

고려홍삼의 수용성 갈변물질

이성계 · 이종원 · 도재호 · 심기환*
한국인삼연구소연구원, *경상대학교 식품공학과
(1995년 7월 29일 접수)

Water Soluble Browning Pigments of Korean Red Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer)

Seong-Kye Lee, Jong-Won Lee, Jae-Ho Do and Ki-Hwan Shim*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

*Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

(Received July 29, 1995)

Abstract □ Water-soluble browning pigments were partially purified from Korean red ginseng through the several procedures such as fractionation by n-butanol, precipitation by ethanol, dialysis and gel filtration. At least four kinds of water-soluble browning pigment were separated from each other, two kinds of low-molecular-weight and two kinds of high-molecular-weight pigments.

Key words □ Korean red ginseng, water soluble browning pigments.

서 론

식품의 갈변은 가공전, 후 또는 가공과정중에서도 일어나며 효소적 및 비효소적으로 반응이 진행된다.¹⁾ 일반적으로 효소에 의한 갈변화 반응은 polyphenol oxidase(catecholase)에 의해 산소 분자의 존재하에서 일어나는데 이 효소는 주로 복숭아^{2,3)}, 올리브⁴⁾, 감자⁵⁾ 및 버섯⁶⁾ 등 과일이나 채소류에 고농도로 존재하고 있으며 기질로서 tyrosine, *p*-cresol 및 catechol 등이 이용된다.⁷⁾ 수삼에 있어서 갈색화 반응은 최근에 저자 등⁸⁾이 가열초기에 polyphenol oxidase가 관여하는 효소적 갈변반응이 일부 진행되고 그 이후에는 비효소적 갈변화반응이 진행된다고 밝힌 바 있으며 수용성 갈변물질이 주된 생성물이라고 보고하였다. 한편, 홍삼의 갈변반응과 관련된 연구는 많이 이루어 졌지만⁹⁻¹⁵⁾, 갈변물질자체에 대해서는 거의 연구된 바 없다. 본 실험에서는 홍삼분말을 물로 추출한 뒤, 투석, 알콜침전, gel filtration 등의 방법에 의해 홍삼의 갈변 색소는 저분자, 고분자 갈변물질이 존재하고 있음을

밝혀 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 홍삼시료

홍삼의 갈변물질 분리 및 정제를 위한 시료로서 한국담배인삼공사에서 제조하여 판매하고 있는 홍삼(30지)을 구입하여 분쇄한 후(2 mm) 시료로 사용하였다.

2. 흡광도 측정

홍삼으로부터 갈변물질 분리 및 정제하는 과정중에 흡광도는 UV/visible spectrophotometer(Hewlett packard, 8452A, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 시료의 전처리

홍삼에 함유되어 있는 수용성 갈변물질을 분리하기 위하여 Fig. 1과 같은 방법으로 지용성물질 또는 사포닌계 화합물을 제거한 뒤 수용성 분획을 갈변물질 분리용 시료로 사용하였다.

4. Bio-Gel column chromatography

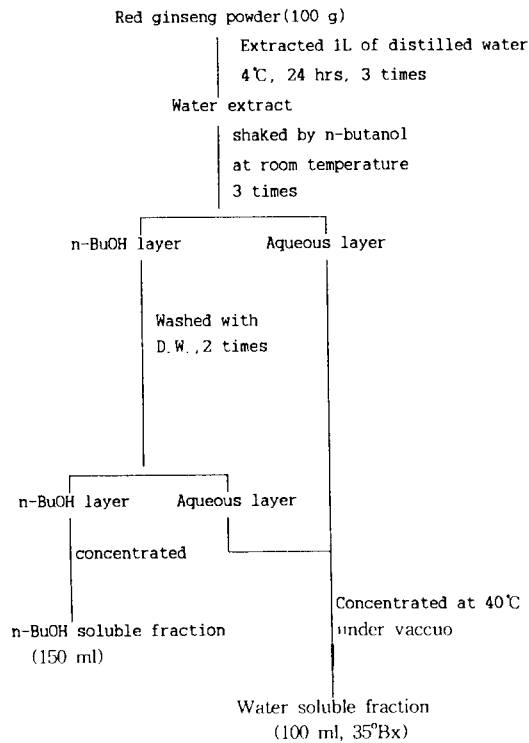


Fig. 1. Preparation of a water soluble fraction from red ginseng powder.

