

## Cyclodextrin을 이용한 발효홍삼농축액 최적 포접 조건

신명곤<sup>1</sup> · 이규희<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>우송대학교 외식조리영양학부

<sup>2</sup>우송대학교 조리과학연구센터

### Optimization of Encapsulation Conditions for Fermented Red Ginseng Extracts by Using Cyclodextrin

Myung-Gon Shin<sup>1</sup> and Gyu-Hee Lee<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science & Biotechnology and <sup>2</sup>Culinary Science Research Center, Woosong University

**ABSTRACT** Fermented red ginseng concentrate is known as a healthy food source, whereas it has off-flavor such as bitterness and sour flavor based on fermentation.  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrin (CD) were used to encapsulate the off-flavor of fermented red ginseng concentrate by using response surface methodology design on  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD combination. The reducing effects were analyzed by sensory evaluation for bitter and sour tastes, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, and total acidity. The optimized mixing ratio of  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD for reducing bitterness was the least expected value of 2.07 at  $\beta$ -CD 3.74% versus the soluble solid content of fermented red ginseng concentrate and the  $\gamma$ -CD 20.63% mixture. The encapsulation effects of ginsenoside Rb<sub>1</sub> were the most expected value of 96.75% at  $\beta$ -CD 3.47% and  $\gamma$ -CD 19.89% mixture. The encapsulation effects of sour taste were the least expected value of 5.63 at  $\beta$ -CD 9.34% and  $\gamma$ -CD 9.96% mixture. The encapsulation effects of lactic acid were the most expected value of 67.73% at  $\beta$ -CD 16.0% and  $\gamma$ -CD 13.18% mixture. Based on encapsulation and each optimized combination, the most effective entrapping  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD combination ratio was  $\beta$ -CD 10% and  $\gamma$ -CD 13%.

**Key words:**  $\beta$ -cyclodextrin,  $\gamma$ -cyclodextrin, encapsulation, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, off-flavor

## 서 론

인삼(roots of *Panax ginseng* C.A. Meyer, Araliaceae)은 오래전부터 사용되고 있는 대표적인 약용식물이며(1), 현재 과학에 의해 인삼의 약리효능이 입증됨에 따라 의약품뿐만 아니라 건강식품, 화장품 등으로 그 사용도가 넓어지고 있다(2,3). 현재 가장 많이 사용되고 있는 인삼 가공품 중 홍삼은 4~6년근 수삼을 원료로 하여 장기간 보존을 목적으로 망상조직인 껍질을 벗기지 않은 상태에서 증기로 찌서 건조시킨 담황갈색 또는 담적갈색의 인삼으로, 증기로 찌서 건조시키는 동안 유효성분인 Rg<sub>3</sub>, Rg<sub>2</sub>, Rg<sub>5</sub>, Rh<sub>2</sub>, Rh<sub>4</sub> 등의 홍삼 특유성분이 생성된다고 알려져 있다(4). 현재까지 홍삼에서 발견된 ginsenoside의 종류는 약 30여 개이며, 홍삼 ginsenoside 중 가장 많은 배당체 형태는 ginsenosides Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, R<sub>d</sub>와 같이 protopanaxadiol-type saponins와 ginsenosides Re와 Rg<sub>1</sub>과 같이 protopanaxatriol-type saponins을 포함한 dammarane skeleton을 가진 ginsenosides가 총 ginsenoside의 80%를 차지하고 있다(5). 이러한 ginsenosides들이 갖는 생리활성으로는 anti-inflammatory activity(6)와 antitumor activity(7,8)가 있다. 그러나 이러한 주 ginsenosides는 구강 섭취 시 생리학적 이용도가 낮은 편으로 Rb<sub>1</sub>은 0.1~4.4%, Rb<sub>2</sub>는 3.7%, Rg<sub>1</sub>은 1.9~18.4%로 인체 내 섭취 이용도가 낮다고 보고된 바 있다(9,10). Ginsenoside에 결합되어 있는 당사슬은 생리학적 이용도에 매우 밀접한 관계를 가지고 있어 당사슬의 구조가 어떻게 구성되느냐에 따라 생리학적 이용도는 현저하게 달라지는 것으로 보고되고 있다(11-13). 이를 극복하기 위하여 인삼을 장내 환경과 같은 무산소 상태에서 장내 미생물을 이용하여 발효(fermentation)하는 과정을 거쳐 최종 대사산물의 성분으로 변환 혹은 증가시키는 발효홍삼 제조에 관한 연구 및 개발이 이루어지고 있다(14). 유산균, 효모, 고초균 등 우리에게 유익한 미생물을 이용한 발효기술의 진보로 천연물의 생리활성 효능이 증가된 발효산물을 얻거나 또는 상호 간의 상승 효과에 의해 생리활성 효능이 상승되는 제품들이 개발되고 있다(15). 그중 홍삼에 존재하는 자연 상태의 사포닌 성분인 진세노사이드 Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc 등은 체내로 직접 흡수되지 않고 Rh<sub>2</sub>, compound-K 등과 같은 최종대사물로 전환되어 흡수되는데, 발효홍삼은 이러한 생리학적 전

