

홍삼 Ext중 원심력에 의하여 분리된 침전물의 화학조성과 물리화학적 특성

김나미 · 양재원 · 궤이성 · 성현순
한국인삼연구소연구원
(1994년 7월 18일 접수)

Chemical Components and Physicochemical Properties of Precipitates in Red Ginseng Extracts Isolated by Centrifugation

Na-Mi Kim, Jae-Won Yang, Yi-Sung Kwak and Hyun-Soon Sung
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea
(Received July 18, 1994)

Abstract Red ginseng extracts accounted for the major precipitating material in red ginseng drink prepared with various components and pasteurized at 80°C for 30 min. Precipitates in red ginseng extracts isolated by centrifugation were investigated for its chemical components and physicochemical properties. Recovery of precipitates in red ginseng extracts was 1.59% on a dry weight basis. Precipitates were composed of starch (71.47%), crude protein (21.75%), pectin (1.70%), polyphenol (2.97%) and calcium (3.83 ppm) but ginsenosides were not present. Absorption peak at 285 nm which appeared in red ginseng extracts was absent in the precipitates. pH and Hunter L value of the precipitates decreased, while Hunter a and b values increased in contrast to red ginseng extracts. Precipitates were solubilized to some extent in polar solvent. The shape of precipitate particle was round, spiral or irregular square. Particle size of precipitates varied from 0.17 μm to 41.3 μm in length.

Key words Red ginseng drink, precipitates, chemical composition, physicochemical property, particle size.

서 론

최근 생활수준이 향상되고 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 노화억제, 자양강장 등의 효능이 있는 인삼을 이용한 제품이 많이 개발되고 있으며, 제품의 형태는 원형유지삼, 분말, 캡슐, Ext, 드링크 등으로 다양하게 개발되고 있다.¹⁾ 이중 드링크류는 복용이 간편하고 흡수가 빠른 이점 때문에 선호도가 높아 생산량이 증가하고 있지만,²⁾ 저장 또는 유통과정에서 시간 경과에 따라 혼탁되거나 침전물이 생성되어 제품의 외관과 품질을 저하시키는 문제점을 가지고 있다. 인삼을 원료로 드링크를 제조하는 경우 인삼 중의 성분간 또는 이들과 음료에 첨가되는 기타 성분간의

상호작용에 의하여, 또는 용액의 pH, 살균온도 등의 조건에 의하여 용해활성이 달라짐으로써 혼탁이나 침전이 유발된다고 한다.^{3,4)} 인삼드링크의 침전과 관련된 연구로서 양 등^{5,6)}은 드링크 원료인 Ext를 제조할 때 추출용매 ethanol의 농도와 추출온도가 낮을수록 드링크 중에서의 침전 생성량이 적었으며, 드링크의 pH가 4.0 이하에서는 Panaxadiol계 Saponin의 변이에 의한 침전이 유발될 수 있다고 하였다. 성 등⁷⁾은 알콜음료의 혼탁과 침전을 방지하기 위하여 인삼 Ext를 에탄올로 정제할 때 처리온도가 너무 낮으면 사포닌이 침전화되기 때문에 정제온도는 4°C가 적온이라고 보고하였고, 저자 등⁸⁾은 에탄올로 정제할 때의 최적 에탄올 농도와 정제시간을 검토하고

정제한 Ext의 물리적 특성을 조사한 바 있다. 주 동¹⁰⁾은 인삼드링크의 저장온도가 높으면 침전생성량이 많았고 Panaxadiol계 사포닌의 함량도 감소하였다고 보고하였으며, 시 동¹¹⁾은 인삼드링크의 침전생성에 미치는 pH와 가열조건, 안정제의 영향을 검토한 바 있다.

이상에서 살펴본 바와 같이 인삼드링크 제품의 침전물과 관련된 몇편의 연구결과에서 침전물을 감소시킬 수 있는 방법들이 제시되었지만 완전한 해결책은 아니었으며 드링크 중에는 여러 가지 성분이 존재해 있고, pH나 온도 등의 조건에 따라서 이들 성분의 구조와 특성, 상호작용 등이 달라질 수 있기 때문에 인삼드링크의 침전에 대하여는 종합적이고 체계적인 연구가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 인삼드링크 침전물 연구의 기초자료로 활용하고자 인삼드링크 중의 침전 원인 물질을 조사하고 침전물의 성분과 물리화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 홍삼 Ext

