

가압조건의 마이크로웨이브 추출에서 몇가지 인삼성분의 추출특성 모니터링

이새봄 · 이기동* · 정용진* · 김정숙** · 권중호†

경북대학교 식품공학과

*경북과학대학 전통발효식품과

**계명문화대학 식품공학과

Monitoring of Extraction Properties of Ginseng Components during Pressurized Microwave-Assisted Extraction

Sae-Bom Lee, Gee-Dong Lee*, Yong-Jin Jeong*, Jeong-Sook Kim** and Joong-Ho Kwon†

Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

*Dept. of Traditional Fermented Food, Kyungbuk College of Science, Kyungbuk 718-850, Korea

**Dept. of Food Science, Keimyung College, Taegu 705-037, Korea

Abstract

Microwave extraction system equipped with closed vessels, which is known to rapidly extract target compounds from natural products, was applied to monitor the changes in phenolic compounds, browning color intensity and electron donating ability by using response surface methodology(RSM). Maximum content of phenolic compound was 21.65mg/100ml in 67.88% of ethanol concentration, 145°C of extraction temperature, and 6.24 min of extraction time. The phenolic compounds in extracts are dependent on the increase of the extraction temperature and the ethanol concentration. Browning color intensity, which was maximized in 67.21%, 147°C, and 6.02 min, was proportional to the increase of the extraction temperature. Maximum value of electron donating ability was 24.50 units in 54.33%, 147°C, and 6.11 min. The electron donating ability of extracts was dependent on the increase of extraction temperature and maximized in the range from 50 to 65% of ethanol concentration.

Key words: ginseng, pressurized microwave-assisted extraction, phenolic compounds, browning color, electron donating ability

서 론

인삼은 식물 분류학상으로 오갈피나무과(Araliaceae)의 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 숙근초로서 오래 전부터 한약처방에서 중요한 약재로 사용되어져 왔다(1). 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 성분에 관한 연구를 살펴보면 정량법과 임상적 약리효과에 대해서 많은 연구결과들이 보고되어 있으며(2,3), 가공학적인 측면에서의 연구는 인삼 부위 및 인삼차의 사포닌 조성(4), 인삼엽 사포닌 함량(5), 처리온도 및 시간에 따른 ginsenoside의 반응속도론적 연구(6), 인삼제품의 사포닌 추출방법(7), 가공방법에 따른 백삼제품의 사포닌 및 유리당 조성(8) 등에 관한 연구들이 다양하게 이루어져 왔다.

최근 중국에서 값싼 인삼제품이 대량 생산됨에 따라 고려인삼의 대외경쟁력 향상을 위한 연구개발이 적극 요구되고 있다. 생활수준의 향상과 건강에 대한 사람들의 관심이 증대됨에 따라 인삼은 우리의 식생활에서 건강식

품으로서 점차 중요한 위치를 차지하고 있다. 인삼가공제품의 원료로 사용되는 가용성 인삼성분은 4년근 이상의 인삼근을 원료로 하여 물 또는 알코올을 용매로 90°C 이하의 온도에서 추출하도록 규정되어 있다(9). 현행 가용성 인삼성분의 추출방법은 5~6배 양의 에탄올(70% 이상)이나 물을 용매로 하여 8시간씩 5회 반복 추출하는 등 장시간이 소요되는 비경제적인 방법이 이용되고 있으므로 개선 방안 마련이 요구되고 있다.

따라서 본 연구는 가용성 인삼성분의 신속한 추출법 개발을 위한 마이크로파 에너지의 이용(10,11) 기반을 마련하고자, 가압형의 마이크로웨이브 장치를 이용하여 조건별로 추출을 실시하면서 몇가지 성분의 마이크로파 추출특성을 반응표면분석에 의해 모니터링하였다.

재료 및 방법

재료

인삼성분 추출 실험에 사용된 시료는 국내산 4년근

† To whom all correspondence should be addressed

백미삼이었으며, 일반성분은 수분 11.5%, 조단백질 13.6%, 조지방 1.7%, 조회분 4.5%, 조섬유 4.3% 등이었다.