Received 4 August 2015; Accepted 30 September 2015

Corresponding authors: Gyu-Hee Lee, Department of Food Science & Biotechnology, Woosong University, Daejeon 34518, Korea  
E-mail: gyuhee@wsu.ac.kr, Phone: +82-42-630-9744

환을 사람의 장내 유익균인 유산균(*Bifidobacterium longum* H-1)을 이용해 장에서 신속하게 흡수되어 그동안 밝혀진 홍삼의 생리활성 성분들이 더욱 잘 흡수 발현될 수 있도록 한 것이다(16). 또한 발효홍삼은 진세노사이드의 함량이 더욱 증가된 우수한 항염, 항암, 항알레르기 효과를 가지고 있으며, 식후 혈당 증가를 저하시키는 효과를 보였고 또한 당뇨병 세포모델에서도 산화스트레스의 개선 효과를 보여 주었다(17). *Bifidobacterium* 속 유산균으로 발효시킨 발효홍삼에서 고지혈증 및 고혈당을 개선시키는 효과가 보고된 바 있다(18). 최근에 입으로 섭취된 ginsenosides는 인간의 장내 미생물에 의해 당 부분이 유리된(deglycosylate) ginsenoside 대사산물이 혈액(blood stream)에 좀 더 쉽게 흡수되어 활성을 갖는 물질로 더 잘 작용하는 것으로 보고된 바 있다(19-21).

사이클로 텍스트린(cyclodextrin, CD)은 글루코오스가  $\alpha$ -1,4 결합으로 연결된 고리형 구조로 글루코오스 잔기의 개수에 따라 6개( $\alpha$ -), 7개( $\beta$ -), 8개( $\gamma$ -)로 구분된다(22). CD는 구조적으로 절단된 고깔 모양으로 두 번째 -OH기의 2, 3번째 탄소에 결합된 수산화기(-OH)가 수소결합을 함으로써 내부 공동 내에 소수성의 성질을 띠고, 반대로 극성이 높은 수산화기에 의해 외부는 친수성의 성질을 갖는다(23). 이런 성질로 인해 CD는 소수성 물질과 포접화합물을 형성하여 소수성 물질의 용해도를 증가시키고 불안정한 물질의 안정성을 높일 수 있으며, 포접물질의 생체이용율을 높일 수 있는 매체로 알려져 있다(24). 또한 맛과 향을 나타내는 유기분자의 일부분 내지 전체를 공동 내에 포접함으로써 고미나 이취를 제거하는 데 사용할 수 있다. 특히  $\gamma$ -CD는 상온에서 용해도(30.0 g/100 mL)가  $\alpha$ -CD(16.0 g/100 mL)와  $\beta$ -CD(1.85 g/100 mL)에 비해 월등히 높고, 글루코오스에 둘러싸인 내부 공극이 8.3 Å으로  $\alpha$ -CD(5.3 Å)나  $\beta$ -CD(6.5 Å)에 비해 커서 식물 추출물의 불특정한 크기의 성분을 포접하는 데 효율적일 수 있다.

본 연구에서는 발효홍삼을 제조하는 과정 중 쓴맛 및 신맛이 증가되어 소비자의 기호성을 떨어뜨리므로 이를 개선하기 위해 내부 공동 내에 소수성의 성질을 띠고 외부는 친수성을 띠는 CD에 쓴맛과 신맛 등 이취를 포접시켜 관능평가와 ginsenoside 및 총산도를 분석하며, 최대 포접효율을 나타내는 CD의 농도를 결정하고 기호성이 증진된 발효홍삼농축액을 제조하는 방법을 최적화하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 재료

쓴맛과 이취의 포접을 위해  $\beta$ -CD(MW: 972) 및  $\gamma$ -CD(MW: 1,297)(Wacker Fine Chemicals, Adrian, MI, USA)를 사용하였다. 발효홍삼농축액은 성신비에스티(주)(Sungshin ST Co., Ltd., Chungnam, Korea)에서 구입하여 사용

하였다.

### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin을 이용한 발효홍삼농축액 포접

본 실험에 사용된 발효홍삼농축액의 고형분 함량은 60%였으며 ginsenoside Rb1 함량은 7.23 mg/g이었다. 발효홍삼농축액의 쓴맛과 신맛을 포접하기 위해 발효홍삼농축액의 고형분 함량이 35 w/v%가 되도록 희석하여 발효홍삼농축액 희석액에  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 첨가 비율을 다양한 조건으로 하고, 발효홍삼농축액의 쓴맛 및 신맛 감소 효과 최적 조건을 얻기 위하여 반응표면분석(response surface methodology, RSM) design을 이용하였다.  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 첨가 비율이 고형분 함량에 대해 최대 30%까지 첨가되기 때문에 30%가 되지 않는 처리구에서는 일반 dextrin(DE 20)을 활용하여 중량 %를 맞추었다. RSM design을 이용해 다양한 조건으로  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD를 뚜껑이 있는 250 mL 유리 bottle에 넣은 후 발효홍삼농축액과 물을 첨가한 다음 각각의 혼합물을 sonicator를 이용해 15분 동안 쓴맛 및 이취를 포접하였다. 발효홍삼농축액에  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD를 혼합하여 쓴맛을 제거하기 위한 최적화 작업은 반응표면분석법으로 중심합성계획법(central composite design)에 따라 설계하였으며 회귀변수는  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 혼합 농도로 설정하였다(Table 1). Table 1에서 %는 발효홍삼농축액 35 w/v% 용액의 고형분 함량에 대한 각각의 CD%를 의미한다.

### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin을 이용한 발효홍삼농축액 포접 효과 측정을 위한 관능평가

발효홍삼농축액의 쓴맛 및 이취를 감소시키기 위해  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD에 포접시켰을 때 관능특성의 평가는 정량묘사분석(quantitative descriptive analysis, QDA<sup>TM</sup>)을 이용하였다(25). 묘사분석에 참여한 관능요원은 경험이 있는 패널 요원 8명(남자 3, 여자 5)을 선발하여 용어 도출 및 정의, 표준시료의 결정, 그리고 표준시료를 이용하여 훈련하였다.

**Table 1.** Experimental design for bitterness encapsulation effects of fermented red ginseng concentrate encapsulated with various  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrin (CD) mixing combination

Run number	Coded value		Process variables	
	$\beta$ -CD (%) <sup>1)</sup>	$\gamma$ -CD (%)	$\beta$ -CD (%)	$\gamma$ -CD (%)
1	0	0	10	10
2	0	0	10	10
3	+ $\alpha$	0	20	10
4	+1	-1	15	5
5	0	0	10	10
6	0	+ $\alpha$	10	20
7	0	0	10	10
8	0	0	10	10
9	-1	-1	5	5
10	+1	+1	15	15
11	-1	+1	5	15
12	- $\alpha$	0	0	10

<sup>1)</sup>CD% versus the soluble solid contents of fermented red ginseng concentrates.

**Table 2.** Descriptors, definitions of descriptors, and standard reference for sensory descriptive analysis of fermented red ginseng encapsulated with various concentration of  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrin

Descriptors	Definition of descriptors	Reference	Standard points
Sour taste	Degree of sour taste from lactic acid	Sourness from 3% lactic acid solution	13
		Sourness from 1% lactic acid solution	3
Bitter taste	Degree of bitter taste from caffeine solution	Bitterness from 0.5% caffeine solution	12
		Bitterness from 0.3% caffeine solution	3

훈련은 세 session을 실시하였으며 각 session에 소요된 시간은 약 1시간 30분 정도이다. 관능특성 평가를 위해 도출된 용어 및 용어의 정의는 Table 2에 표시하였다. 묘사분석본 실험은 15 cm 선 척도법을 이용하였으며 평가 시 점수가 높을수록 강도는 높은 것으로 하였다. 각각의 시료는 난수표를 이용하여 무작위의 시료번호를 적은 종이컵에 5 mL씩 담아 상온에서 제공하였으며, 이때 각 시료 사이에 반드시 물로 입을 행구도록 하였다.

#### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 포접 효과 측정을 위한 유기산 정량

포접 효과 측정을 위한 유기산 정량은 고형분 함량 35 w/v% 발효홍삼농축액을 blank로 하고 각각의 시료에 CD 농도를 달리하여 제조한 시료용액 1 g씩을 취한 다음 100 mL 메스플라스크에 넣고 증류수로 정용한 후, 시료용액을 홀 피펫으로 삼각플라스크에 정확히 취하고 지시약(phenolphthalein)을 가하여 0.1 N-NaOH 용액으로 담홍색이 될 때까지 적정한다. 적정 후 발효홍삼농축액에 함유된 젓산 상당량 0.0090을 이용해 식품 중 유기산의 양(%)을 구하였다(26).

#### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 포접 효과 측정을 위한 ginsenoside 정량

발효홍삼농축액을  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD로 포접했을 때 ginsenoside의 포접 효과는 HPLC Agilent 1100 series(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하였다. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> 표준품은 Wako사(Osaka, Japan) 제품을 사용하였고, 이동상 용매로 사용된 acetonitrile, water, methanol은 HPLC급(Burdick & Jackson, Ulsan, Korea) 용매를 사용하였다. 시료에서 ginsenoside의 추출은 각각 처리구 시료 1 g을 정밀히 달아 25 mL 메스플라스크에 취해 완전히 용해시킨 후 물로 정용하고, membrane filter(0.45  $\mu$ m; Whatman, Piscataway, NJ, USA)로 여과하여 시험용액으로 하였다. Ginsenoside의 분리는 C<sub>18</sub> column(ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>, Analytical 4.6×250 mm 5-Micron, Agilent Technologies)을 이용하였으며, 주입 volume은 20  $\mu$ L, column 온도는 40°C, 검출기는 UV detector(203 nm)를 사용하였다. 이동상은 water와 acetonitrile(ACN)을 사용하였고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. 이동상 용매의 조성은 시작을 water 100%로 하고, 0~5분까지는 water 80% : ACN 20%, 5~35분까지는 water 80% : ACN 20%, 35~50분까지는 water 60% : ACN 40%, 50~60분까지는

water 80% : ACN 20%, 60~70분까지는 water 80% : ACN 20%로 설정하여 정량분석 실험을 수행하였다(27).

