시간 살균처리 후 탈기하였으며, 본 조건은 국내에서 식품에 활용되고 있는 상업적 조건으로서, EO처리를 위해 개봉하였던 포장은 무균실내에서 다시 밀봉하였다.

### 2. 백삼 추출원액의 제조

어떤 처리도 하지 않는 백삼분말(control군), ethylene oxide 처리한 백삼분말(EO군) 및 방사능 처리한 백삼분말(RI군)을 각각 20 g 취하여, 40%(V/V) 에탄올을 용매로 하여 실온에서 거름침출하여 제조하였다. 단, 침출기간은 3일간이었다. 침출액의 전량을 100 ml로 하여 이를 원액으로 하였다.

### 3. Ferulic acid의 함량분석<sup>4)</sup>

Ferulic acid 5 mg/10 ml의 40% 에탄올용액 및 백삼 추출원액을 각각 40% 에탄올로 20배 희석한 것을 각각 표준액 및 검액으로 하였다. 이들 시료 1 ml씩을 취하여 diazo화 sulphanilic acid로 발색하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 백삼 중의 페놀성 물질의 함량을 ferulic acid의 양으로 나타내었다.

### 4. 사포닌의 함량분석

Ginsenoside Re 5 mg/10 ml의 40% 에탄올 용액 및 백삼 추출원액을 각각 40% 에탄올로 44배 희석한 것을 각각 표준액 및 검액으로 하였다. 이들 시료 1 ml씩을 취하여 vanillin-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법으로 발색하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며 총 사포닌의 함량을 ginsenoside Re의 양으로 나타내었다.

### 5. 백삼 추출액의 UV흡수곡선 작성

백삼 추출원액을 40% 에탄올로 32배 희석한 액을 검액으로 하여 UV흡수곡선을 작성하였다. UV흡수차

(differential) 스펙트라는 비처리백삼군을 control로 하여 EO군, RI군에 대하여 얻었다.

### 6. 겔여과

백삼 추출원액을 3.75 ml 취하여 물로 희석하여, 12 ml로 조절된 액을 Sephadex G-25(superfine, 3.8×87 cm)에 통과시켜 겔여과하였다. 용매는 5% 에탄올로 하였고 용출액은 tube당 4 ml 받았다. 각 tube의 용액에 대하여 260 및 280 nm에서 UV흡광도를 측정하였고 1 ml씩 취하여 vanillin-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법으로 사포닌을 발색시키고 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 7. HPLC에 의한 UV흡수물질 Pattern 분석

백삼 추출액 중에 함유되어 있는 UV흡수물질의 pattern분석은 nucleoside HPLC 분석조건에 따라 아래와 같이 실시하였다. 백삼 추출원액을 40% 에탄올로 2배 희석하여 검액으로 하였다.

- Column : LiChrosorb NH<sub>2</sub>(10 μm, 1/4" OD×4.6 mm×250 mm)  
(E. Merck)
- Solvent : Acetonitrile/Water(80 : 20)
- Detection : 280 nm
- Range : 0.04 AUFS
- Flow rate : 1.0 ml/min
- Chart speed : 2 min/cm
- Injection volume : 20 μl
- Instrument : Waters

### 8. 열처리

백삼 추출원액을 각각 3 ml를 공정 시험관에 취하고 80°C에서 일정한 시간별(1, 5, 10, 24시간) 열처리 하였다. 열처리한 원액을 100 μl 취해 40% 에탄올로 32배 희석한 후 UV scanning을 실시하였다. 이때 blank로는 control 백삼 추출원액을 열처리하지 않고 그대로 32배 희석한 용액을 사용하였다. UV scanning을 실시한 후 280 및 320 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

### 9. 인삼의 지질과산화 억제작용 측정

지질과산화 억제작용을 아래 Scheme 1에 요약한 바와 같이 생쥐의 간마쇄액 0.3 ml와 검액 0.1 ml를 혼합하고 실온에서 incubate한 후 생성된 과산화지질을 TBA로 측정한 후, TBA값을 억제하는 작용으로 나타내었다.<sup>5)</sup>

Mouse liver (1 g)  
 ↓ homogenated with 9 ml saline under cooling  
 Homogenate 0.3 ml + Test soln or water 0.1 ml : or 0.04 mM FeCl<sub>3</sub> 0.1 ml  
 ↓ incubated at room temp.  
 ↓ added TBA reagent 3.7 ml/(0.3% 2-thiobarbituric acid + 0.4% sod. dodecyl sulfate in 7.5% acetate buffer, pH 4)  
 ↓ heated in a boiling water bath for one hr  
 Reaction mixture  
 ↓ extracted with n-BuOH(4 ml)  
 n-BuOH layer  
 ↓  
 Optical density at 532 nm  
 TBA value ≡ O.D. 0.1

Scheme 1. Measurement of TBA value.