한국담배인삼공사 고려인삼장에서 제조한 홍삼물 추출 Ext를 구입하여 시료로 사용하였다. 침전물은 홍삼 Ext에 10배량의 정제수를 가하여 용해한 다음 0~5°C의 냉장온도에서 24시간 방치한 후 원심분리(8, 500 x g, 0~5°C, 20분)하여 얻어진 침전물을 회수하여 65°C의 감압조건으로 농축 건조시킨 것을 40 mesh 정도로 분쇄하여 사용하였으며, 음료에 첨가된 감미제(fructose, glucose), 산미제(citric acid, malic acid), 비타민(비타민 B, C group), 기타 첨가물(flavor, 무기염류)은 식품공전과 대한약전, 식품첨가물공전의 규격기준 이상품을 사용하였다.

2. 홍삼음료 배합성분 중 침전 원인물질 조사

홍삼음료에서 배합성분을 한가지씩 제외시키고 80°C에서 30분간 살균한 다음 시험구별로 침전생성 경향을 육안으로 확인하여 침전 원인물질을 조사하였다.

3. 홍삼 Ext 유래 침전물의 회수율과 성분조사

침전물의 회수율은 상기의 방법으로 얻어진 침전물을 105°C의 dry oven에서 5시간 건조시켜 무게를 측정하고 원료 Ext 전분량에 대한 백분율로 나타내

었다. 홍삼 Ext와 침전물의 성분으로서 조사포닌 함량은 butanol 추출정량법¹²⁾, 사포닌 개별성분은 HPLC방법¹³⁾으로 측정하였고, 전분함량은 호광도법¹⁴⁾, 조단백질 함량은 Kjeldahl 방법¹⁵⁾, pectin 함량은 호광도법¹⁶⁾, polyphenol 함량은 Folin-Denis의 방법¹⁷⁾에 따라 측정하였다. 무기성분의 함량은 시료를 450°C에서 회화시키고 A.A용 염산 10% 용액으로 용해하여 여과시킨 다음 일정배율로 희석하여 Atomic absorption spectrophotometer(Varian spectra AA-30, DS-15 data station, USA.)로 분석하였다.

4. pH, 색, 탁도와 자외선 흡수특성 조사

홍삼 Ext와 침전물의 pH는 각각의 농도를 5% 용액으로 희석한 다음 pH meter(metrohm 691)로 측정하였고, 1% 용액에 대하여 색은 Hunter color and color difference meter(D25-9)로 측정하여 L, a, b값으로 나타내었으며, 탁도는 spectrophotometer(Hewlett Packard 8425A)를 이용하여 660 nm에서의 투광도로 나타내었다. 자외선 흡수특성은 0.1% 농도에 대하여 상기의 spectrophotometer를 사용하여 200~400 nm 파장에서의 흡수정도를 그림으로 나타내었다.

5. 침전물의 용매별 용해도 조사

여러 가지 용매에 대한 침전물의 용해정도를 알아보기 위하여 무게를 알고 있는 원심분리관에 침전물 건조분말 100 mg을 정확히 칭량하여 넣고 각각의 용매 10 ml를 가하여 용해한 다음 원심분리 여과(8, 500 x g, 실온, 20분)하여 상정액을 분리하였다. 이 상정액의 가용성 고형분 함량을 Brix meter(ATAGO P-1)로 측정하고, 원심분리관에 남아있는 침전물의 건조중량과 초기 시료량과의 차이값을 구하여 용해도를 계산하였다.

6. 침전물 입자의 크기 및 형태조사

상기 조건으로 원심분리한 홍삼 Ext의 상정액과 침전물을 1% 농도로 희석용해하여 현미경(Nikon)으로 입자의 형태를 관찰하고 micro meter로 입자의 크기를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 침전생성 원인물질

Table 1. Degree of precipitation in ginseng drink prepared with various ingredients and pasteurized at 80°C for 30 min

Composition	pH	Degree of precipitation ^b
Drink ^a	3.86	++
Drink-acidifier	4.54	+
Drink-sweetner	3.80	++
Drink-red ginseng extracts	3.85	-
Drink-vitamins	3.90	++
Drink-others	3.85	++

^aDrink is made of red ginseng extract, sweetners, acidifier, vitamins and others.

^b++ : much, + : small, - : little.