추출장치 및 추출방법

추출실험에 사용된 마이크로웨이브 추출장치는 2,450 MHz의 주파수에 12개의 밀폐형 추출관(extraction vessel)이 장착된 MES-1000(CEM Corp., USA)이었다. 마이크로웨이브 추출방법은 전보(12)와 같이 3개의 extraction vessel에 3g의 시료와 60ml의 용매(에탄올)를 각각 가하고 100%의 출력과 190 psi 압력 하에서 추출시간(tap time), 추출온도(°C) 및 용매농도(%)를 달리하면서 15분간(run time) 추출하고 일정 부피로 하여 분석용 시료로 사용하였다.

총 페놀성 화합물 정량

마이크로웨이브 공정에 의해 추출된 추출물의 총 페놀성 성분은 Folin-Denis법에 의해 비색정량(13)하였다. 즉, 추출액을 10배 희석한 검액 5ml에 Folin-Ciocalteu 시약 5ml를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 5ml를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5~50µg/ml의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

갈색도 측정

시료 추출물의 갈색도는 spectrophotometer(UV-160 PC Shimadzu)를 사용하여 440nm(14)에서 흡광도로써 측정하였다.

전자공여작용 측정

시료 추출물의 전자공여작용은 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)을 이용한 방법(15)으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12mg을 absolute ethanol 100ml에 용해한 후 증류수 100ml를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517nm에서 DPPH 용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정 한 후 이 용액 5ml와 시료용액 0.5ml를 가하여 혼합한 후 30초 후에 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 전자공여작용은 대조구와의 흡광도 차이가 0.01일 때를 1 unit로 하여 계산하였다.

추출조건 설계 및 회귀분석

마이크로웨이브 추출공정에서 추출조건에 따른 추출물의 특성을 모니터링하기 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(16)을 사용하였으며, 실험계획은 중심합성계획(17,18)을 적용하였다. 이때 독립 변수는 에탄올농도(0~100%), 추출온도(90~150°C)

및 추출시간(0.5~8.5 min, tap time)으로 하여 -2, -1, 0, 1, 2의 다섯 단계로 부호화 하였다. 또한 독립변수(추출조건, X_n)는 중심합성계획에 따라 16군으로 구분하였으며, 이들 독립변수에 의해 영향을 받는 종속변수(Y_n)는 추출물의 페놀성 화합물의 함량(Y₁), 갈색도(Y₂)와 전자공여작용(Y₃)으로 하여 3회 반복 실험을 실시하고 평균값으로 회귀분석을 실시하였다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 SAS(statistical analysis system) program(18)을 사용하였으며, 회귀분석 결과에서 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 또한 마이크로웨이브 추출특성의 모니터링은 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program을 이용하여 4차원 반응표면분석(19)으로 해석하였다.

결과 및 고찰

페놀성 화합물 추출 특성

가압형 마이크로웨이브 추출장치에 의해 에탄올 가용성 인삼성분을 추출하면서 추출물의 총 페놀성 화합물의 추출특성을 조사하였다. 추출 조건별 추출물의 총 페놀성분 함량은 Table 1에 나타내었고 이 결과를 회귀분석하여 본 결과 회귀식의 R²은 0.9118로써 5% 수준에서 유의성이 인정되었다(Table 2). 또한 3가지 추출조건에 따른 총 페놀함량의 4차원 반응표면분석에서(Fig. 1) 예측된 정상점이 안장점이므로 이를 능선분석하여 본 결과, 총 페놀성 화합물의 최대값은 21.65mg/100ml이었고, 이때의 추출조건은 에탄올 농도 67.88%, 추출온도 144.78°C, 추출시간 6.24분이었다(Table 3). 총 페놀성 화합물의 추출특성에 대한 4차원 반응표면에서 볼 때 추출온도가 높고 에탄올 농도가 높을수록 추출율이 증가함을 나타내었다(Fig. 1). 그러나 추출온도가 낮고 에탄올 농도가 높거나 추출온도가 높고 에탄올 농도가 낮은 경우에는 페놀성 화합물의 함량이 낮게 나타났다. 이러한 결과는 페놀성 화합물이 잘 용해되는 높은 농도의 에탄올 용매 조건에서 페놀성 화합물의 추출율이 높고, 추출시간의 영향은 거의 받지 않는 것으로 나타났으며, 고온에서 추출할 경우 페놀성 화합물의 함량이 높게 나타났다. 인삼성분의 페놀성 화합물에 대한 연구로는 Wee 등(20)이 인삼성분을 메탄올로 분획하여 항산화 활성성분으로서 페놀성, 성분을 재결정 확인한 바 있으며, Kwon 등(21), Kim 등(22), Park 등(23)은 인삼, 계피 및 국화 꽃잎의 추출 실험에서 총페놀성 화합물은 에탄올 농도가 70% 이상일 때 추출율이 우수하였다고 보고하여 본 실험의 결과를 잘 뒷받침하였다.