#### 통계처리

RSM 분석은 Minitab 프로그램(Minitab ver 14, Minitab Inc., State College, PA, USA) 중심합성법을 이용하여 최적화 조건을 도출하였고 도출된 조건에 따른 실험을 실시하여 얻어진 결과로 반응표면분석을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

#### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 혼합시료를 이용한 쓴맛 포접 효과 확인

쓴맛의 포접 효과는 숫자가 작을수록 높은 것을 의미하며  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 쓴맛 포접 효과는 Table 3에 나타내었고, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었으며 쓴맛 포접 효과에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup> 값은 0.9791로(Table 5) 반응표면분석에 높은 상관관계를 나타내는 것을 알 수 있었다( $P < 0.001$ ).  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD에 의한 쓴맛의 포접 효과에 대한 상관관계는 Table 6에 표시하였

**Table 3.** Sensory descriptive analysis results for encapsulation effects of fermented red ginseng concentrate encapsulated with various  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD mixing combination

Process variables	Taste (sensory evaluation score)		Encapsulation effect (%)		
	$\beta$ -CD (%)	$\gamma$ -CD (%)	Sour	Bitter	Lactic acid <sup>1)</sup>
10	10	5.6	3.4	66.4	90.2
10	10	5.5	3.4	63.7	89.9
20	10	5.1	4.8	66.7	77.0
15	5	6.3	5.2	61.7	81.8
10	10	5.6	3.4	63.7	90.2
10	20	5.4	2.7	67.7	84.6
10	10	5.6	3.4	66.4	91.0
10	10	5.5	3.4	63.7	92.0
5	5	5.4	7.1	50.1	37.7
15	15	4.8	3.0	58.6	78.2
5	15	6.4	2.8	49.4	90.7
0	10	6.2	5.1	49.6	43.9

<sup>1)</sup>Encapsulation effects (%)=[(acid contents in fermented red ginseng concentrate - acid contents after encapsulation) / acid contents in fermented red ginseng concentrate] × 100.

<sup>2)</sup>Encapsulation effects (%)=[(ginsenoside Rb1 contents in fermented red ginseng concentrate - ginsenosides contents after encapsulation) / ginsenoside Rb1 contents in fermented red ginseng concentrate] × 100.

**Table 4.** Polynomial equation calculated by RSM program for encapsulation effects of fermented red ginseng concentrate encapsulated with various  $\beta$ -CD and  $\gamma$ -CD mixing combination

Responses	The second order polynomial
Sour taste	$y=3.870+0.178 \times \beta\text{CD}+0.233 \times \gamma\text{CD}+0.001 \times \beta\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.025 \times \gamma\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.001 \times \gamma\text{CD} \times \gamma\text{CD}$
Bitter taste	$y=12.442-0.570 \times \beta\text{CD}-0.901 \times \gamma\text{CD}+0.155 \times \beta\text{CD} \times \beta\text{CD}+0.022 \times \gamma\text{CD} \times \beta\text{CD}+0.019 \times \gamma\text{CD} \times \gamma\text{CD}$
Encapsulation effects of lactic acid (%)	$y=21.831+2.554 \times \beta\text{CD}+3.862 \times \gamma\text{CD}-0.069 \times \beta\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.0240 \times \gamma\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.311 \times \gamma\text{CD} \times \gamma\text{CD}$
Encapsulation effects of ginsenoside Rb1 (%)	$y=-69.582+13.366 \times \beta\text{CD}+13.399 \times \gamma\text{CD}-0.303 \times \beta\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.565 \times \gamma\text{CD} \times \beta\text{CD}-0.312 \times \gamma\text{CD} \times \gamma\text{CD}$

**Table 5.** Predicted levels of optimum preparation conditions for encapsulation effects of fermented red ginseng concentrate encapsulated with various  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD mixing combination by the ridge analysis and superimposing of their response surfaces

Preparation conditions	Levels for the maximum response surfaces			
	Sensory evaluation score		Encapsulation effect (%)	
	Sour taste	Bitter taste	Lactic acid	Ginsenosides Rb1
$\beta$ -CD (%)	9.34	3.74	16.00	3.47
$\gamma$ -CD (%)	7.96	20.63	13.18	19.89
R <sup>2</sup>	0.9604	0.9791	0.7396	0.9942
Significance	<0.001	<0.001	0.049	<0.001
Morphology	Saddle point	Minimum	Maximum	Maximum
Predicted value	5.63 (min.)	2.07	67.73	96.75

**Table 6.** Regression analysis for regression model of variables in encapsulation condition

Responses	F-ratios	
	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Sour taste	54.51 (<0.001)	38.93 (<0.001)
Bitter taste	16.91 (<0.001)	102.58 (<0.001)
Encapsulation effects of lactic acid (%)	2.64 (0.131)	4.43 (0.0479)
Encapsulation effects of ginsenoside Rb1 (%)	210.02 (<0.001)	291.98 (<0.001)