홍삼드링크는 일반적으로 주원료인 홍삼 Ext에 산미제, 감미제, 비타민류, 기타 첨가물이 부원료로서 첨가되어 만들어진다. 이러한 여러 가지 배합성분 중 침전을 생성시키는 주원인물질을 찾아내기 위하여 홍삼드링크에서 각각의 성분을 제외시킨 다음 80°C에서 30분간 살균하여 시험구별로 침전생성 경향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 홍삼 Ext를 첨가하지 않은 시험구에서 침전이 생성되지 않아서 홍삼 Ext가 침전생성의 주원인물질인 것으로 판단되었다. 산미제를 첨가하지 않는 시험구에서도 침전생성량이 감소하였는데 이는 산미제 자체가 침전을 일으키기 보다는 산미제 부첨가에 의하여 드링크의 pH가 높아짐으로써 홍삼 Ext 성분과 다른 첨가물과의 상호반응이 감소되었기 때문인 것으로 생각된다.

2. 침전물의 회수율과 성분조사

홍삼드링크의 침전원인 물질로 조사된 홍삼 Ext의 침전물 회수율은 1.59%(대전물비)이었다. 이러한 침전물의 성분함량을 홍삼 Ext와 비교 조사한 결과(Table 2) 침전물 중에는 전분이 71.47%로서 가장 많은 비율을 차지하고 있었고, 조단백질 함량이 21.75%로

전분 다음으로 많았다. 홍삼 Ext 중에 이들 성분이 각각 26.10%, 14.86% 함유되어 있는 것에 비하면 침전물 중에서의 함량비율이 훨씬 높은 것으로 보아 이들 전분과 단백질과 같은 고분자 화합물이 인삼염료 중의 침전물 형성에 주요 원인이 되는 것으로 생각된다. 식품 중에서 단백질과 polysaccharide간의 상호작용에 의하여 gel을 형성하는 것은 잘 알려져 있다.¹⁴⁾ 원료 홍삼에는 비수용성 단백질태 질소형태로 많이 함유되어 있다가 물로 가온 추출한 Ext에는 수용성의 비단백태 질소로 변화된다고 한다.¹⁵⁾ 이러한 홍삼 Ext를 저장하면 조단백질 함량은 거의 변화가 없으나 amino태 질소의 함량은 현저히 감소하였다는 보고가 있다.¹⁶⁾ 이들의 결과로부터 인삼드링크의 침전은 원료 Ext에 들어있던 수용성 비단백태 질소화합물이 전분이나 기타 다른 성분과 결합하여 홍삼 자체에 함유되어 있던 비수용성 단백질태 질소화합물로 변하여 불용화됨으로써 생성되는 것으로 예견된다. 사과나 오렌지, 포도 등의 과일주스에서 침전의 주원인 물질로 알려져 있는 pectin과 polyphenol성분은 침전물 중에 2.97%와 1.7%, Ext중에서 5.36%와 1.85%로 함유되어 있었다. Polyphenol성분은 단백질과 결합하여 침전을 형성하는 것으로 알려져 있다.^{17,18)} 홍삼 중에는 분자량 634인 polyphenol성분 1종¹⁹⁾과 maltol, caffeic acid 등 6종의 phenol 화합물이 함유되어 있어서 단백질과의 결합에 의한 침전이 이루어질 수 있겠으나 그 함량이 많지 않기 때문에 인삼드링크의 침전형성에 크게 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 한편 인삼의 유효성분으로 알려져 있는 조사포닌 함량은 Ext중에서 13.37%, 침전물 중에서는 3.90%가 함유되어 있었다. HPLC를 이용하여 이들의 ginsenoside pattern을 조사한 결과(Fig. 1) Ext는 인삼표준품과 유사한 chromatogram을 나타내었으나 침전물 중에서는 ginsenoside의 peak가 확인되지 않아서 본 실험의 방법으로 모아진 침전물 중에는 ginsenoside가 이행되지

Table 2. Chemical composition of red ginseng extracts and their water insoluble precipitate

(Unit : % dry weight basis)

Sample	Crude saponin	Starch	Protein	Pectin	Polyphenol
Red ginseng extracts	13.39	26.10	14.86	5.36	1.85
Precipitates ^a	3.90	71.47	21.75	2.97	1.70

^aRecovery of precipitates in red ginseng extracts sol'n is 1.59% (dry weight basis).

