

홍삼사포닌의 일부 병원성미생물에 대한 생육억제 효과

곽이성# · 황미선 · 김석창 · 김천석 · 도재호 · 박채규

KT&G 중앙연구원 인삼과학연구소
(2006년 7월 15일 접수; 2006년 9월 14일 수리)

A Growth Inhibition Effect of Saponin from Red Ginseng on Some Pathogenic Microorganisms

Yi-Seong Kwak[#], Mi-Sun Hwang, Seok-Chang Kim, Cheon-Suk Kim, Jae-Ho Do and Chae-Kyu Park
KT&G Central Research Institute, Youseong-Ku, Daejeon 305-345, Korea
(Received July 15, 2006; Accepted September 14, 2006)

Abstracts : Saponin isolated from red ginseng was added to cultures of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in order to investigate saponin's influence on the growth of some pathogenic bacteria and yeasts. *S. aureus* and *C. albicans* were incubated at 38°C and 28°C for 5 days with 100 rpm after addition of 0.013, 0.125, 0.500 and 1.000% (w/v, final concentration) of saponin, respectively. After incubated for 1 day, 2 days or 5 days, pH and viable cell counts of the cultures were investigated. The both of pH of *S. aureus* and *C. albicans* were decreased in concentration-dependent manner. Viable cell counts after incubation of 5 days were 1.0×10^8 , 9.4×10^7 , 1.0×10^3 and 0 CFU/ml, respectively, when compared with 1.8×10^8 CFU/ml of saponin non-treated group. Especially, 1.0% concentration of saponin inhibited completely the growth of *S. aureus*. While, viable cell count in *C. albicans* somewhat lower values than that of saponin non-treated group, but the values not significant. These results suggest that ginseng saponin inhibit the growth of *S. aureus* in a concentration-dependent manner, but not the growth of *C. albicans*.

Key words : Red ginseng, saponin, growth inhibition, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

서 론

인삼을 포함한 생약재는 오래전부터 민간 전통요법이나 한방에서 이용되어 왔으며 국내 식품산업에서는 생약재를 그 자체 및 부원료로 사용하여 식품의 기호성 및 기능성을 부가시키는 재료로 이용하여 왔다. 현재 식품공전에서는 생약재를 식품으로 이용 가능한 생약재, 식품으로 최소량 사용 가능한 생약재, 사용이 불가능한 생약재 등으로 분류하고 있다. 하지만 최근 식품위생법과 식품공전이 개정되면서 많은 생약재들이 사용 가능하도록 허가되는 추세이다.¹⁾ 생약자원 중 대체로 많이 사용되는 것은 인삼, 당귀, 계피, 은행 등인데 인삼은 그 우수한 효능과 안전성으로 인해 꾸준히 사용되고 있으며, 우리나라뿐만 아니라 미국 및 일본 등에서도 생약자원

(herb) 중 그 사용량이 10위 안에 들 정도로 중요한 생약재이다.²⁾ 인삼사포닌은 인삼의 유효 및 지표성분으로 알려져 있으며 인삼이 포함된 생약복합제품에서 인삼의 첨가여부를 품질관리학적 (QC) 측면에서 확인하는 중요한 성분이다.

한편 최근에는 건강에 대한 관심증가로 홍삼 및 인삼엑스를 포함한 생약복합제 제조시 식품보존료를 첨가하지 않거나 천연보존료를 사용하는 추세이다. 따라서 식품보존료 무첨가 생약복합제품에 병원성 미생물이 오염되었을 경우 그 방제법 강구는 매우 중요한 실정이다. 그런데 남³⁾과 조 등⁴⁾은 인삼의 유효성분인 사포닌이 식품발효 미생물인 젖산균 및 식물병원성 곰팡이의 생육을 저해한다고 보고한 바 있으나, 인삼사포닌의 병원성 및 식품부패성 미생물에 대한 성장억제 효과에 대해서는 연구가 미진한 형편이다. 따라서 인삼제품제조 및 품질관리의 식품위생학적 측면에서 병원성 미생물에 오염되었을 경우 이의 방제법을 연구하기 위한 기초자료로서 일부 병원성 세균 및 효모의 성장에 미치는 인삼사포닌의 영