추출물의 갈색도 변화

마이크로웨이브 추출 조건별 갈색도(Table 1)와 이에

Table 1. Experimental data on total phenolic compounds, browning color intensity and electron donating ability of ginseng extracts under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No. ¹⁾	Ethanol concentration(%)	Extraction temperature(°C)	Extraction time(min)	Total phenolic compounds(mg/100ml)	Browning color intensity(O.D)	Electron donating ability(unit)
1	25(-1)	105(-1)	2.5(-1)	11.84	0.123	10.3
2	25(-1)	105(-1)	6.5(1)	12.66	0.125	12.5
3	25(-1)	135(1)	2.5(-1)	12.76	0.162	15.3
4	25(-1)	135(1)	6.5(1)	13.01	0.217	18.3
5	75(1)	105(-1)	2.5(-1)	10.52	0.123	13.8
6	75(1)	105(-1)	6.5(1)	11.24	0.143	14.9
7	75(1)	135(1)	2.5(-1)	14.62	0.214	18.0
8	75(1)	135(1)	6.5(1)	19.32	0.339	22.4
9	50(0)	120(0)	4.5(0)	12.92	0.195	16.9
10	50(0)	120(0)	4.5(0)	12.82	0.205	16.3
11	0(-2)	120(0)	4.5(0)	8.34	0.207	6.4
12	100(2)	120(0)	4.5(0)	12.66	0.101	8.0
13	50(0)	90(-2)	4.5(0)	14.87	0.132	14.2
14	50(0)	150(2)	4.5(0)	19.57	0.324	22.3
15	50(0)	120(0)	0.5(-2)	17.24	0.149	16.1
16	50(0)	120(0)	8.5(2)	17.11	0.169	17.7

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design.

Table 2. The second order polynomials for total phenolic compounds, browning color intensity and electron donating ability as functions of ethanol concentration, temperature and time in ginseng extraction by microwave extraction system

Responses	Second order polynomials ¹⁾	R ²	Significance
Total phenolic compounds	$Y_1=102.830547-0.355362X_1-1.310562X_2-4.475625X_3+0.003637X_1X_2+0.010875X_1X_3+0.014208X_2X_3-0.000948X_1^2+0.004833X_2^2+0.269062X_3^2$	0.9118	0.0145
Browning color intensity	$Y_2=0.716278-0.001220X_1-0.009688X_2-0.059375X_3+0.000052000X_1X_2+0.000220X_1X_3+0.000658X_2X_3-0.000052160X_1^2+0.000031111X_2^2-0.002562X_3^2$	0.9505	0.0090
Electron donating ability	$Y_3=22.356250+0.376375X_1-0.370625X_2-1.821875X_3+0.000300X_1X_2+0.000750X_1X_3+0.017083X_2X_3-0.003760X_1^2+0.001833X_2^2+0.018750X_3^2$	0.9450	0.0039

¹⁾X₁: ethanol concentration(%), X₂: extraction temperature(°C), X₃: extraction time(min).

Table 3. Predicted levels of extraction conditions for maximum responses of total phenolic compounds, browning color intensity and electron donating ability by the ridge analysis

Extraction condition	Total phenolic compounds	Browning color intensity	Electron donating ability
Ethanol concentration(%)	67.88	67.21	54.33
Extraction temperature(°C)	144.78	147.48	147.32
Extraction time(min)	6.24	6.02	6.11
Predicted values(maximum)	21.65	0.3853	24.50
Morphology	Saddle point	Saddle point	Saddle point