홍삼의 갈변물질을 분리하기 위하여 Fig. 1과 같은 방법으로 얻어진 수용성 분획을 Bio-Gel P-30을 충전시킨 glass column(1.2×75 cm)에 주입하여 유출액을 12 ml/hr의 유속으로 fraction collector로 분취하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저분자 및 고분자 갈변물질의 분리는 Fig. 1에서 얻어진 시료에 55% 에탄올을 처리하여 침전물을 제거한 후 dialysis membrane(Spectra MW cut-off 1,000)을 사용하여 투석 외액과 내액으로 나누어 분리하였다. 투석 외액의 갈변물질은 Bio-Gel P-2, 그리고 투석내액의 갈변물질은 Bio-Gel P-60을 사용하여 column chromatography하였다.

4. 환원당, 총당 및 Folin 양성물질량 측정

갈변물질을 분리하는 과정에서 환원당양은 dinitrosalicylic acid(DNS)방법¹⁶⁾, 총당양은 phenol-sulfuric acid방법¹⁷⁾, Folin 양성물질량은 Lowry 등¹⁸⁾의 방법에 따라 조사하였다.

결과 및 고찰

Table 1. Determination of browning pigments in the water-soluble and n-BuOH soluble fractions

| Fraction | Absorbance (420 nm) |
|----------------------|---------------------|
| Before fractionation | 1.72 (100.0) |
| Water soluble fr. | 1.64 (95.5) |
| n-BuOH soluble fr. | 0.08 (4.5) |

1. 물 및 n-butanol 추출물의 흡광도

Fig. 1의 방법에 의해 분리한 분획의 흡광도를 420 nm에서 측정된 결과(Table 1) 95%이상의 갈변물질이 수용성 분획에 존재하였고, 사포닌등이 함유된 n-BuOH층에는 5%이하의 갈변물질만 존재하여 사포닌 등이 다량 함유된 n-BuOH분획을 제거할 수 있었다.

2. 수용성 분획의 Bio-Gel P-30 column chromatography

(1) 분리특성

홍삼 수용성 분획을 Bio-Gel P-30 column chromatography한 결과는 Fig. 2와 같다. 갈변물질은 2개의 주된 peak로 분리되었으며, 분자량이 큰 갈변물질 분획에는 환원당함량이 적은 반면에 총당과 Folin 양성 물질량이 많았으나 분자량이 작은 갈변물질 분획에는 Folin 양성물질량이 많았으며 총당과 환원당 함량도 상당량 함유되어 있었다.

(2) 각 분획의 가열에 의한 갈변촉진 효과

Bio-Gel P-30 column chromatography에 의해 분리된 각 용출액을 Fig. 2에 표시한 바와 같이 5개의 분획(분획I~V)으로 나누어 100°C에서 20일 동안 갈색화 반응을 시키면서 경시적으로 갈변촉진 정도를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 갈변물질량이 적은 분획 IV가 다른 분획보다 갈변진행 정도가 매우 커서 20일 후에는 타 분획에 비해서 약 3~6배 촉진되었다. 이것은 환원당 및 Folin양성 물질량이 다른 분획보다 많이 존재하는 분획 IV가 홍삼의 갈변반응 촉진에 크게 관여하는 것을 알 수 있다.

3. 갈변물질의 분리

(1) 에탄올 처리에 의한 침전물 제거

n-BuOH처리후 얻은 수용성 분획에 에탄올을 40~90%가 되도록 가한 뒤 원심분리하여 각 에탄올 농도에서 녹은 부분과 침전되는 부분의 흡광도를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 에탄올 농도가 55%까지는 상등액과 침전물의 흡광도 변화가 거의 없었으나 그

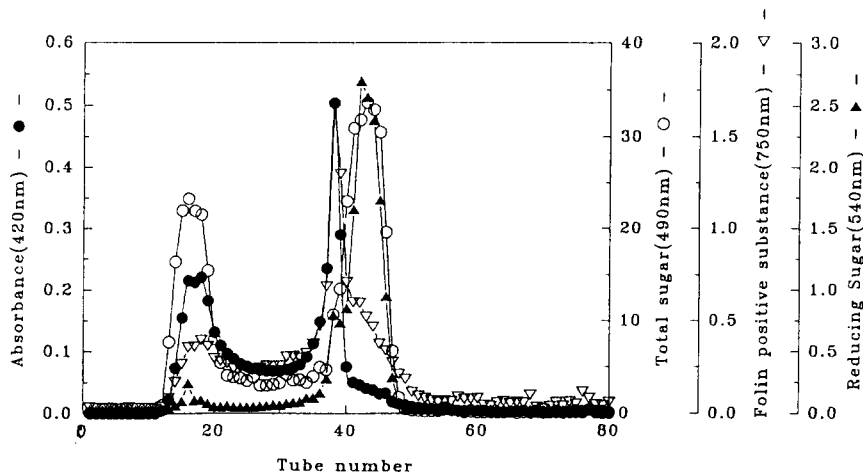


Fig. 2. Bio-Gel P-30 column chromatography of the water soluble fraction from red ginseng. The column (1.2×75 cm) was eluted with distilled water. Four ml per each tube was collected at a flow rate of 12 ml/hr.