결과 및 고찰

1. 백삼의 페놀화합물 및 뉴클레오사이드 성분의 비교분석

(1) 백삼 추출액의 UV흡수물질

무처리한 백삼분말(control군), ethylene oxide 가스처리한 백삼분말(EO군) 및 방사능 조사한 백삼분말(RI군)의 묽은 에탄올 침출액에 대한 페놀성화합물과 사포닌의 함량의 분석결과는 Table 1과 같다. 각 시료사이에 페놀성화합물과 사포닌의 함량에서 약간의 차이가 있는 것으로 보이지만 두가지 성분의 함량비가 각군에서 거의 일정한 것으로 보아 이러한 함량차이는 40% 에탄올로 추출할 때의 추출수율에 기인되는 것으로 생각된다.

Fig. 1에는 control군의 UV흡수곡선을 나타내었다. 278.5 nm에서의 흡수극대는 페놀성화합물, 266.5 nm에서의 흡수극대는 nucleoside에 기인된 것으로 생각된다.<sup>6)</sup> EO군 및 RI군에서도 control군과 유사한 흡수곡선을 얻었다. 이들 3가지 검액의 UV흡수 spectra에 대한 차 spectra를 얻은 결과를 Fig. 2에 나타내었다. RI군은 control군과 거의 차이가 없었지만 EO군은 control군에 비해 비교적 큰 차가 발견되었다. 이는 UV흡수물질이 방사능 조사에 의해 거의 변화를 받지 않는 반면에 ethylene oxide에 의해 변화를 받는다는 것을 시사하여 준다. 변화된 UV물질이 미변화된 물질로부터 분리될 수 있는지 겔여과와 HPLC로 살펴본 결과를 각각 Fig. 3과 4에 나타내었다.

Fig. 3은 Sephadex G-25에 의해 겔여과의 용출 pat-

Table 1. Phenolic substance and saponin contents of non-treated (control), ethylene oxide gas treated (EO) and radio-irradiated ginseng powder (RI)

Sample	Content in ginseng powder (%)		P/S ratio <sup>c</sup>
	Phenolic substance <sup>a</sup>	Saponin <sup>b</sup>	
Control	0.174 ± 0.001 <sup>d</sup>	8.236 ± 0.118	0.021
EO	0.194 ± 0.008	8.800 ± 0.070	0.022
RI	0.187 ± 0.005	8.588 ± 0.020	0.022

<sup>a</sup>Determined by diazotized sulphanilic acid, using ferulic acid as the standard compound.

<sup>b</sup>Determined by vanilline-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, utilizing ginsenoside Re as the standard compound.

<sup>c</sup>Ratio of phenolic substance to saponin by content.

<sup>d</sup>Results are given as mean ± S.D. from three determination.

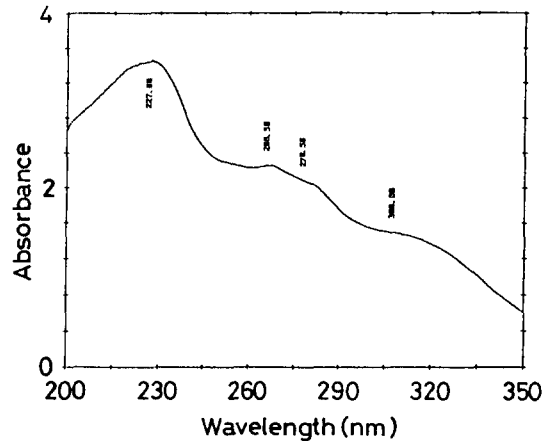


Fig. 1. UV spectrum of the extract of non-treated ginseng powder. Extract (100 ml) was prepared from the powder (20 g) by percolating with 40% (V/V) ethanol at room temperature for 3 days. UV spectrum was obtained after 32-fold dilution of the extract with the solvent.

tern을 보여 주는 것으로 고분자물질이 용출되는 영역에서는 3가지 검체 모두 특별한 peak가 검출되지 않는 반면에 인삼사포닌이 용출되는 peak(tube No. 170~174)의 바로 뒤에 용출되는 UV흡수 peak는 EO군의 경우 다른 2가지 검체와 약간의 차이가 있었다. 즉 280 nm에서의 흡수 peak는 3가지 검체 모두 tube no 178에서 나타나지만 260 nm에서의 흡수 peak는 control군과 RI군은 경우 모두 280 nm의 것과 일치하지만 EO군의 경우(Fig. 3B) tube No. 180에서