대한 회귀식(Table 2) 및 이를 바탕으로 한 4차원 반응표면(Fig. 2)을 각각 나타내었다. 이때 회귀식의 R²은 0.9505로 5% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 또한 예측된 정상점은 안장점이므로 능선분석을 실시하여 본 결과 Table 3과 같이 갈색도에 대한 최대값은 0.3853이었고, 이때의 추출조건은 에탄올 농도 67.21%, 추출온도 147.48°C, 추출시간 6.02분이었다. 조건별 반응표면에서 볼 때 추출물의 갈색도는 추출시간의 영향은 크게 받지 않았으며 추출온도가 높을수록 갈색도는 증가하였다(Fig. 2). 추출물의 갈색도에 대한 에탄올 농도의 영향은 높은 편이었

으며, 에탄올 농도 50~80% 범위에서 갈색도가 높은 값을 보였다. Lee 등(24)은 수삼에 대하여 증자시간이 증가할수록 갈색화 반응은 증가하였으며, 100°C의 온도에서 갈색화 반응은 가장 크게 일어났다고 보고하여 인삼의 가공에서 열처리하는 시료의 갈색화를 증가시키며, 50% 이상의 에탄올 농도는 수용성 및 지용성 색소의 추출을 용이하게 한 것으로 생각된다.

추출물의 전자공여작용 변화

가압형 마이크로웨이브 추출공정 조건별 추출물의 전

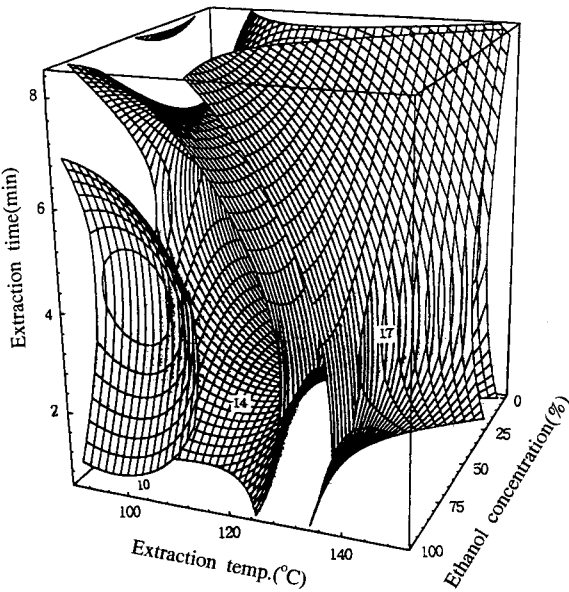


Fig. 1. Four-dimensional response surface for total phenol compounds of ginseng extracts(at constant value, 10, 14, 17%) as functions of temperature, time and ethanol concentration in microwave extraction system.

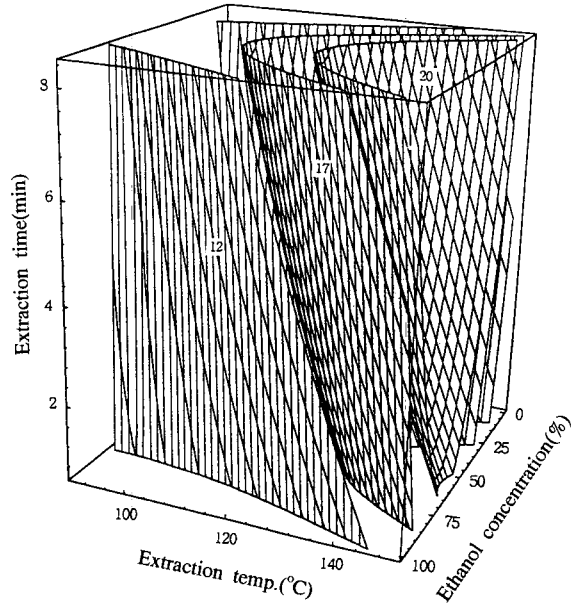


Fig. 3. Four-dimensional response surface for electron donating ability of ginseng extracts(at constant value, 12, 17, 20 units) as functions of temperature, time and ethanol concentration in microwave extraction system.