이상의 농도에서는 상등액의 흡광도는 감소하고 침전물의 흡광도는 급격히 증가하였다. 따라서 갈변물질의 양에 영향을 미치지 않으면서 주로 고분자 물질로 추정되는 침전물의 제거를 위한 에탄올 처리 농도는 55% 정도가 적당한 것으로 판단된다. 그리고 55% 에탄올 가용성 및 불용성 물질의 양을 조사한 결과는 Table 3과 같이 갈변물질이 아닌 에탄올 침전물을 약 24% 정도 제거할 수 있었다.

(2) 투석

55% 에탄올 가용성 분획을 dialysis membrane (Spectra MW cut-off 1,000)을 사용해서 4°C에서 증류수를 갈아주면서 1일씩 3회 투석하여 투석 외액과 내액으로 나누어 400~600 nm까지 흡광도를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 분자량이 약 1,000이하로 추정되는 투석외액은 400~440 nm 범위에서 내액에 비해서 흡광도가 높게 나타나 황색을 많이 띠는 갈

변물질로 사료되며 520 nm 이상에서는 투석 내액이 외액보다 크게 나타나 외액보다 적색을 많이 띠는 갈변물질로 추정된다.

4. 저분자 갈변물질의 분리

(1) 투석외액의 Bio-Gel P-2 column chromatography

홍삼의 갈변물질중 저분자 물질에 속하는 갈변물질의 종류 및 분포를 조사하기 위하여 투석 외액을 Bio-Gel P-2 column chromatography한 결과(Fig. 4) 2개의 주된 peak가 나타나 투석 외액에는 적어도 2 종류이상의 저분자성 갈변물질이 존재한다는 것을 알 수 있다.

5. 고분자 갈변물질의 분리

(1) Amberlite CG-50 column chromatography

홍삼의 갈변물질중 고분자 갈변물질을 분리하기 위하여 투석 내액을 우선 Amberlite CG-50 column을 이용하여 NaCl 용액을 0~1.0 M 농도까지 gradient

Table 2. Browning effects of four fractions obtained by Bio Gel P-30 column chromatography

| Fraction* | Days (absorbance at 420 nm) | | | | | | |
|-----------|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 5 | 11 | 20 |
| Control** | 0.196 | 0.355 (181%) | 0.488 (249%) | 0.524 (267%) | 0.638 (326%) | 0.917 (468%) | 1.256 (641%) |
| I | 0.265 | 0.466 (176%) | 0.600 (226%) | 0.816 (307%) | 1.133 (427%) | 1.492 (563%) | 1.606 (606%) |
| II | 0.169 | 0.265 (157%) | 0.312 (185%) | 0.330 (195%) | 0.346 (204%) | 0.398 (236%) | 0.453 (268%) |
| III | 0.236 | 0.433 (183%) | 0.505 (214%) | 0.557 (236%) | 0.634 (269%) | 0.827 (350%) | 1.156 (490%) |
| IV | 0.080 | 0.212 (265%) | 0.275 (344%) | 0.366 (458%) | 0.509 (636%) | 0.820 (1025%) | 1.408 (1760%) |
| V | 0.019 | 0.036 (189%) | 0.039 (205%) | 0.035 (184%) | 0.041 (216%) | 0.035 (184%) | 0.043 (226%) |

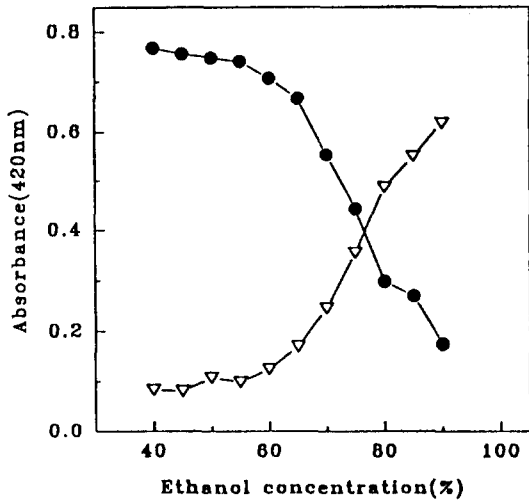


Fig. 3. Precipitation of browning pigments in the water-soluble fraction by ethanol. ● : soluble part; ▽ : insoluble part. *Absorbance at 420 nm of red ginseng water extract was 0.757.