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-866-5535; (팩스) 042-866-5419
(E-mail) yskwak@ktng.com

향을 조사하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 홍삼사포닌의 분리 및 정량

홍삼사포닌은 수삼 (KT&G 중앙연구원 원료연구소 (수원), 2000년도 6년근)을 고려인삼창 (한국인삼공사 부여)에서 홍삼 물추출물을 제조한 후 Kim 등⁵⁾의 방법에 준하여 Diaion HP-20 수지흡착법을 이용하여 분리하였다. 분리된 사포닌은 시료의 일관성을 유지하기 위해 HPLC에 의하여 사포닌성분을 정량하였다. 실험에 사용한 홍삼사포닌은 추후 시료의 일관성을 유지하기 위해 HPLC를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석을 위해 시료 50 mg을 10 ml의 MeOH (HPLC 급, Sigma)에 용해시킨 후 여과 (0.45 µm) 하여 분석하였다. HPLC 분석은 Lichrosorb-NH₂ column(Merck, 10 µm, ID 0.46cm×25cm)에 acetonitril/water/*n*-butanol (80:20:10)을 이동상으로 하여 ELSD 로 검출하여 정량하였다.

2. 홍삼사포닌이 병원성 미생물의 성장에 미치는 영향

홍삼 사포닌이 일부 병원성 미생물의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 사포닌의 농도를 0.013%에서 1.0% 까지 달리하여 첨가한 후 5일 동안 배양하면서 배지의 pH 및 생균수를 측정함으로써 균의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 미생물은 KT&G 중앙연구원 보관중인 병원성 세균인 *Staphylococcus aureus* (ATCC65389) 및 병원성 효모 *Candida albicans* (IFO6258)를 사용하였다. 세균은 Nutrient agar (Difco Co., USA) 배지를 이용하여 100 rpm의 속도로 38°C

에서 5일 동안 배양하였고, 효모의 경우는 yeast extract-malt extract agar (Difco Co., USA) 배지를 이용하여 동일한 100 rpm의 속도로 28°C에서 5일 동안 배양하였다. 생균 수 측정은 인삼분말에 오염된 미생물 생균수를 측정한 Kwak 등⁶⁾의 방법에 따라 SPC 방법⁷⁾에 준하여 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 홍삼사포닌의 ginsenoside 함량 분석

실험에 사용된 홍삼사포닌의 ginsenoside 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 1에서와 같다. Ginsenoside-Rf, -Rb₁, -Rc, -Rb₂, -Rd는 각각 1.28±0.04, 2.14±0.03, 0.23±0.03, 0.18±0.03, 0.65±0.04, 0.14±0.04% 이었다. 또한 Rg₂의 이성체 (S) 및 (R) form은 각각 1.94±0.04, 1.83±0.05% 이었고, -Rg₃의 이성체 (S) 및 (R) form은 6.23±0.03, 2.08±0.03%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 시료의 total ginsenoside 함량은 16.69% 이었다.

2. 홍삼사포닌이 병원성 미생물의 성장에 미치는 영향

홍삼사포닌이 식중독균인 화농균 *Staphylococcus aureus*의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 사포닌의 농도를 0.013%에서 1.0% 까지 달리하여 첨가한 후 균의 성장을 측정된 결과, 대체적으로 배양시간이 증가할수록 그리고 사포닌 농도가 높을수록 균의 성장은 감소하는 경향이었다 (Table 2).

사포닌을 첨가하고 5 일 배양한 후 조사한 균액의 pH는 사포닌 무첨가군인 pH 8.55에 비해 조사포닌 농도 0.013,

Table 1. Determination of contents of ginsenosides by HPLC.