고, 분석 결과  $\beta$ -CD( $P<0.001$ )와  $\gamma$ -CD( $P<0.001$ ) 둘 다 포접 효과가 있으며,  $\gamma$ -CD(F-ratio 102.58)가  $\beta$ -CD(F-ratio 16.91)보다 쓴맛 포접에는 더 효과가 높은 것을 알 수 있었다. 쓴맛의 반응표면 곡선은 Fig. 1(A)와 같으며, 분석 결과 예측된 정상점은 최저점으로(Table 5)  $\beta$ -CD가 3.74%이고  $\gamma$ -CD 20.63%일 때 쓴맛이 2.07로 최소값을 나타내었다. Yu(28)는 5~12%의 cyclodextrin은 인삼음료에서 쓴맛을 제거하는 데 효과가 있었다고 보고한 바 있으며, Lee 등(29)은 100 g의 인삼추출액에 1 g의  $\gamma$ -CD를 이용해 쓴맛을 제거하였다고 보고하였고, Tamamoto 등(30)은 0.09 g  $\gamma$ -CD가 0.52 g ginseng/100 mL 용액의 쓴맛과 쓴맛 후미를 줄이는 데 효과가 있었다고 보고한 바 있어 CD를 이용한 쓴맛의 제거 효과는 확실하며, 특히  $\gamma$ -CD가 쓴맛 제거에는 더 효과가 있는 것을 알 수 있어 본 연구의 결과와 유사함을 알 수 있었다.

### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 혼합시료를 이용한 ginsenoside Rb1 포접 효과 확인

$\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 ginsenoside Rb1 포접 효과는 Table 3에 나타내었고, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. Ginsenoside Rb1 포접 효과의 R<sup>2</sup> 값은 0.9942로(Table 5) ginsenoside Rb1이 반응표면분석과 높은 상관관계를 나타내는 것을 알 수 있었다( $P<0.001$ ). Ginsenoside Rb1의 포접 효과에 대한 상관관계를 분석한 결과는 Table 6에 표시하였고, 분석 결과  $\beta$ -CD( $P<0.001$ )와  $\gamma$ -CD( $P<0.001$ ) 둘 다 포접 효과가 있으며,  $\beta$ -CD(F-ratio 210.02)가  $\gamma$ -CD(F-ratio 291.98)보다 좀 더 ginsenoside Rb1 포접 효과가 높은 것을 알 수 있었다. Ginsenoside Rb1 포접 효과에 대한 반응표면 곡선은 Fig. 1(B)와 같으며, 예측된 정상점은(Table 5)  $\beta$ -CD가 3.47%이고  $\gamma$ -CD가 19.89%일 때 ginsenoside Rb1이 96.75%로 최대값을 나타내었다. 인삼용액에서 쓴맛을 최소화하기 위해서는 CD의 크기와 인삼의 쓴맛을 나타내는 분자의 특성에 영향을 받는다.  $\gamma$ -CD는 분자량이 1,296 g/mol이고 공극의 크기는 7.5~8.3 Å이며,  $\beta$ -CD는 분자량이 1,134 g/mol이고 공극의 크기는 6.0~6.5 Å이다(29). 어떤 성분이 CD에 포접되는 것은 성분의 크기, 극성, 형태 및 구조에 따라 달라지기는 하지만 ginsenoside가  $\beta$ -CD에 포접되기보다는 공극이 좀 더 큰  $\gamma$ -CD에 포접이 더 잘된다고 보고된 바 있다(30). 인삼 성분 중 기능성을 나타내며 쓴맛을 가지는 대표적인 성분인 ginsenosides Rg1은 분자량이 801.02 g/mol, Rb1은 분자량이 1,109.31 g/mol, Re는 분자량이

947.16 g/mol(30)로 Rb<sub>1</sub>의 분자가 가장 크다고 보고한 바 있다(30). 따라서 본 연구에서도 분자량이 큰 Rb<sub>1</sub>의 포접효율이 높으면 다른 작은 분자들의 포접효율도 높을 것으로 판단하여 Rb<sub>1</sub>의 포접효율을 확인하였다. 결과적으로  $\gamma$ -CD가 쓴맛과 홍삼 맛 등 비교적 분자량이 큰 성분을 포접한 것으로 판단되어 본 실험의 결과는 Tamamoto 등(30)과 Lee 등(31)의  $\gamma$ -CD가 글루코스에 둘러싸인 내부 공간이  $\alpha$ -CD나  $\beta$ -CD에 비해 커서 식물 추출물의 불특정 크기의 성분을 포접하는 데 효율적일 수 있다는 보고와 유사함을 알 수 있었다.

#### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 혼합시료를 이용한 신맛 포접 효과

신맛의 포접 효과는 숫자가 작을수록 포접 효과가 높은 것을 의미하며  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 신맛 포접 효과는 Table 3에 나타내었고, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 신맛 포접 효과의 R<sup>2</sup> 값은 0.9604로(Table 5) 신맛이 반응표면분석과 높은 상관관계를 나타내는 것을 알 수 있었다( $P < 0.001$ ). 신맛의 포접 효과에 대한 상관관계를 분석한 결과는 Table 6에 표시하였고, 분석 결과  $\beta$ -CD( $P < 0.001$ )와  $\gamma$ -CD( $P < 0.001$ ) 둘 다 포접 효과가 있으며,  $\beta$ -CD(F-ratio 54.51)가  $\gamma$ -CD(F-ratio 38.93)보다 좀 더 신맛 포접 효과가 높은 것을 알 수 있었다. 신맛 반응표면 곡선은 Fig. 1(C)와 같으며, 예측된 정상점은 안장점의 형태로 능선 분석한 결과(Table 5)  $\beta$ -CD가 9.34%이고  $\gamma$ -CD가 7.96%일 때 신맛이 5.63으로 최소값을 나타내었다. 본 실험의 결과에서 신맛은 반응표면분석에 상관성은 아주 높았으나, 신맛에 대한 기대되는 최소값이 비교

적 높아 포접효율이 아주 높을 것으로 기대하기는 어려웠다.