Table 3. Amounts of soluble and insoluble parts after the treatment of water soluble fraction by 55 % ethanol

| Treatment by 55% ethanol | Amount (g) |
|--------------------------|-----------------------------|
| Before treatment | 18.90 (50 ml, 37°BX) (100%) |
| After treatment | |
| Soluble fr. | 13.74 (75.9%) |
| Insoluble fr. | 4.36 (24.1%) |

Table 4. Absorbances at various wave lengths of outer and inner parts after dialysis of the 55% ethanol soluble fraction against water

| Dialysis | Absorbance (nm) | | | | | |
|---------------------|-----------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | 400 | 420 | 440 | 520 | 540 | 600 |
| Outer part (DO fr.) | 17.861 | 11.453 | 8.055 | 1.855 | 1.313 | 0.494 |
| Inner part (DI fr.) | 9.165 | 6.938 | 5.490 | 2.045 | 1.591 | 0.767 |

chromatography를 행한 결과는 Fig. 5와 같다. Amberlite CG-50 column chromatography에 의해서 홍삼의 고분자 갈변물질(420 nm)은 비흡착 부분에 1개의 peak가 나타났으나 280 nm에서의 흡광도를 조사한 결과 저농도 NaCl 용액으로 유출시켰을 때 적은 양이

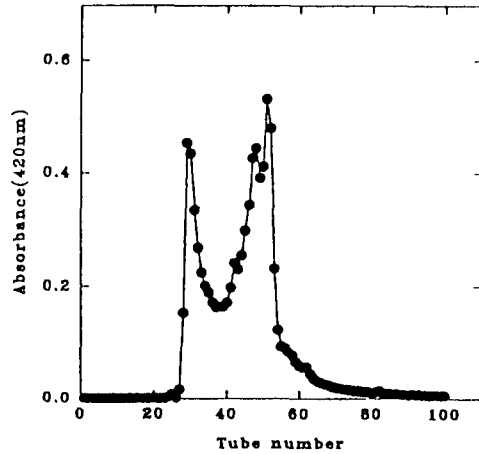


Fig. 4. Bio-Gel P-2 column chromatography of the dialysis-out fraction. The column (1.2×75 cm) was eluted with distilled water. 3.0 ml per tube was collected at a flow rate of 12 ml/hr.

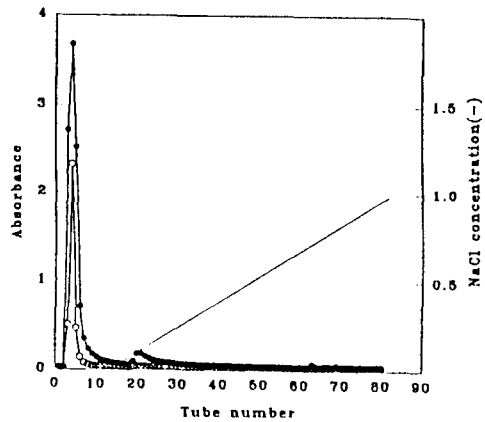


Fig. 5. Amberlite CG-50 column chromatography of the dialysis-inner fraction. The column (1.1×70 cm) was eluted by a linear gradient of sodium chloride concentration and 2 ml per tube was collected. ○ : 420 nm, ● : 280 nm.

유출되었다. 따라서 갈변물질이라고는 인정되지 않는 분획이면서 280 nm에서 흡광도를 나타내며 Amberlite CG-50 column에 흡착되는 부분을 제외한 고분자 갈변물질을 모아서 Bio-Gel P-60 column chromatography를 행하였다.

(2) Bio-Gel P-60 column chromatography

Amberlite CG-50 column chromatography에 의해서 흡착되지 않는 갈변물질을 모아서 다시 Bio-Gel P-60 column chromatography를 행한 뒤 420 nm, 280