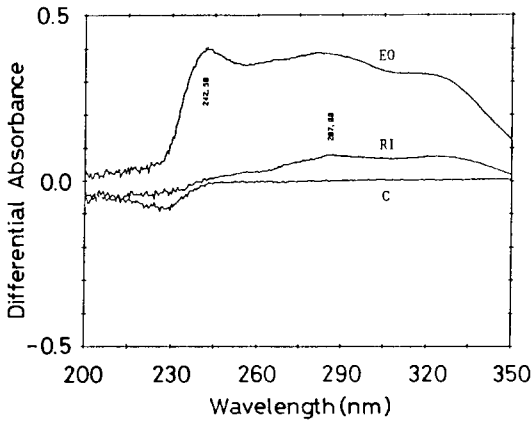


Fig. 2. Differential UV spectra. C : non-treated ginseng extract (control), EO : ethylene oxide-treated ginseng extract, RI : radio-irradiated ginseng extract.

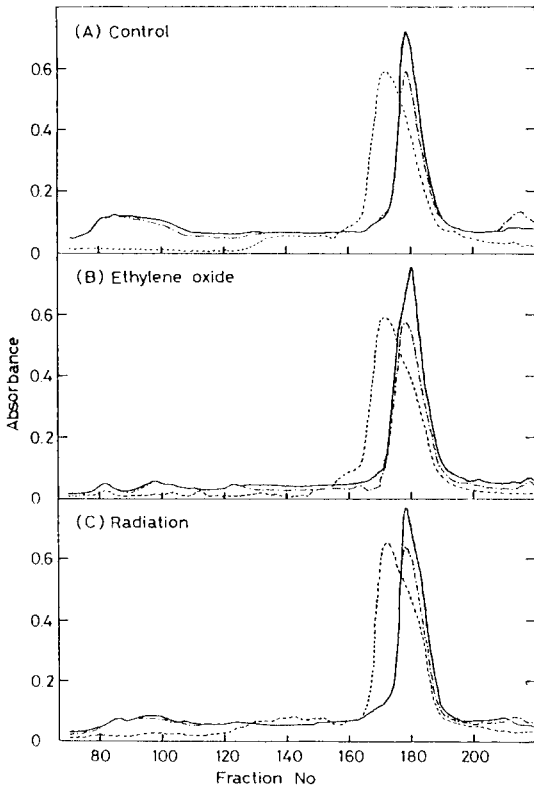


Fig. 3. Gel-filtration of the ginseng extracts on a Sephadex G-25 column, using 5% ethanol as eluting solvent.

나타났다. UV차 spectra에서(Fig. 2) EO군이 control군 및 RI군과 차이가 나타난 것이 겔여과의 결과에서도

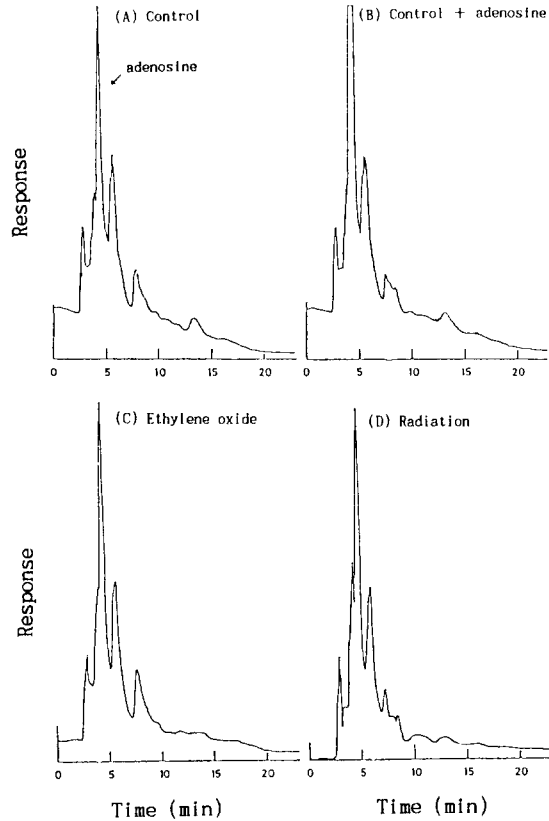


Fig. 4. HPLC chromatograms of nucleosides in ginseng extracts.

나타났다.

위의 겔여과 조건에서 표준품 adenosine은 fraction No. 360에서 용출되므로 fraction No. 178~180에서 용출되는 UV 흡수물질은 nucleoside에 기인된 것이 아니라 phenol성 화합물인 것으로 추정되며 ethylene oxide 처리로 약간 변하는 것으로 보인다.