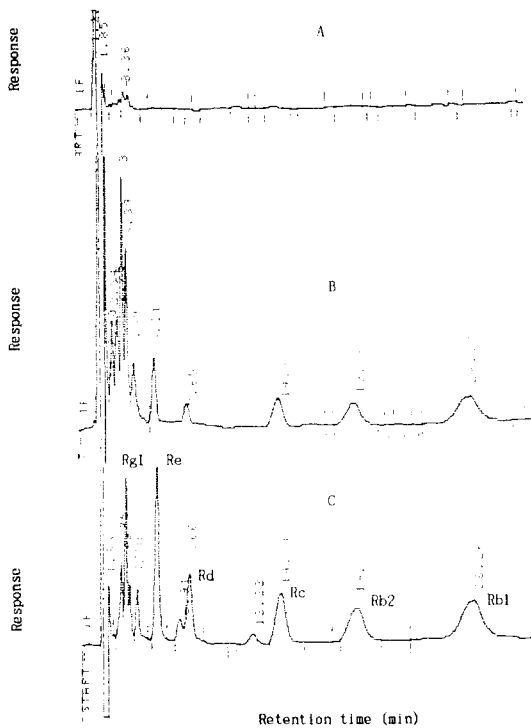


Fig. 1. HPLC chromatograms of saponin fractions of red ginseng extracts and precipitates. A: Precipitates, B: Red ginseng extracts, C: Total saponin from red ginseng

않았으며 그외의 부분에는 용해되는 물질들이 조사 포닌 함량에 영향을 준 것으로 여겨진다.

무기성분 함량은 Table 3에서와 같이 홍삼 Ext 중에는 전체 1594.46 ppm의 농도로 함유되어 있었다. 이중 Ca의 함량이 가장 많아 1498.00 ppm이었고,

Fe이 54.6 ppm, Mn, Zn, Cu, Mg의 순으로 나타났다. 침전물 중에는 전체 6.8 ppm의 농도로 함유되어 있어서 본 실험에서 행한 침전 형성 방법으로는 Ext중의 무기성분이 침전물 중으로 거의 이행되지 않은 것을 알 수 있었다. 일반적으로 Ca은 pectin,²⁰⁾ protein,²¹⁾ polysaccharide,¹¹⁾ melanoidin²²⁾ 등과 결합하여 침전이나 gel을 형성하는 것으로 알려져 있다. 홍삼 Ext 중에는 Ca 함량이 비교적 많기 때문에 이를 원료로 하여 음료를 제조할 때 얼차리 등에 의하여 Ca과 다른 성분간의 상호작용에 의한 2차 침전이 생성될 가능성이 큰 것으로 판단되었다.

3. 색, 탁도와 자외선 흡수특성

홍삼 Ext와 침전물의 pH, 색, 탁도를 비교한 결과는 Table 4와 같다. 홍삼 Ext와 침전물을 5% 용액으로 하여 pH를 측정했을 때 각각 4.56과 4.88로 침전물의 pH가 다소 높게 나타났다. 각 1% 용액에 대한 660 nm에서의 투광도로서 측정된 탁도는 홍삼 Ext가 98.2%T인 것에 비하여 침전물은 13.92%T로 조사되었다. 밝은 정도를 나타내는 Hunter L value는 홍삼 Ext가 7.83인 것에 비하여 15.53으로 다소 높아졌으나 두가지 시료 모두 흰색의 100보다는 검은색의 0에 더 가까운 값을 나타내어 침전물 중에 검은색을 띠는 색소물질이 많이 이행되어 있는 것을 알 수 있었다. Hunter a값과 b값은 Ext용액에 비하여 침전물 용액에서 더 낮은 값을 보여주어 적색과 황색계열의 색은 많이 없어진 것으로 나타났다.

Fig. 2는 홍삼 Ext와 침전물 용해액에 대한 자외선 흡수특성을 나타낸 것으로서 홍삼 Ext는 210 nm와

Table 3. Mineral contents of red ginseng extracts and their water insoluble precipitates (Unit: ppm, dry weight basis)

Sample	Ca	Fe	Cu	K	Mg	Mn	Zn	Total
Red ginseng extracts	1498.00	54.60	1.89	-	0.32	24.67	14.98	1594.46
Precipitates	3.83	1.88	0.11	-	0.16	0.30	0.52	6.80

Table 4. pH, turbidity and color value of red ginseng extracts and their water insoluble precipitates

Sample	pH	Turbidity (%T)	Color value		
			L	a	b
Red ginseng extracts	4.56	98.20	7.83	13.93	16.67
Precipitates	4.88	13.92	15.53	6.48	11.31

