

홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 생리기능적 특성 - 돌연변이원성 및 아질산염 소거능을 중심으로

이종원# · 배영일* · 심기환**

#한국인삼연구초연구원, *창원전문대학 식품과학계열, **경상대학교 식품공학과
(2001년 5월 21일 접수)

Biofunctional Characteristics of the Water Soluble Browning Reaction Products Isolated from Korean Red Ginseng -Study on the Antimutagenic and Nitrite Scavenging Activities

Jong-Won Lee, Young-Il Bae* and Ki-Hwan Shim**

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345

*Division of Food Science, Changwon Junior College, Changwon 641-771

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

(Received May 21, 2001)

Abstract : The purpose of this study was to investigate the biofunctional characteristics of water soluble browning reaction products (WS-BRPs) isolated from Korean red ginseng. The antimutagenic effect of WS-BRPs (L, S-1 and S-2 fraction) showed 23~61% inhibition rates against the indirect mutagen, imidazol quinoline (IQ) induced mutagenicity. Especially, L fraction exhibited a little higher mutagenicity than those of other fractions on *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 at a concentration of 400 µg/ml, respectively, and it showed about 16~39% inhibition rates on the nitrite scavenging. L fraction exhibited a little higher nitrite scavenging than those of S-1 and S-2 fractions.

Key words : *Panax ginseng*, water soluble browning products, melanoidin, antimutagenity, nitrite scavenging

서 론

식품 및 생체내에서 일어나는 갈색화 반응물질인 melanoidins은 분자 중의 carbonyl기가 항돌연변이원성에 크게 관여하는 것으로 보고되면서¹⁾ 각종 단백질 및 아미노산의 가열 분해로 생성되는 강력한 돌연변이원성 물질인 Trp-p-1, Trp-p-2, Glu-p-1, Glu-p-2, imidazol quinoline(IQ) 등은 분자내에 유리상태의 amino기를 가지고 있으며 이들 amino기에 의해서 돌연변이 활성이 감소된다고 하였다.²⁾ 또한 간장에서 분리된 갈색의 melanoidins은 aflatoxin B₁에 의한 돌연변이원성을 유의적으로 감소시키는데, 아직 정확한 메카니즘은 밝혀지지 않았으나 melanoidins이 aflatoxin B₁을 비돌연변이원성

물질로 전환되기 때문인 것으로 알려지고 있다.^{3,4)}

그리고, 식품의 가공이나 저장에 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상으로 섭취하면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하여 메트헤모글로빈증 등 각종 증독을 일으키는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민 등이 아민류와 반응하여 니트로사민을 형성하는 것으로 보고⁶⁾ 되고 있는데, 이들 니트로사민은 동물실험 결과, 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐에 따라 니트로사민의 형성을 억제하기 위하여 많은 연구가 진행되었는데 ascorbic acid가 니트로사민의 생성을 억제함이 많은 연구자들에 의해 보고되고 있다.^{7,8)} 또한, 식품 상호간의 반응 생성물인 melanoidins도 니트로사민 생성 억제 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.⁹⁾

지금까지 홍삼의 수용성 갈변 반응과 관련된 연구는 수용성 갈변물질의 특성,¹⁰⁾ 분리된 수용성 갈변물질의 구조적 특

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-866-5322; (팩스) 042-862-2522
(E-mail) jwlee@gtr.kgtri.re.kr

성,¹¹⁾ 갈변물질의 항산화 활성 등은 일부 보고되고¹²⁾ 있으나, 홍삼의 수용성 갈변물질자체에 대한 항돌연변이원성 및 아질산염 소거능 등에 관한 연구는 거의 보고된 바 없다.

따라서, 본 연구에서는 수용성 색소가 많은 물 추출물에서 갈변물질을 분리하여 홍삼 중의 수용성 갈변물질(water soluble browning reaction products: WS-BRPs)에 대한 항돌연변이원성 및 아질산소거능 억제 활성에 대한 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