Nucleoside가 분리되는 조건하에서 HPLC 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Adenosine은 4.4분에서 용출되며(Fig. 4B), 3가지 검체의 HPLC pattern은 거의 동일한 것으로 보아 nucleoside는 EO처리나 방사선 조사로 변화를 받지 않았다고 생각된다.

위의 여러 가지 결과로부터 묽은 에탄올로 추출되는 인삼의 성분 중에서 phenol성 성분이 ethylene oxide 처리에 의해 약간 변화될 수 있으나 방사선 조사에 의해서는 거의 변화되지 않음을 알 수 있었다. 그러나 phenol성 성분은 가열(인삼을 물로 달이는 조건)하여도 매우 쉽게 변하는 물질이므로 EO처리에 의해 일

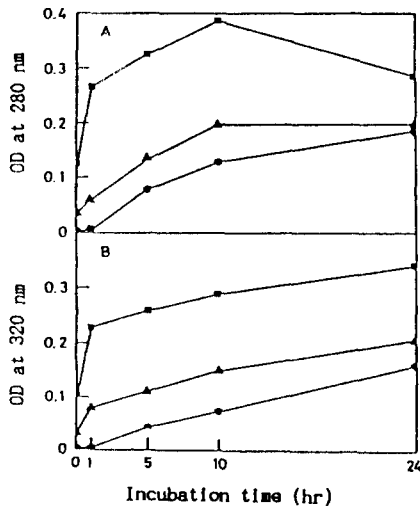


Fig. 5. Hyperchromic effects of phenolic substances by heat treatment. Each extract was treated in 40 % ethanol at 80°C for 1, 5, 10 and 24 hr. Increases in absorption intensity at 280 nm (A) and 320 nm (B) were observed in all three samples of ethylene oxide gas-treated (■), radio-irradiated (▲), and untreated (●) extracts of ginseng powder.

어난 약간의 변화가 인삼의 약효에 어떤 영향을 미칠지 현재로서는 알 수 없다. 다만 방사능 조사로 인하여 백삼분말 중의 페놀성 물질이 거의 변화하지

않는다는 것을 알게 되었다.

(2) 열처리에 의한 페놀성 성분변화

인삼추출액을 100°C에서 열처리하면 색깔이 짙어진다. 이는 갈변화 반응에 기인하는 것으로 알려져 있으며, 인삼 중에 함유된 아미노산과 환원당이 열에 의해 유색의 conjugate polymer 형성에 연유되는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서는 갈변화 반응을 억제하기 위해 80°C에서 열처리하였고 이때 UV흡수물질의 변화를 280 및 320 nm에서 관찰하여 Fig. 5에 나타내었다. 열처리에 의해 EO처리군은 RI처리군 보다 현저히 UV흡수물질이 변화됨을 알 수 있었다. 280 nm에서 UV흡수물질이 열처리 후 10시간 정도에 변화 극대를 나타내며 이때 EO군은 RI군 보다 2배 정도 UV흡수물질이 증가하였다. 한편 320 nm에서의 변화는 시간에 따라 계속 증가하였으며 역시 EO군이 RI군 보다 약 2배 더 생성하였다. RI군과 control군은 80°C에서 열처리 후 24시간에 거의 비슷한 정도로 UV흡수물질의 변화가 관찰되었다. 그러므로 EO처리군은 RI처리군 보다 UV흡수물질이 변화되기 쉬운 상태에 있음을 뜻한다고 사료된다.