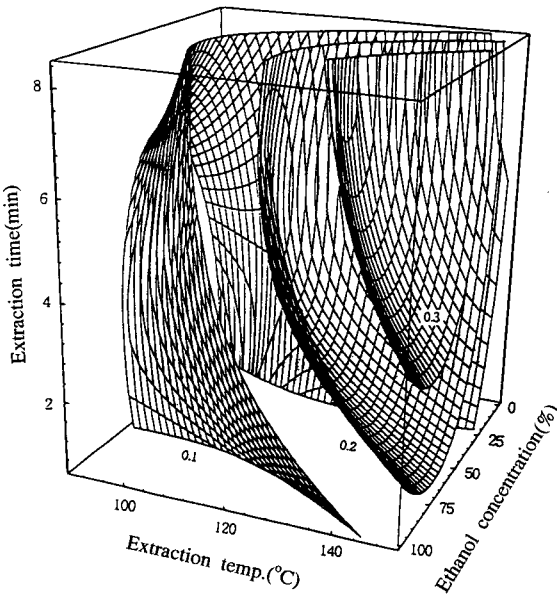


Fig. 2. Four-dimensional response surface for browning color intensity(O.D) of ginseng extracts(at constant value, 0.1, 0.2, 0.3) as functions of temperature, time and ethanol concentration in microwave extraction system.

자공여작용은 Table 1에 나타내었고, 이에 대한 회귀식과 4차원 반응표면은 Table 2와 Fig. 3에 각각 나타내었다. 회귀식의 R^2 은 0.9450이었으며 5% 이내의 수준에서

유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점이었으므로 능선분석을 실시하여 본 결과, 전자공여작용에 대한 최대값은 24.50 units이었고, 이때의 추출조건은 에탄올 농도 54.33%, 추출온도 147.32°C, 추출시간 6.11분으로 나타났다(Table 2). 그리고 Fig. 3의 반응표면에서 전자공여작용은 추출온도가 높을수록 증가하였으나 추출시간에 큰 영향을 받지 않았다. 추출용매인 에탄올 농도는 50~65% 범위의 반응표면에서 가장 높은 값을 보이면서 에탄올 농도가 낮거나 아주 높은 조건에서는 상대적으로 전자공여작용이 낮게 나타났다.

이상의 전자공여작용에 대한 마이크로웨이브 추출특성은 추출물의 갈색도와 매우 유사한 특성을 보이면서 추출물의 갈변물질이 전자공여능에 크게 기여한 것임을 알 수 있었다. 그리고 추출물의 전자공여작용은 총 페놀성 화합물과도 상당히 유사한 추출 특성을 보이면서 높은 추출온도와 50% 이상의 에탄올 농도에서 추출이 용이함을 보여 주었다.

Lee 등(12)은 전보에서 마이크로웨이브 추출물 중 조사포닌 함량은 에탄올 농도가 56% 부근에서 가장 높은 추출율을 보였다고 하여 본 실험의 전자공여작용(54%), 갈색도(67%), 총페놀성 화합물(68%)과 상당히 유사한 범위임을 확인하였다. 이는 천연물의 환원성 및 항산화 작용이 배당체, 갈변물질, 페놀성 물질 등과 밀접한 관계가 있음을 시사하였으며(21-25), Wee 등(20)은 인삼의 페놀성 성분이 전자공여작용에 크게 영향을 미친다고 보고하였다.

요 약

천연물로부터 목적성분을 신속하게 추출할 수 있는 가압조건의 마이크로웨이브 추출방법을 이용하여 가용성 인삼성분의 추출에 따른 추출물의 페놀성 화합물 함량, 갈색도 및 전자공여작용의 추출특성을 반응표면분석에 의해 모니터링하였다. 총 페놀성 화합물의 함량에 대한 최대값은 에탄올 농도 67.88%, 추출온도 145°C, 추출시간 6.24분에서 21.65mg/100ml로 나타났다. 총 페놀성 화합물의 함량은 추출온도가 높고 에탄올 농도가 높을수록 증가하였다. 갈색도는 에탄올 농도 67.21%, 추출온도 147°C, 추출시간 6.02분에서 가장 높은 수치를 나타내었고, 추출온도가 높을수록 증가하였다. 전자공여작용에 대한 최대값은 에탄올 농도 54.33%, 추출온도 147°C, 추출시간 6.11분에서 24.50 units이었다. 전자공여작용은 추출온도가 높을수록 증가하였으며, 에탄올 농도가 50~65% 범위에서 가장 높았다.