#### $\beta$ -, $\gamma$ -Cyclodextrin 혼합시료를 이용한 젓산 포접 효과 확인

$\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 젓산 포접 효과는 Table 3에 나타내었고, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 젓산 포접 효과의 R<sup>2</sup> 값은 0.7396으로(Table 5) 젓산 포접 효과가 반응표면분석과  $P < 0.05$ 에서 상관관계를 나타내는 것을 알 수 있었다. 젓산의 포접 효과에 대한 상관관계를 분석한 결과는 Table 6에 표시하였으며, 분석 결과  $\beta$ -CD는 젓산의 포접 효과가 거의 없음을 알 수 있었고,  $\gamma$ -CD는  $P < 0.05$ (F-ratio 4.43)에서 유의성을 나타내어 젓산은  $\gamma$ -CD가 포접효율이 높은 것을 알 수 있었다. 젓산 포접 효과에 대한 반응표면 곡선은 Fig. 1(D)와 같으며, 예측된 정상점은(Table 5)  $\beta$ -CD가 16.00%이고  $\gamma$ -CD가 13.18%일 때 젓산의 포접효율이 67.73%로 최대값을 나타내었다.

신맛과 젓산의 포접 효과에 대한 경향은 쓴맛과 ginsenoside Rb<sub>1</sub>의 포접 효과가 유사한 경향을 나타낸 것과는 다른 결과를 나타내었다. 따라서 신맛과 유기산에 대한 cyclodextrin에 대한 효과는 좀 더 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

#### 발효홍삼농축액의 이미 포접 최적 조건 선정

본 실험에서  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 함량을 달리하여 발효홍삼농축액의 이미지를 줄이기 위한 최적 조건을 찾고자 하였다. Fig. 1에서 유의성이 있다고 판단되는 종속변수들의 con-

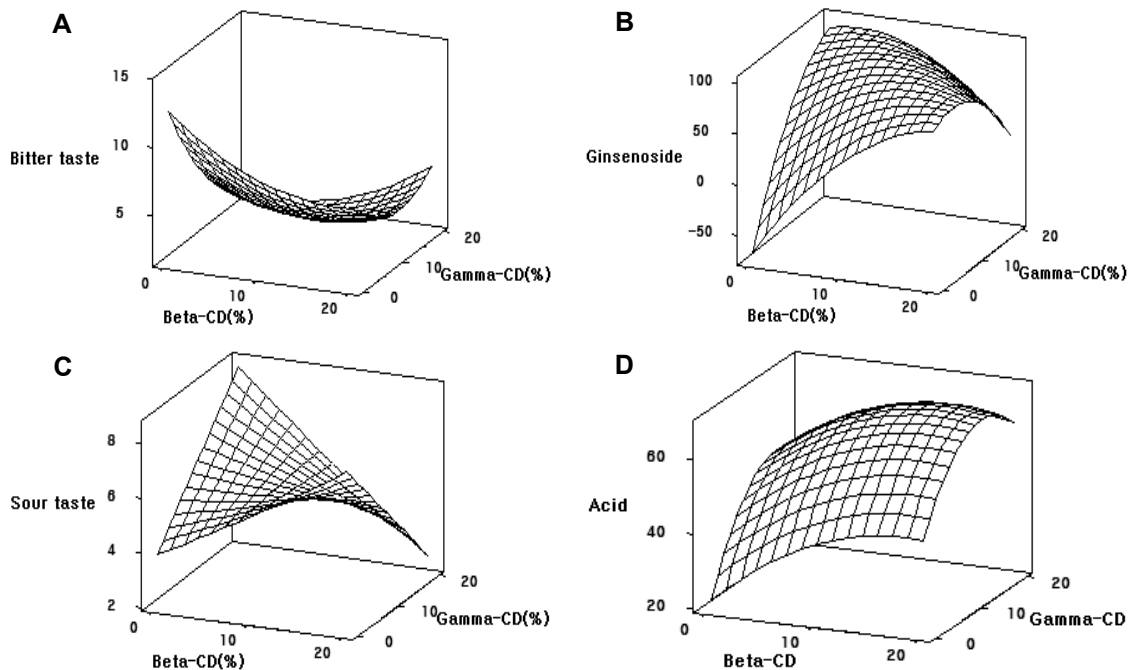


Fig. 1. Contour maps for the encapsulation effects on the bitter taste (A), ginsenoside (B), sour taste (C), and acid value (D).

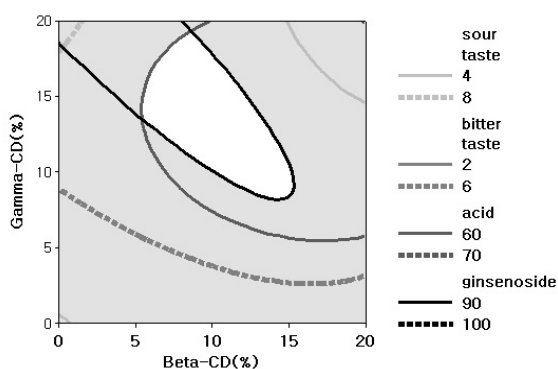


Fig. 2. Imposed contour plots of multiple variables versus  $\beta$ -CD and  $\gamma$ -CD addition amount.