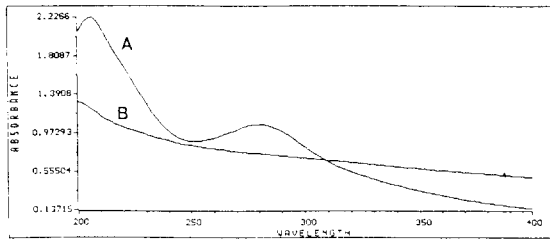


Fig. 2. UV absorption spectra of red ginseng extracts and their water insoluble precipitates.
A : Red ginseng extracts, B : Precipitates

Table 5. Solubility and % soluble solid in various solvents of precipitates prepared from red ginseng extracts

Solvent	Polarity index	Solubility ^d (%)	% Soluble solid (°Bx)
Hexene	0.01	0	0
Ethyl ether	0.38	0	0
Chloroform	0.40	0	0
Butanol	0.49	0	0
Ethylacetate	0.58	0	0
Ethanol	0.88	0.09	0.1
Methanol	0.95	0.10	0.1
Water	1.00	0.18	0.2

^dWt. loss in solubilization and centrifugation : 100 mg ; 10 ml × 100.

285 nm에서 peak를 나타내고 있으나 침전물은 190 nm에서 peak를 보였으며 210 nm와 285 nm에서는 peak를 보이지 않았다. 285 nm에서의 흡광도는 주로 비효소적 갈변 전구물질인 conjugated unsaturated carbonyl compound, furural, hydroxymethyl furfural 등에 의한 것으로 알려져 있는데 이러한 물질들은 물에 대한 용해도가 높아²⁹⁾ 침전물로 많이 이행되지 않은 것으로 생각되며, 이는 최 등²⁹⁾이 홍삼 에탄올 추출물에 대한 자외선 흡수 특성을 조사한 결과와도 유사하였다.

4. 침전물의 용매별 용해도

침전물을 극성이 다른 용매에 1%농도로 첨가하고 실온에서 원심분리하여 상정액과 침전물로 분리한 다음 침전물의 중량감소와 상정액의 가용성 고형분 함량(°Bx)으로서 용해도를 측정해본 결과는 Table 5와 같다. 극성이 5이상인 ethanol, methanol에 소량 용해되어 용해도 0.09%, 0.10%와 0.1°Bx가 되었고

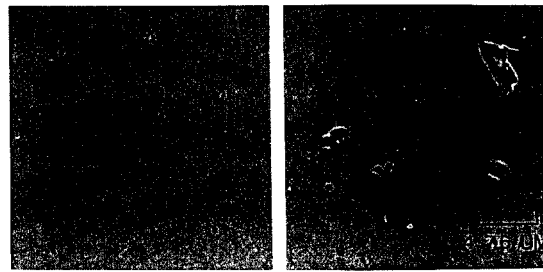


Fig. 3. Particle size and shape of supernatant (A) and precipitates (B) of red ginseng extracts prepared by centrifugation. (×400)

물에는 조금더 용해되어 용해도 0.18%와 0.2°Bx로 나타났다. 물에 불용성인 물질을 원심분리하여 얻은 침전물이 물에 소량 용해되는 것은 침전형성 온도가 0~5°C 일 것에 비하여 용해온도는 실온이었기 때문인 것으로 생각된다. 홍삼 Ext중에는 ether 가용성물질이 약 0.4% 정도 함유되어 있는데²⁹⁾ 침전물은 ether에 전혀 용해되지 않는 것으로 보아 ether 가용성 물질이 침전물 중으로 이행되지 않은 것으로 짐작되었다.

5. 침전물 입자의 형태와 크기

상기의 방법으로 얻어진 침전물과 상정액 중에 있는 입자의 형태와 크기를 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. 침전물 중의 입자는 원형, 나선형, 부정형 등의 여러 가지 형태를 가지고 있었고 입자의 크기는 0.17~4.13 μm의 길이로 측정되었으며, 1.0~1.5 μm 길이의 입자가 가장 많았다. 상정액 중의 입자 형태는 주로 원형을 이루고 있었고, 직경 0.16~0.26 μm 정도의 크기를 가지고 있었다. 시간이 경과함에 따라 이러한 입자들의 물리, 화학적 작용에 의하여 인삼드링크 중에 침전이 형성되는 것으로 생각되며, 인삼드링크 제조시 청징화 공정으로 millipore 여과장치를 사용할 경우 0.15 μm 이하의 여과장치를 사용해야 할 것으로 판단되었다.