Ginsenosides ^{a)} (%)										Total
-Rf	-Rh ₁	-Rg ₂ (S)	-Rg ₂ (R)	-Rb ₁	-Rc	-Rb ₂	-Rd	-Rg ₃ (S)	-Rg ₃ (R)	
1.28±0.04	2.14±0.03	1.94±0.04	1.83±0.05	0.23±0.03	0.18±0.03	0.65±0.04	0.14±0.04	6.23±0.03	2.08±0.03	16.69

^{a)}Content is calculated by based on dry basis. Values is means±SD by three experiments.

Table 2. Effect of crude saponin from red-ginseng extract on the growth of *Staphylococcus aureus*.

Crude saponin (%)	pH (Final)	Viable cell counts (CFU/ml)			Growth rates ^{a)} (%)
		1 day	2 days	5 days	
None	8.55	3.9×10 ¹²	3.2×10 ¹⁰	1.8×10 ⁸	100.00
0.013	8.35	1.4×10 ¹⁰	1.1×10 ⁹	1.0×10 ⁸	55.56
0.125	7.80	8.4×10 ⁹	2.9×10 ⁸	9.4×10 ⁷	52.22
0.500	6.87	1.8×10 ⁴	4.0×10 ⁴	1.0×10 ³	0.001
1.000	6.34	1.9×10 ²	0	0	0

Initial pH of medium were adjusted at 7.0 to 7.5. Bacteria were incubated at 38°C with 100 rpm. ^{a)}Growth rates were relative percentages when compared with saponin non-treated group as 100% after incubation for 5 days.

0.125, 0.5, 1.0%에서 각각 8.35, 7.80, 6.87, 6.34로 농도가 증가할수록 pH가 감소하는 경향이였다. 사포닌의 농도를 달리하여 첨가하고 1 일 배양한 후 조사한 생균수는 사포닌 무첨가군은 3.9×10^{12} , 사포닌 0.013% 첨가군은 1.4×10^{10} , 0.125% 첨가군은 8.4×10^9 , 0.5% 첨가군은 1.8×10^4 , 1.0% 첨가군은 1.9×10^2 CFU/ml로 사포닌 농도가 증가할수록 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타내었으며 2 일 배양 및 5 일 배양에서도 유사한 경향이였다. 5 일 배양한 후 사포닌 무첨가군의 성장률을 100%로 놓았을 때 상대적으로 계산된 균의 성장률은 사포닌 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 첨가군에서 각각 55.56, 52.22, 0.001, 0% 이였다(Table 2). 이것을 저해율로 환산하면 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 사포닌 첨가군은 각각 44.44, 47.78, 99.99, 100%로 나타나서 사포닌 농도가 증가할수록 대체로 균의 성장억제 정도가 증가하였으며 사포닌 0.5% 이상의 농도에서는 균의 생육은 거의 억제되는 것으로 확인되었다.

한편 병원성 효모 *C. albicans*의 성장에 미치는 사포닌의 영향을 조사한 결과 pH의 변화는 초기 pH 6.17 - 6.41에서 5 일 동안 배양한 후 최종 pH는 5.60 - 5.97로 약간 감소하는 경향을 나타내었다 (Table 3). 사포닌을 첨가하고 5 일 배양한 후 측정된 생균수는 무첨가군의 경우는 8.0×10^7 CFU/ml 인데 반해 사포닌 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 첨가군에서는 각각 4.0×10^7 , 4.0×10^7 , 3.0×10^7 , 2.0×10^7 CFU/ml로 약간씩 감소하는 경향을 나타내었다. 생균수는 사포닌 무첨가군을 100%로 놓고 각 첨가군과 비교한 성장률로 나타내었을 경우 사포닌 첨가군 0.013, 0.125, 0.5, 1.0%은 각각 50.0, 50.0, 37.5, 25.0%을 나타내었다.

*C. albicans*도 *S. aureus*의 경우와 마찬가지로 사포닌 첨가농도가 증가할수록 성장률이 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 5 일 배양한 후 조사한 최종 생균수는 무첨가군 8.0×10^7 CFU/ml에 비해 모두 $2.0-4.0 \times 10^7$ CFU/ml 수준으로 비교적 생균수가 높은 수치를 나타내어 *S. aureus*와 같은 뚜렷한 농도의존성은 보이지 않는 경향이였다. 이러한

결과로부터 홍삼엑스로부터 분리한 홍삼사포닌은 병원성 효모 *C. albicans* 보다는 병원성 세균 *S. aureus*의 성장을 더욱 크게 억제한다는 사실을 알 수 있었다.

