



생물전환(Bio-Conversion) 기술을 이용한 인삼사포닌 가공 Ginseng Saponins Processing by using Bio-Conversion Technology

김재광

(주)후드윈 바이오식품연구소

Chi Kwang Kim

Bio & Food Research Institute FOODONE CO.,Ltd

생물전환반응(bioconversion)이란 생체의 기능 또는 생체가 가지고 있는 생촉매의 기능을 이용하여 새로운 신생물 제품을 생산하거나, 기존 화학합성공정에 의해 합성 및 생산되고 있는 기존 화학제품을 신생물 제품으로 대체하고자 하는 기술을 말하며, 인간과 환경을 고려한 신기술 및 대체기술 그리고, 청정기술을 의미한다. 따라서, 생체 및 생촉매의 기능을 활용하여 의약품, 의약품 원료물질, 비타민, 유용 아미노산, 인지질, 식품 원료, 농업용 화학제품 등을 포함한 다양한 화학 제품을 생산해 낼 수 있는 생물산업의 꽃이라 할 수 있다.

Panax ginseng C.A. Meyer는 두릅나무과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)식물에 속하는 다년생 반음지성 속근초로서 2,000여년 전부터 아시아, 러시아를 비롯하여 심지어 유럽에서도 진귀한 약재로 광범위하게 사용되어 왔다. 인삼에는 인삼사포닌, 지용성 성분, 합질소화합물, 탄수화물, 비타민 등 다양한 성분들이 존재한다. 대부분 인삼사포닌은 구조적으로 triterpenoid dammarane 골격에 glucose, arabinose, xylose, rhamnose 등 당이 결합되어 생성된 배당체로서 인삼의 가장

중요한 약리활성 성분으로 인정되고 있고, 항암, 간기능 보호, 항당뇨, 항산화, 면역기능증강, 혈관확장, 항피로와 항스트레스 등의 효능을 나타낸다고 한다. 배당체 화합물들은 함량과 분포상에서 가장 많은 천연물이고, 식물유래 의약품 중 terpenoid 다음으로 많이 사용되는 천연물질이다.

인삼사포닌은 자연계에 존재하난 배당체 화합물과 마찬가지로 major 사포닌의 당 가수분해에 의하여 만들어진 minor 사포닌이 major 사포닌에 비하여 흡수나 약효 등 면에서 훨씬 뛰어난 효과를 나타낸다고 한다.

인삼사포닌은 인삼의 가장 대표적인 약리활성 성분으로 화학공학기술의 발전에 따라 인공적인 합성을 위한 연구가 무수히 수행되었으나 성공하지 못하고 있는 실정이다. Minor 인삼사포닌은 주로 화학적, 물리학적, 미생물학적이거나 효소학적 방법으로 기존에 대량 존재하는 major 인삼사포닌의 변형을 통하여 사용되고 있다.

현재 인삼산업은 기존의 뿌리삼을 주재료로 하던 것을 각종 가공법에 의하여 효능이 증가된 고부가가치 인삼제품을

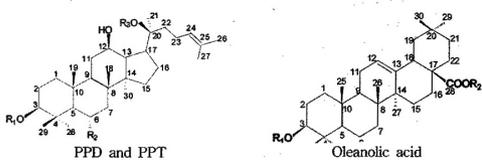


Corresponding author : Chi Kwang Kim
Bio & Food Research Institute FOODONE CO.,Ltd
4 Taesaeng-ri Daeso-myeon, Eumseong-gun,
Chungbuk, 369-824, Korea
Tel : +82-43-883-1341
Fax : +82-43-883-1348
E-mail : kimchikwang@paran.com

출시하고 있다. 가장 원조격으로 생각되는 홍삼은 증삼하여 말린 것으로 보관의 용이성도 있지만 열처리에 의하여 특수성분이 변환되어 더욱더 많은 효과를 내기 때문이다. 또한 인삼 산업은 각종 미생물을 이용한 발효처리 등을 통한 사포닌을 전환시킴으로서 더욱더 효능이 증가된 인삼제품을 출시하고 있다.

1. 인삼사포닌의 분류

인삼사포닌은 ginsenoside라고 불리우며, triterpenoid인 oleanane 계 사포닌과 dammarane type 사포닌으로 분류되며, dammarane type 사포닌은 구조특징에 근거하여 다시 protopanaxadiol 계 사포닌(PPD)과 protopanaxatriol 계 사포닌(PPT)으로 분류된다. protopanaxadiol 계 사포닌은 C-3, C-12, C-20에 수산기가 결합되어 있는 것으로 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Rg₃, F₂, Rh₂, compound K(C-K), protopanaxadiol 등이 포함되고, protopanaxadiol 계 사포닌은 C-3, C-6, C-12, C-20에 수산기가 결합되어 있는 것으로 ginsenoside Re, Rg₁, Rg₂, Rf, Rh₁, F₁, protopanaxadiol등 사포닌이 포함되며, ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 등 6종 사포닌이 백삼과 홍삼 중 전체 인삼사포닌의 90% 이상을 차지하고 있다.