감사의 글

본 논문은 산업자원부 공업기반기술개발사업으로 수행된 연구결과와 일부이며 지원에 감사드립니다.

문 헌

- SKG : *Understanding of Korean Ginseng*. The Society for Korean Ginseng, Seoul, Korea, pp.1-26(1995)
- KGTRI : *Analytical Methods of Ginseng Components*. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon, pp.11-208(1991)
- KGTRI : *Korean Ginseng*. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon, pp.138-276(1994)
- Kim, H. J., Nam, S. H., Fukura, Y. and Lee, S. K. : Studies on the ginseng saponins. The patterns of ginseng saponin in the commercial ginseng teas and each part of ginseng plant. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **9**, 24-30 (1977)
- Choi, S. H. : Saponins of Korean ginseng C. A. Meyer (part II). *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **20**, 142-146(1977)
- Choi, S. H. : Saponins of Korean ginseng C. A. Meyer (part III). *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **20**, 188-192(1977)
- Sohn, H. J., Jang, J. G., Lee, K. S., Kim, J. G. and Lee, Y. W. : Study on of extraction methods of saponin in ginseng products. *Korean J. Ginseng Sci.*, **8**, 32-37 (1984)
- Kim, M. W., Lee, J. S. and Choi, K. J. : Comparative studies on the chemical components in ginseng. The ginsenosides and the free sugars content of various ginseng plant. *Korean J. Ginseng Sci.*, **6**, 138-142(1982)
- KMHW : *Korean Food Standard Code*. The Korean Ministry of Health and Welfare, pp.507-510(1997)
- Pare, J. R. J., Belanger, J. M. R. and Stafford, M. R. : Microwave-assisted process: a new tool for the analytical laboratory. In "*Trends in Analytical Chemistry*" Vol. 13, pp.176-184(1994)
- Lopez-Avila, V., Young, R. and Teplitsky, N. : Microwave-assisted extraction as an alternative to Soxhlet, sonication, and supercritical fluid extraction. *J. AOAC Intl.*, **79**, 142-156(1996)
- Lee, S. B., Lee, G. D. and Kwon, J. H. : Optimization of extraction conditions for soluble ginseng components using microwave extraction system under pressure. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 409-416(1999)
- Amerine, M. A. and Ough, C. S. : *Methods for analysis of musts and wine*. Wiley & Sons, New York, pp.176-180 (1980)
- 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. Soc.*, **24**, 50-58(1981)
- Blios, M. S. : Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200(1958)
- Myers, R. H. : *Response surface methodology*, Allyn and Bacon Inc., Boston, pp.127-139(1971)
- Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J. L. : Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, **57**, 190-196(1992)
- SAS : SAS/STAT : *User's Guide Version 6*. 4th ed., Vol. 2, Ch.37, SAS Institute Inc., Cary, NC, pp.1457-1478 (1994)
- Martha, L. A. and James, P. B. : *The Mathematica Handbook, compatible with Mathematica Version 2.0*. An Inprint of a Division of Academic Press, Inc. Harcourt Brace & Co., Massachusetts, pp.15-511(1992)
- Wee, J. J., Park, J. D., Kim, M. W. and Lee, H. J. : Isolation of phenolic antioxidant components from *Panax ginseng*. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **32**, 44-49(1989)
- Kwon, J. H., Lee, S. B., Lee, G. D. and Kim, H. K. : Optimization of microwave-assisted extraction for effective components of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Presented at IFT Annual Meeting, Atlanta, Georgia, USA(1998)
- Kim, N. M., Yang, J. W. and Kim, W. J. : Effect of ethanol concentration on index components and physicochemical characteristics of cinnamon extracts(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**, 282-287(1993)
- Park, N. Y., Kwon, J. H. and Kim, H. K. : Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *Chrysanthemum morifolium* by response surface methodology (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 1189-1196(1998)
- Lee, J. W., Lee, S. K., Do, J. H., Sung, H. S. and Shin, K. W. : Browning reaction of fresh ginseng(*Panax ginseng* C.A. Meyer) as affected by heating temperature. *Korean J. Ginseng Sci.*, **19**, 249-253(1995)
- Kim, S. D., Do, J. H. and Oh, H. I. : Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **24**, 161-166(1981)