요 약

홍삼드링크의 침전원인 물질과 침전물의 성분 및 물리화학적 특성을 조사하였다. 홍삼드링크 배합성분 중 침전유발 원인 성분은 홍삼 Ext로 조사되었다. 홍삼 Ext용액을 0~5°C에서 24시간 저장한 다음 원심분리(8,500 x g, 0~5°C, 20분)하였을 때 침전물 최

수율은 1.59%이었고, 이중 전분과 단백질 함량이 71.47%, 21.75%로 많았으며 ginsenoside는 확인되지 않았다. Pectin과 polyphenol 화합물도 소량 함유되어 있었으며 무기성분으로는 Ca과 Fe이 3.83, 1.88 ppm의 농도로 함유되어 있었다. 홍삼 Ext는 210 nm과 285 nm에서 peak를 보였으나 침전물은 peak를 나타내지 않아 이 파장의 빛을 흡수하는 물질이 침전물 중으로 많이 이행되지 않은 것으로 나타났다. 원료 Ext에 비하여 침전물의 pH와 Hunter L value는 다소 높아졌고 Hunter a, b value는 낮아졌다. 침전물은 극성도가 높은 물, 에탄올, 메탄올에 소량 용해되었고 침전물 입자의 형태는 원형, 나선형, 부정형 등을 이루고 있었으며, 크기는 0.17~4.13 μm 의 길이로 측정되었다.

인 용 문 헌

1. 양재원 : 고려인삼학회지, **15**(3), 240 (1991).
2. 육창수 : 생약액제의 평가방향에 관한 워크샷. 한국생약학회, 3 (1991).
3. 한병훈 : 국제인삼심포지움. 한국인삼연초연구원, 81 (1974).
4. 이광승, 박명환, 이종태, 이종원 : 인삼연구보고서. 한국인삼연초연구원, 457 (1992).
5. 양재원, 성현순, 박명환, 김우정, 홍순근 : 고려인삼학회지, **4**(1), 282 (1980).
6. 양재원, 도재호, 성현순, 홍순근 : 고려인삼학회지, **69**(1), 311 (1982).
7. 성현순, 양재원, 박명환, 김만옥 : 한국농화학회지, **24**(1), 137 (1981).
8. 김나미, 양재원, 김우정, 이종수 : 배재대학 자연과학논문집, **4**(1), 69 (1991).
9. 주현규, 성동근, 김남대 : 한국농화학회지, **34**(4), 339 (1991).
10. 서기봉, 이종태 : 인삼연구보고서. 한국인삼연초연구원, 165 (1988).
11. 유광근 : 인삼성분 분석법. 한국인삼연초연구원, 56 (1991).
12. Sensahaugh, A. J. and Kenneth, J. R. : *J.A.O.A.C.*, **55**(1), 209 (1972).
13. Joslyn, M. A. : *Methods in Food Analysis*, 582 (1970).
14. Bernal, V. M., Smajda, C. H., Smith, J. L. and Stanley, D. W. : *J. Food Sci.*, **52**(5), 1121 (1987).
15. 우상규 : 고려인삼학회지, **10**(1) (1986).
16. 박명환, 성현순, 이철호 : 고려인삼학회지, **7**(2), 351 (1983).
17. Oh, H. I. and Hoff, J. E. : *J. Food Sci.*, **52**(5), 1267 (1987).
18. Oh, H. I., Hoff, J. E. and Haff, L. A. : *J. Food Sci.*, **50**(5), 1267 (1985).
19. 위재준, 박종대, 김만옥 : 고려인삼학회지, **14**(1), 27 (1990).
20. Shalom, N. B., Pinto, R., Kanner, J. and Berman, M. : *J. Food Sci.*, **50**(6), 1130 (1985).
21. Causeret, D., Matringe, E. and Lorient, D. : *J. Food Sci.*, **57**(6), 1323 (1992).
22. Rendleman, J. A. : *J. Food Sci.*, **52**(6), 1699 (1987).
23. 최진호, 김우정, 박길동, 성현순 : 고려인삼학회지, **4**(2), 314 (1980).
24. 최강주, 김만옥, 홍순근, 김동훈 : 한국농화학회지, **26**(1), 330 (1983).