남³⁾은 젖산균 (lactic acid bacteria)의 성장은 인삼사포닌 1.99% 이상의 농도에서 저해되었고, 이는 사포닌이 젖산균의 유도기를 길게 하고 젖산균의 최고 산도 (activity)에 도달하는 시간을 길게 하기 때문이라고 보고하였다. 그러나 사포닌 이외의 다른 성분들과 함께 존재하는 상태로 첨가하는 경우 그 저해효과는 약해진다고 보고한 바 있다. Kwak 등⁸⁾은 인삼사포닌이 오염된 인삼분말로부터 분리된 *Enterobacter* sp.의 성장을 저해시키며 이러한 사포닌의 저해현상은 살균효과 보다는 정균효과일 것이라고 보고한 바 있다. 또한 Park 등⁹⁾은 인삼근부병원균인 *Fusarium solani*와 *Erwinia carotovora*의 성장 및 포자발아에 미치는 인삼사포닌의 영향을 조사한 결과 *F. solani*의 대형분생포자의 발아율은 사포닌의 농도가 증가함에 따라 억제되었으며 500 ppm 이상 첨가시 현저히 억제되었지만 *E. carotovora*의 성장은 반대로 촉진되었다고 보고한 바 있다. 조 등⁴⁾도 곰팡이 *Fusarium solani*의 성장은 인삼사포닌 0.001% 이상의 농도에서 저해되었고 이는 사포닌이 곰팡이 세포막 성분에 존재하는 sterol과 복합체를 형성하여 세포막기능을 저해함으로써 성장을 억제하는 것으로 추정된 바 있다. 이상의 결과에서는 인삼사포닌의 미생물 성장저해 농도는 젖산균보다는 병원성세균 및 곰팡이에서 더욱 크며, 같은 곰팡이 일지라도 균종에 따라 큰 차이를 보이는 것으로 추정해 볼 수 있겠다. 본 실험에서는 식품병원성효모인 *C. albicans* 및 병원성세균 *S. aureus*의 성장률을 비교한 결과 홍삼사포닌이 0.013% 이상의 농도에서는 *C. albicans*보다 *S. aureus*의 성장을 크게 저해하는 것으로 나타났다. 따라서 병원성 효모 보다는 세균에 대해 더욱 큰 저해효과를 보이는 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면 기타 영양성분이 혼합되지 않은 상태의 배양액에 홍삼사포닌을 0.013% 이상 첨가하면 오염된 병원성 세균 *S. aureus* 증식을 크게 방지할 수 있을 것

Table 3. Effect on the growth of *Candida albicans* by saponin of red-ginseng extract.

Saponin (%)	Viable cell count (CFU/ml)		Growth rates ^{a)} (%)	pH	
	1 day	5 days		Initial	Final
None	4.0×10^7	8.0×10^7	100.0	6.17	5.97
0.013	4.0×10^7	4.0×10^7	50.0	6.41	5.83
0.125	3×10^7	4.0×10^7	50.0	6.37	5.63
0.500	5×10^7	3.0×10^7	37.5	6.37	5.64
1.000	4×10^7	2.0×10^7	25.0	6.22	5.60

The yeast was incubated at 28°C with 100 rpm. ^{a)}Growth rates were relative percentages when compared with saponin non-treated group as 100% after incubation for 5 days.