1. 시료조제

홍삼 100 g에 10배 가량의 증류수를 가한 후 4°C에서 24 시간씩 3회 추출하고, 4°C에서 원심분리(8,000 rpm, 20분)하여 얻은 상정액을 *n*-BuOH를 첨가한 후 진탕하면서 실온에서 3회 추출하여 지용성 물질과 사포닌류를 *n*-BuOH층으로 제거하였다. 제거한 수용성 갈변물질 분획에 55%에탄올을 가하여 침전물을 제거하여 투석막(Spectra, M.W.Cut-off 3,500)으로 4°C에서 1일씩 3회 투석하여 투석내액(L 명명)과 투석외액(S-1, S-2 명명)으로 구분하였다. 그리고, 투석외액의 저분자 갈변물질을 분리하기 위하여 Bio-Gel P-2로 gel chromatography상에서 분리하여 갈변물질 분획을 얻었다. Column상에서 먼저 유출되는 갈변물질 분획을 S-1, 그 다음에 유출되는 갈변물질 분획을 S-2로 명명한 후 각 시료를 동결건조하여 사용하였다.¹⁰⁾

2. 돌연변이원성

수용성 갈변물질의 항돌연변이성 실험은 *Salmonella typhimurium*의 변이주인 TA 98과 100을 이용하여 Marom과 Ames 등¹³⁾의 방법을 참고로 하여 preincubation법으로 실험하였다. 돌연변이성 실험은 nutrient broth(nutrient broth 0.8g, NaCl 0.5 g, 멸균수 100 ml)배지에 *Salmonella typhimurium* TA 98과 100을 하룻밤 배양시킨 100 µl 균액을 30분간 preincubation하여 histidine/biotin이 첨가된 Top agar 2 ml에 가하여 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고형화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이 수를 측정하여 돌연변이성 유무를 판정하였다.

항돌연변이성 실험은 홍삼에서 추출한 수용성 갈변물질을 동결건조하여 각 농도별(100, 200 및 400 µg/ml)로 조제하여 ice bath상에서 S-9 mixture(S-9 분획 5%, MgCl₂-KCl salts 2%, 1M glucose-6-phosphate 0.5%, 1M NADP 4%) 0.5 ml, 하룻밤 배양한 균주(1~2×10⁹ cells/ml) 0.1 ml, 시료와 돌연변이원 IQ(0.02 µg/DMSO 50 µl)을 각각 0.1 ml를

cap tube에 넣고 가볍게 혼합하여 37°C에서 30분간 예비 배양한 후 45°C의 top agar(0.5 mM histidine/biotin 200 µl) 2 ml를 첨가하여 3초간 혼합하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양후 각 돌연변이원에 대한 revertant 숫자를 확인하여 돌연변이 억제효과를 백분율로 나타내었다.

3. 아질산염 소거능

추출물에 대한 아질산염 소거 효과는 Gray 등¹⁴⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 용액 1 ml에 수용성 갈변물질(0.1%) 1 ml를 첨가하고, 여기에 0.1N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 후 총 부피를 10 ml로 하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응액 1 ml를 취하여 2% 초산용액 5 ml를 첨가한 다음 Griess 시약 0.4 ml를 가하여 혼합하고 15분간 방치 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 공시험구는 NaNO₂ 용액 대신 증류수를 첨가하여 측정하였다. 소거율은 아래 식에 의해 제거된 아질산염의 백분율로 나타내었다.

$$R(\%) = 1 - \frac{C - B}{A - B}$$

R : 아질산염 소거율

A : 1시간 반응후의 1 mM NaNO₂의 흡광도

B : 공시험구의 흡광도

C : 홍삼의 갈변물질 첨가구의 흡광도

결과 및 고찰

1. 항돌연변이원성

식품 중에 함유되어 있는 돌연변이 유발성 물질을 억제하기 위하여 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질에 대한 항

Table 1. Inhibitory effect of red ginseng WS-BRPs on antimutagenicities of *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100

Fraction	Concentration (µg/ml)	Inhibition(%)	
		TA 98	TA 100
L	100	38	30
	200	48	38
	400	61	56
S-1	100	31	28
	200	43	46
	400	56	52
S-2	100	29	23
	200	39	31
	400	49	45

돌연변이성을 확인하기 위해 quinoline계인 IQ에 대한 *S. typhimurium* TA 98 및 TA 100에 수용성 갈변물질을 100, 200 및 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도별로 처리한 후 revertant/plate수를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 즉, L 분획의 경우 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리시 TA 98 및 TA 100에서 각각 38% 및 30%로 억제하였으며, 400 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가했을 때 각각 61% 및 56% 억제하였다. S-1 분획의 경우 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리시 각각 56% 및 52%, 400 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가시 각각 31% 및 28%로 억제하였으며, S-2 분획은 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리시 각각 29% 및 23%, 400 $\mu\text{g/ml}$ 처리시 각각 49% 및 45%로 돌연변이원을 억제시켰다. 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 투석내액이 투석외액 물질 보다 억제능이 높은 것은 분자량이 높을수록 억제능 증가되는 것으로 사료된다.