Table 7. Optimum operation conditions for maximum responses of sour taste, bitter taste, lactic acid encapsulation, and ginsenoside encapsulation effects by superimposing their contour map

Operation conditions	Range of optimum condition	Optimum condition
$\beta$ -CD	5~15%	10%
$\gamma$ -CD	8~18%	13%

tour map을 중첩시켜 구한 최적 포접 효과 범위를 나타내었다. 신맛의 포접 정도는 4~8, 쓴맛 포접 정도는 2~6, 산의 포접 정도는 60~70%, ginsenoside 포접 정도는 90~100%로 하는 제한 조건을 만족하는 영역이  $\beta$ -CD 5~15%,  $\gamma$ -CD 8~18%인 것으로 나타났다(Fig. 2). 따라서 발효홍삼농축액의 이미를 포접하는  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 첨가량은  $\beta$ -CD 10%이고  $\gamma$ -CD 13%일 때 최적임을 알 수 있었다(Table 7). Lee 등(31)은 인삼추출액을 냉동 건조시킨 분말 100 g에  $\gamma$ -CD를 분말의 5, 10, 15, 20% 이용하여 ginsenoside와 쓴맛을 평가한 결과  $\gamma$ -CD의 함량이 증가할수록 ginsenoside와 쓴맛의 포접 효과는 높았다고 보고하였으나 기호도 측정에서 홍삼제품의 경우 홍삼의 맛이나 냄새가 있는 것을 좋아하였으므로 10%  $\gamma$ -CD를 이용하여 포접하였을 때 78%의 포접 효과가 있다고 하였는데, 본 실험에서도  $\gamma$ -CD를 13%로 하였을 때 약 90% 이상의 쓴맛을 감소시킬 수 있다고 해석할 수 있기 때문에 이들의 결과와 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있다.

## 요 약

생리활성이 우수한 발효홍삼농축액 특유의 쓴맛과 발효과정 중 생성된 신맛 등의 이미를 개선하기 위해  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyclodextrin(CD) 혼합시료를 이용하여 이미를 포접시켜 관능평가와 ginsenoside Rb<sub>1</sub> 및 총산도를 분석하고 최대 포접효율을 나타내는  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 혼합시료의 농도를 반응표면분석 중심합성법으로 계획하여 기호성이 증진된 발효홍삼농축액을 제조하는 최적화 조건을 확인하였다.  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 쓴맛 포접 효과를 확인한 결과 예측된 정상점은

최저점으로  $\beta$ -CD가 3.74%이고  $\gamma$ -CD 20.63%일 때 쓴맛이 2.07로 최소값을 나타내었다. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> 포접 효과를 확인한 결과 예측된 정상점은 최대값으로 분석한 결과  $\beta$ -CD가 3.47%이고  $\gamma$ -CD가 19.89%일 때 ginsenoside Rb<sub>1</sub>이 96.75%로 최대값을 나타내었다.  $\beta$ -,  $\gamma$ -CD 혼합시료를 이용한 신맛 포접 효과는  $\beta$ -CD가 9.34%이고  $\gamma$ -CD 7.96%일 때 신맛이 5.63으로 최소값을 나타내었다. 젓산의 포접 효과는  $\beta$ -CD가 16.00%이고  $\gamma$ -CD 13.18%일 때 젓산의 포접효율이 67.73%로 최대값을 나타내었다. 실험 결과를 중심으로 최적 조건을 중첩시켜  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 함량을 달리하여 발효홍삼농축액의 이미를 줄이기 위해서는 신맛의 포접 정도는 6, 쓴맛 포접 정도는 4, 산의 포접 정도는 65%, ginsenoside 포접 정도는 95%로 하는 조건을 만족하는 영역으로  $\beta$ -CD와  $\gamma$ -CD의 첨가량은  $\beta$ -CD가 10%이고  $\gamma$ -CD가 13%임을 알 수 있었다.