으로 생각된다. 그러나 생약복합제품에 당, 단백질 등 사포닌의 작용을 방해하는 기타 성분이 다량 혼합되어 있을 경우에는 균의 성장을 억제하기위해서 그 이상의 농도를 필요로 할 것으로 사료된다. 추후 인삼사포닌에 의한 미생물의 성장저해 기작 및 균종에 따른 성장억제율 차이 등은 좀 더 상세하고 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

본 연구는 홍삼엑스로부터 분리된 홍삼사포닌이 일부 병원성 미생물 *Staphylococcus aureus* 및 *Candida albicans*의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 사포닌의 농도를 달리하여 첨가하고 5 일 동안 배양한 후 측정된 *S. aureus*의 pH는 사포닌 무첨가군 pH 8.55에 비해 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 첨가군에서 각각 8.35, 7.80, 6.87, 6.34로 사포닌 농도가 증가할수록 pH는 감소하는 경향을 나타내었다. *S. aureus*의 성장에 미치는 사포닌의 영향을 조사한 결과 사포닌 무첨가군의 성장률을 100%로 놓았을 때 상대적으로 계산된 균의 성장률은 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 첨가군에서는 각각 55.56, 52.22, 0.001, 0%로 나타나서 사포닌 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 균의 성장이 강하게 억제되는 경향을 나타내었다. 특히 조사포닌 0.5% 이상의 농도에서는 균의 생육은 완전히 억제되었다. 한편 병원성 효모인 *C. albicans*의 pH도 사포닌 무첨가군 pH 5.97에서 사포닌 첨가시 pH 5.83-5.60으로 약간씩 감소하는 경향이였다. 각 첨가군과 성장률을 비교하였을 경우 사포닌 0.013, 0.125, 0.5, 1.0% 첨가군은 각각 50.0, 50.0, 37.5, 25.0%의 성장율을 나타내어 *S. aureus*와 마찬가지로 사포닌 첨가농도가 증가할수록 성장률이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 *C. albicans*의 생균수는 무첨가군 8.0×10^7 CFU/ml에 비해 사포닌 첨가군 모두에서 $2.0-4.0 \times 10^7$ CFU/ml 으로 무첨가군에 비해

서는 낮은 수준이었지만 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 따라서 사포닌은 0.013% 이상의 농도에서 병원성효모 *C. albicans* 보다는 세균인 *S. aureus*의 성장을 크게 억제하였으며, 이러한 결과로부터 홍삼사포닌은 진균류인 효모보다는 세균에 대해 더욱 큰 생육저해효과를 나타낸다는 사실을 알 수 있었다.

인용문헌

1. 이상윤: 식품산업에서 생약자원의 활용과 전망. 식품산업과 영양 5(3), 21-26 (2000).
2. 이진만, 이상한, 김환목: 약용식품으로 한약재의 이용. 식품산업과 영양 5(1), 50-56 (2000).
3. 남성희 : 인삼성분이 초산발효에 미치는 영향에 관한 연구. 고려대학교 석 사학위 논문. p. 27-30 (1979).
4. 조대휘, 오승환, 유연현, 유태종 : *Fusarium solani*와 *Phytophthora cactorum*이 고려인삼의 사포닌 성분변화에 미치는 영향. *J. Ginseng Res.* 10(1), 180-189 (1986).
5. Kim, S.K., Kwak, Y.S., Kim, S.W., Hwang, S.Y., Ko, Y.S. and Yoo, C.M : Improved method for the preparation of crude ginseng saponin. *J. Ginseng Res.* 22, 155-160 (1998).
6. Kwak, Y.S. and Chang, J.K. : Effect of various sterilization methods on growth of microorganism contaminated in ginseng powder. *J. Fd Hyg. Safety.* 16(3), 221-226 (2001).
7. Beach, F.W. and Davenport, R.R. : *Methods in Microbiology.* Vol.4, pp.153, Academic Press London and New York (1971)
8. Kwak, Y.S., Lee, J.T and Yeo, W.H. : An identification of *Enterobacter* sp. isolated from contaminated ginseng and inhibition effect of ginseng saponin on its growth. *J. Fd. Hyg. safety.* 17(1), 26-30 (2002).
9. Park, C.S. and Ohh, S.H. : Effect of crude ginseng saponin and raw ginseng juice on the growth of ginseng root rot organisms, *Fusarium solani* and *Erwinia carotovora*. *Korean J. Pl. Prot.* 20(1), 1-5 (1981).