한편, 갈색화 반응물질인 melanoidins 성분이 분자 중의 carbonyl기가 항돌연변이원성에 크게 관여하 것으로 보고¹⁾된 후 Yamaguchi 등¹⁵⁾은 이들 저분자 카르보닐 화합물의 돌연변이원성을 산화에 의해 생성되는 활성산소 중에 기인한다고 추정하여 catalase나 superoxide dismutase 및 cysteine이 각각 돌연변이원성 억제효과가 있다고 보고하였고, Yen 등¹⁶⁾은 glycine-glucose melanoidins을 분획별로 항돌연변이원성을 조사한 결과, nondialyzable melanoidin과 분자량 1,000 이상 분획에는 분명한 탈변이원성 효과가 있으나 분자량 1,000 미만의 분획에는 돌연변이 억제율이 저하되어 분자량이 큰 분획일수록 더 강한 특성을 나타내며 이들의 색깔정도, 환원력 및 항산화력 등과 desmutagenicity와는 상관성을 갖고 있다고 보고하였다. 특히, 인삼의 급성독성에 관한 연구결과에서 인삼의 물, 알코올 추출물 및 사포닌 성분의 LD₅₀는 경구투여시 5 g/kg body weight 이상으로 독성이 없다고 보고하였고,¹⁷⁾ Lee 등¹⁸⁾은 Ames test 결과 인삼 물추출물과 초산에틸분획이 DNA 염기쌍치환(base-pair substitution) 변이원성 균주인 *S. typhimurium* TA 98의 돌연변이를 유발시키지 않았다고 보고한 바 있다.

2. 아질산염 소거능

단백질 식품, 의약품 및 잔류농약 등에 함유되어 있는 2급 및 3급 아민과 아질산염이 반응하여 발암성 물질인 니트로사민 생성을 억제하기 위하여 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 아질산염 소거 유무를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 수용성 갈변물질의 아질산염 소거효과는 L, S-1 및 S-2에서는 각각 38.7%, 27.6% 및 15.9% 순으로 나타났으며 투석내액 갈변물질이 투석외액 갈변물질보다 아질산염 소거효과가 높았다. 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 투석내액 물질이 투석외액 물질 보다 아질산 소거능이 뛰어나 분자량이 높을수록 억제능 증가되는 것으로 사료된다. 김 등¹⁹⁾

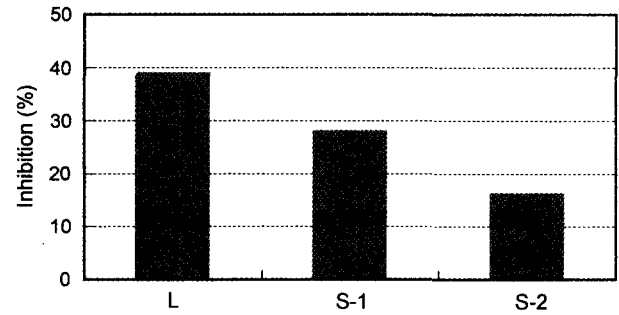


Fig. 1. Nitrite scavenging effect of red ginseng WS-BRPs.

은 glucose-아미노계 maillard 반응 생성물의 아질산염소거효과를 조사한 결과 소거효과를 갖는 물질은 melanoidin이라고 보고하였으며, 국내산 생약추출물의 아질산염 소거 효과와 전자공여능을 측정된 결과 황금에서 전자공여능과 아질산염소거능이 높았고, 황금에서 wogonin, wogonin-7-O- β -glucoside methyl ester 및 ganhuangein과 flavonone 화합물을 분리 동정하였다. 또한 도 등²⁰⁾은 기호음료성분의 아질산염소거능을 조사하여 전자공여능이 큰 물질이 아질산염소거효과도 높았다고 보고 하였으며, 특히 결명자의 에틸 아세테이트 추출물이 ascorbic acid의 10배의 소거능을 가지고 있다고 보고하였다.