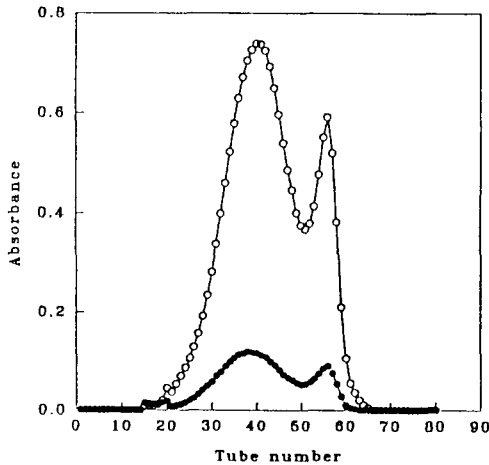


Fig. 6. Bio-Gel P-60 column chromatography of the non-adsorbed fraction on Amberlite CG-50 column. The column (1.2×83 cm) was eluted with distilled water. 2.0 ml per tube was collected at a flow rate of 14 ml/hr. ● : 420 nm, ○ : 280 nm.

nm에서 흡광도를 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. Fig. 6에 나타난 바와 같이 고분자 갈변물질에 속하는 갈변물질은 2개의 주된 peak만 나타나 적어도 2종류 이상의 갈변물질이 존재한다는 것을 알 수 있다. 따라서 지금까지의 결과를 살펴보면 홍삼의 갈변물질은 저분자 갈변물질(투석 외액)이 2종류, 고분자 갈변물질(투석 내액)이 2종류로 모두 4가지 종류의 갈변물질이 존재하고 있음을 알 수 있다. 현재까지 갈변물질은 항산화활성을 나타내어 식품첨가물로서 항산화제로 사용되며¹⁹⁾, carboxypeptidase A, aminopeptidase N 및 glucosyltransferase와^{20, 21)} 같은 효소의 활성을 저해한다는 연구보고도 있다. 앞으로 저자 등도 홍삼의 갈변물질을 순수, 분리 정제하여 갈변물질의 구조, 물리화학적 성질을 밝히고 또 갈변물질이 가지고 있는 활성에 대해서도 조사, 연구해 보고자 한다.

요 약

홍삼에 함유되어 있는 수용성 갈변물질을 물추출, n-butanol처리, 55% ethanol처리, 투석 및 gel chromatography등을 행하여 분리하였다. 고려홍삼의 수용성 물질은 2종류의 저분자 물질과 2종류의 고분자 갈변물질로 구분되어 적어도 4가지 종류의 갈변물질

로 구성되어 있었다.

인 용 문 헌

1. 김동훈 : 식품화학, 탐구당, 서울, p. 401 (1990).
2. Paulson, A. T., Vanderstoep, J. and Porritt, S. W. : *J. Food Sci.*, **45**, 341 (1980).
3. Luh, B. S. and Phithakpol, B. : *J. Food Sci.*, **37**, 264 (1972).
4. Sciancalepore, V. : *J. Food Sci.*, **50**, 1194 (1985).
5. Sapers, G. M., Douglas, Jr., F. W., Bilyk, A., Hsu, A. F., Dower, H. W., Garzarella, L. and Kozempel, M. : *J. Food Sci.*, **54**, 362 (1988).
6. McCord, J. D. and Kiara, A. : *J. Food Sci.*, **48**, 1479 (1983).
7. Reed, G. : *Enzymes in Food Processing*, Academic Press, Inc., New York, p. 236 (1975).
8. 이종원, 이성계, 도재호, 성현순 : 고려인삼학회지, 투고중.
9. 김동연 : 한국농화학회지, **16**, 60 (1973).
10. 김상달, 도재호, 오훈일 : 한국농화학회지, **24**, 161 (1981).
11. 최강주, 김동훈 : 고려인삼학회지, **5**, 106 (1981).
12. 박명환, 성현순, 이철호 : 고려인삼학회지, **5**, 129 (1981).
13. 최강주, 이광승, 고성룡, 김경희 : 한국생약학회지, **19**, 201 (1988).
14. 이광승, 최강주, 고성룡, 장진규, 양차범 : 고려인삼학회지, **12**, 121 (1988).
15. 도재호, 김경희, 장진규, 양재원, 이광승 : 한국식품과학회지, **21**, 480 (1989).
16. Clowick, S. P. and Kaplan, N. E. : *Methods in Enzymology*, Vol. 1, Academic Press, New York, p. 145 (1995).
17. Meloan, C. E. and Pomeranz, Y. : *Food Analysis Laboratory Experiments*, The Publishing Company, Inc., p. 85 (1973).
18. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : *J. Biol. Chem.*, p. 193, 265 (1951).
19. 食品化學新聞社 : 天然添加物と新食品素材, 上毛印刷(株), 東京, p. 26 (1988).
20. Oste, R. E., Dahlquist, A., Sjotrom, H., Noren, O. and Miller, R. : *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 355 (1986).
21. Kobayashi, S., Koga, K., Hayashida, O., Nakano, Y. and Hasegawa, Y. : *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 3169 (1988)