## REFERENCES

- Shibata S, Ando T, Tanaka O. 1996. Chemical studies on the oriental plant drugs. XVII. The prosapogenin of the ginseng saponins (ginsenosides-Rb1, -Rb2, and -Rc). *Chem Pharm Bull* 14: 1157-1161.
- Kim BG, Choi SY, Kim MR, Suh HJ, Park HJ. 2010. Changes of ginsenosides in Korean red ginseng (*Panax ginseng*) fermented by *Lactobacillus plantarum* M1. *Process Biochem* 45: 1319-1324.
- Lee YS, Im DH, Yang JC, Noh DS, Kim KI, Oh SK, Choi KC, Cha YH. 2011. Study on the qualitative discrimination of white, red, and black ginseng extract. *Korean J Food & Nutr* 24: 138-143.
- Kwak YS, Choi YG, Kwon HJ, Kim NM. 2009. Manufacturing method of red ginseng extract pills by centrifugal coating granulating system. *J Ginseng Res* 33: 229-233.
- Kim MW, Ko SR, Choi KJ, Kim SC. 1987. Distribution of saponin in various sections of *Panax ginseng* root and changes of its contents according to root age. *Korean J Ginseng Sci* 11: 10-16.
- Wu JY, Gardner BH, Murphy CI, Seals JR, Kensil CR, Recchia J, Beltz GA, Newman GW, Newman MJ. 1992. Saponin adjuvant enhancement of antigen-specific immune responses to an experimental HIV-1 vaccine. *J Immunol* 148: 1519-1525.
- Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, Sato K, Saiki I, Tono-oka S, Samukawa K, Azuma I. 1995. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng. *Biol Pharm Bull* 18: 1197-1202.
- Sato K, Mochizuki M, Saiki I, Yoo YC, Samukawa K, Azuma I. 1994. Inhibition of tumor angiogenesis and metastasis by a saponin of *Panax ginseng*, ginsenoside-Rb2. *Biol Pharm Bull* 17: 635-639.
- Hsu S. 2005. Green tea and the skin. *J Am Acad Dermatol* 52: 1049-1059.
- Kim SJ, Murthy HN, Hahna EJ, Lee HL, Paek KY. 2007. Parameters affecting the extraction of ginsenosides from the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Sep Purif Technol* 56: 401-406.
- Liu ZQ, Luo XY, Liu GZ, Chen YP, Wang ZC, Sun YX. 2003. In vitro study of the relationship between the structure

- of ginsenoside and its antioxidative or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes. *J Agric Food Chem* 51: 2555-2558.
12. Noh KH, Son JW, Kim HJ, Oh DK. 2009. Ginsenoside compound K production from ginseng root extract by a thermostable beta-glycosidase from *Sulfolobus solfataricus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 316-321.
  13. Popovich DG, Kitts DD. 2002. Structure-function relationship exists for ginsenosides in reducing cell proliferation and inducing apoptosis in the human leukemia (THP-1) cell line. *Arch Biochem Biophys* 406: 1-8.
  14. Kong BM, Park MJ, Min JW, Kim HB, Kim SH, Kim SY, Yang DC. 2008. Physico-chemical characteristics of white, fermented and red ginseng extracts. *J Ginseng Res* 32: 238-243.
  15. Jeon BS, Park JW, Kim BK, Kim HK, Jung TS, Hahm JR, Kim DR, Cho YS, Cha JY. 2005. Fermented mushroom milk-supplemented dietary fibre prevents the onset of obesity and hypertriglyceridaemia in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Diabetes Obes Metab* 7: 709-715.
  16. Park S, Kim DH, Paek NS, Kim SS. 2006. Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J Ginseng Res* 30: 88-94.
  17. Kim HO, Park MJ, Han JS. 2011. Effects of fermented red ginseng supplementation on blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 696-703.
  18. Park HJ, Jung DH, Joo H, Kang NS, Jang SA, Lee JG, Sohn EH. 2010. The comparative study of anti-allergic and anti-inflammatory effects by fermented red ginseng and red ginseng. *Korean J Plant Res* 23: 415-422.
  19. Amidon GL, Lennernas H, Shahand VP, Crison JR. 1995. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm Res* 12: 413-420.
  20. Ando T, Muraoka T, Yamasaki N, Okuda H. 1980. Preparation of anti-lipolytic substance from *Panax ginseng*. *Planta Med* 38: 18-23.
  21. Kitagawa I, Yoshikawa M, Yoshihara M, Hayashi T, Taniyama T. 1983. Chemical studies on crude drug precession. *Yakugaku Zasshi* 103: 612-622.
  22. Szejtli J. 1998. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev* 98: 1743-1753.
  23. Hirayama F, Uekama K. 1999. Cyclodextrin-based controlled drug release system. *Adv Drug Deliv Rev* 36: 125-141.
  24. Martin Del Valle EM. 2003. Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochem* 39: 1033-1046.
  25. Stone H, Sidel JL. 1993. *Sensory evaluation*. 2nd ed. Academic Press, Sandiego, CA, USA. p 202-242.
  26. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KY, Oh MH, Oh SH. 2000. *Standard food analytics*. Jigumunhwas, Seoul, Korea. p 99-102.
  27. Kim SH, Min JW, Quan LH, Lee S, Yang DU, Yang DC. 2012. Enzymatic transformation of ginsenoside Rb1 by *Lactobacillus pentosus* strain 6105 from kimchi. *J Ginseng Res* 36: 291-297.
  28. Yu KK. 1993. Method for removing bitter taste of ginseng. *Korea Patent* 930,005,196 B.
  29. Lee SK, Yu HJ, Cho NS, Park JH, Kim TH, Abdi H, Kim KH, Lee SK. 2008. A method for preparing the inclusion complex of ginseng extract with gamma-cyclodextrin, and the composition comprising the same. *US Patent* WO/2008/127063.
  30. Tamamoto LC, Schmidt SJ, Lee SY. 2010. Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents. *J Food Sci* 75: S341-S347.
  31. Lee SH, Park JH, Cho NS, Yu HJ, You SK, Cho CW, Kim DC, Kim YH, Kim KH. 2009. Sensory evaluation and bioavailability of red ginseng extract (Rg1, Rb1) by complexation with  $\gamma$ -cyclodextrin. *Korean J Food Sci Technol* 41: 106-110.