이 등²¹⁾도 밤꽃의 아질산염 소거능을 조사한 결과 에틸아세테이트 추출물 77.2%, 물추출물이 75.2%의 소거능을 가지고 있어 본 실험에의 사용한 수용성 갈변물질의 아질산염소거능보다 약간 높았다고 보고하였다. 여러 연구자의 보고와 수용성물질 성분을 고려해 볼 때 아질산염 소거효과를 갖는 성분은 비효소적 갈변물질인 melanoidin 물질이 관여하는 것으로 생각된다. 그러므로 아질산염을 소거하므로 NO₂와 dimethylamine 등을 제거하여 N-nitrosodimethylamine의 생성을 근본적으로 제거할 수 있어 이들에 의한 돌연변이 작용을 방지할 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 Glatthaar 등²²⁾은 비타민 C가 N-nitroso 화합물들의 전구체들과 여러가지 암 유발물질들과의 상호반응에 의해 암의 생성을 억제하는 작용과 tumor promoters의 대사를 방해하는 작용, 세포면역성을 증가시키는 작용을 보고하였다.

요 약

고려홍삼에서 분리한 수용성 갈변물질의 생리기능적 특성 중 항돌연변이원성 및 아질산 소거능에 대한 결과는 다음과 같다.

수용성 갈변물질을 *Salmonella typhimurium*의 변이주인 TA 98과 TA 100을 이용하여 실험한 결과 투석내액과 투석외액 물질을 각각 400 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가 했을시 L분획 61%

및 55%, S-1분획 56% 및 52% 그리고 S-2분획 49% 및 45%로 억제하여 투석내액 갈변물질이 투석외액 갈변물질 보다 억제능이 높았다. 수용성 갈변물질의 아질산염 소거능을 실험한 결과 L분획 38.7%, S-1분획 27.6% 그리고 S-2분획 15.9%로 억제하여 투석내액 갈변물질이 투석외액 갈변물질 보다 억제능이 높았다. 따라서 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 투석내액이 투석외액 물질 보다 항돌연변이원성 및 아질산 소거능 조사에서 물질의 분자량이 높을수록 억제 능 증가되었다.

인용문헌

- Kim, S. B., Hayase, F. and Kato, H.: Proceeding of the 3th Intl. Sym. on the maillard reaction. *Susono Shizuoka, Japan*. p. 382 (1985).
- 김선봉, 김인수, 염동민, 박영호 : 한국식품과학회지 **20**, 119 (1988).
- 박건영, 이은숙, 문숙희, 최홍식 : 한국식품과학회지 **21**, 419 (1989).
- Peter, F. S. : *J. Sci. Food Agric* **26**, 176 (1975).
- Crosby, N. T. and Sawyer, R. : Advance in food research, Academic press. 21, 1. 1976.
- Mirvish, S. S. : *J. Nat. Cancer Inst.* **44**, 633 (1970).
- Arche, M. C. and Weisman, M. : *J. Nat. Cancer Inst.* **54**, 1203 (1975).
- Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. : *Agric. Biol. Chem.* **51**, 1333 (1987).
- Cooney, R. V. and Ross, P. P. : *J. Agric. Food Chem.* **35**, 789 (1987).
- 이종원, 도재호, 이성계, 심기환 : 고려인삼학회지 **22**, 193 (1998)
- 이종원, 고태룡, 심기환 : 한국식품영양학회지 **11**, 499 (1998)
- 이종원, 도재호, 심기환 : 고려인삼학회지 **23**, 176 (1999)
- Dorothy M. Maron and Bruce N. Ames. : *Mutation Reserarch* **113**, 173 (1993).
- Gray, J. I. and Dugan Jr, L. R. : *J. Food Sci.* **40**, 981 (1975).
- Yamaguchi, T. and Yamaguchi, Y. : *Agric. Biol. Chem.* **43**, 2225 (1979).
- Yen, G. C., Tai, L. C. and Li, J. D. : *Food Chem. Toxicol.* **31**, 127 (1992).
- 박기현, 남기열, 박화진 : 인삼연구보고서, 한국인삼연초연구소 (1992).
- Lee, I. P., Yun, H. C., Stammmer, I. and Langenbach, R. : *Proc. 4th Int. Genseng symp.* p. 75 (1984).
- 김선봉, 이동호, 염동민, 박진우, 박영호 : 한국식품과학회지 **20**, 453 (1988).
- 도정룡, 김선봉, 박영호, 박영범, 김동수 : 한국식품과학회지 **25**, 530 (1993).
- 이용수 : 경상대학교 박사학위논문 (1996).
- Glatthcar, B. E., Hornig, D. H, and Moser. U. : The role of ascorbic acid in carcinogenesis, Hoffmann-La Roche. Co. LTD., Switzerland (1987).