2. 인삼의 지질과산화 억제작용 비교

항산화 활성은 antiradicalar agent, antilipoperoxi-

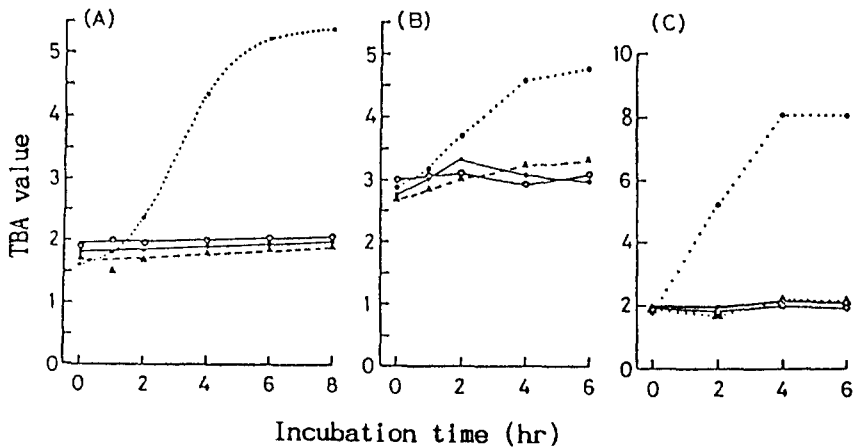


Fig. 6. Antioxidant activities of various white-ginseng powders during storage at room temperature and in polyethylene pail packaging after gamma irradiation and ethylene oxide fumigation. Storage period : (A), one month; (B), 20 months; (C), 32 months. The antioxidant activities were assessed by measuring the inhibition of lipid peroxidation in mouse liver homogenate in absence (A, B) and presence (C) of FeCl<sub>3</sub> after incubation with ginseng extract. The extract was prepared from the ginseng powder (1 g) by percolating with water (10 ml) at room temperature overnight. ● : gamma irradiated ginseng, ○ : ethylene oxide treated ginseng, ▲ : non-treated ginseng, ---- : control.

dant 및 antioxygen 등에 의해 발휘된다고 알려져 있다.<sup>7)</sup> 인삼의 항산화 활성 중에서 가장 대표적인 것이 antilipoperoxidant 활성이며 인삼의 케놀성화합물이 주된 작용성분으로 알려져 있다.<sup>6)</sup>

방사선 조사백삼(RI군), ethylene oxide 처리 인삼(EO군), 무처리 인삼(control군)에 대해 처리한지 1개월, 20개월, 32개월된 인삼에 대하여 생쥐 간마쇄액의 지질과산화 억제작용을 시간에 따라 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 방사선, EO 또는 무처리한 후 1개월된 검체는 Fig. 6A에 나타낸 바와 같이 각 인삼군별로 비슷한 정도로 항산화 활성을 나타내었으나, 처리후 20개월된 각 인삼군의 항산화 작용은 모두 약화되었으나, 약화된 정도는 각군 모두 비슷하였다(Fig. 6B). 처리한지 32개월된 각 인삼군은 항산화 활성이 각군 모두 매우 약화되어 항산화 활성을 측정하기 어려웠다. 그러므로 lipidperoxidation 측정시간마쇄액에 FeCl<sub>3</sub>를 첨가하여 지질과산화를 촉진시킨 후, 각 인삼군의 항산화 활성을 측정하여 Fig. 6C에 나타내었다. 그 결과 지질과산화 억제작용을 관찰할 수 있었으며 각 인삼군에서 모두 비슷한 항산화 활성이 관찰되었다. 인삼의 항산화 활성성분은 인삼시료가 오래되면 될수록 소실되지만 그 정도는 각 인삼군 모두 유사함을 알 수 있었다.

## 요 약

방사선 조사에 의한 살균법과 에틸렌옥사이드 가스에 의한 살균법으로 각각 처리한 백삼분말 및 무처리 백삼분말에 대해 방향족화합물의 성분 및 지질과산화 억제작용을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 뉴클레오사이드 성분은 위의 두가지 처리에

의해 변화하지 않았으며, 묽은 에탄올 가용성 페놀 화합물은 에틸렌옥사이드 가스처리에 의해서만 약간의 변화가 관찰되었으나 지질과산화 억제작용은 다른 처리군에 비해 별다른 차이를 찾아볼 수 없었다. 또한 살균한 후 20개월, 32개월된 각 처리군은 지질과산화 억제작용이 모두 약해졌으나 약해진 정도는 모두 비슷하였다.

## 감사의 말씀

본 연구의 내용은 과학기술처 특정연구사업 과제외 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

1. WHO : *Environmental Health Criteria*, p.55 (1985).
2. Kwon, J. H., Byun, M. W., Cho, H. O. and Han, B. H. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**(3), 278 (1994).
3. Han, B. H., Han, Y. N., Ryu, J. H., Kim, Y. C., Kang, Y. H., Kwon, J. H. and Chin, K. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **19**(2), 138 (1995).
4. Han, Y. N. and Han, B. H. : *Korean J. Ginseng Sci.*, **12**(1), 1 (1989).
5. Han, Y. N., Kwon, Y. K. and Han, B. H. : *Korean J. Pharmacogn.*, **12**(1), 26 (1981).
6. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. : *Arch. Pharm. Res.*, **8**(4), 257 (1985).
7. Pincemail, J., Deby, C., Lion, Y., Braguet, P., Hans, P., Drieu, K. and Goutier, R. : *Flavonoids and Bioflavonoids*, (Farkas, L., Gábor, M. and Kállay, F., eds), p. 423 (1985).