Ginsenosides		R ₁	R ₂	R ₃
PPD Type	Rb ₁	-Glc-Glc	-H	-Glc-Glc
	Rb ₂	-Glc-Glc	-H	-Glc-Ara (p)
	Rc	-Glc-Glc	-H	-Glc-Ara (f)
	Rd	-Glc-Glc	-H	-Glc
	F ₂	-Glc	-H	-Glc
	(R, S)-Rg ₃	-Glc-Glc	-H	-H
	(R, S)-Rh ₂	-Glc	-H	-H
PPT Type	Compound K	-H	-H	-Glc
	(R, S)-Protopanaxadiol	-H	-H	-H
	Re	-H	-OGlc-Rha	-Glc
	Rf	-H	-OGlc-Glc	-Glc
	Rg ₁	-H	-OGlc	-Glc
	F ₁	-H	-H	OGlc
Oleanane Type	(R, S)-Rg ₂	-H	-OGlc-Rha	-H
	(R, S)-Rh ₁	-H	-OGlc	-H
	(R, S)-Protopanaxatriol	-H	-OH	-H
Oleanane Type	Ro	-GlcUA-Glc	-Glc	-

그림 1. 인삼 사포닌 분류

2. Ginsenoside와 미생물 대사

Ginsenoside(인삼사포닌)를 사람이 섭취했을 때 장내세균이 분비하는 효소의 작용으로 glycoside 결합은 끊어지고 체내로 흡수되어 혈액 이동을 통해 약리 효과를 나타내게 된다. 그러나, 식습관, 약물섭취, 스트레스 등으로 개개인에 따른 장내 환경이 판이하게 다르며, 그에 따라 배당체를 대사시킬 수 있는 능력 또한 사람마다 다르다. Yim 등은 실질적으로 같은 양, 같은 조성의 ginsenosides를 섭취했다 해도 그 대사되는 정도가 다르다는 것을 조사를 통해 입증하였다. 그러므로 이러한 이유로 인삼을 섭취 후 나타나는 효과의 정도가 개개인에 따라 차이가 생길 수 밖에 없음을 추정할 수 있다.

일본의 Kobashi 교수 연구팀은 Ginsenosides가 장내 미생물에 의해 다사되는 과정을 도식화한 것이다. 장내 미생물은 이들 배당체를 기질로 하는 β-glucosidase 효소를 생산함으로써 기질이 되는 배당체의 glycoside 결합을 끊어서 ginsenosides Rb₁을 F₂, C-K와 protopanaxadiol까지 분해한다. PT계 역시 미생물이 생산하는 효소의 작용을 받아 Re에서 Rg₁과 Rh₁을 거쳐 기본 골격인 protopanaxatriol로 분해된다.

그림 2는 PD계의 ginsenosides가 장내 미생물에 의해 다사되는 과정을 도식화한 것이다. 장내 미생물은 이들 배당체를 기질로 하는 β-glucosidase 효소를 생산함으로써 기질이 되는 배당체의 glycoside 결합을 끊어서 ginsenosides Rb₁을 F₂, C-K와 protopanaxadiol까지 분해한다. PT계 역시 미생물이 생산하는 효소의 작용을 받아 Re에서 Rg₁과 Rh₁을 거쳐 기본 골격인 protopanaxatriol로 분해된다.

한 연구에선 흰쥐에 ginsenosides Rb₁을 경구투여하면 혈액과 소변 중에는 Rb₁의 농도가 증가하는 대신 이의 대사체인 C-K가 증가한다고 보고하였고, 그 외에도 ginsenosides를 경

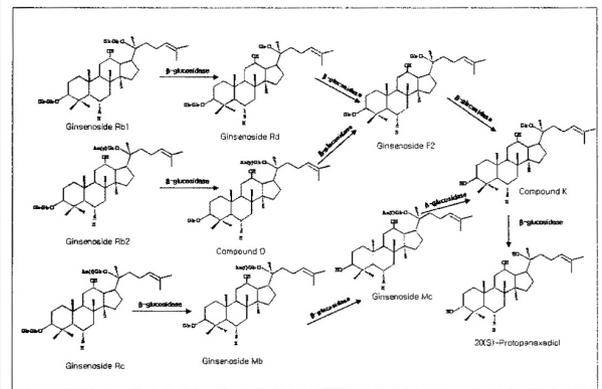


그림 2. 장내 미생물에 의한 PD계 ginsenoside의 대사



구 투여한 실험을 통해 실제 흡수되서 약효를 나타내는 ginsenosides는 비극성이 큰 배당체의 형태임을 밝힌 바 있다. 그러나 김 등의 연구에 의하면 98명 한국인의 장내 미생물로 Rb1을 대사 시켰을 때, 그 중 20% 가량의 조사 대상자가 ginsenosides의 대사 능력이 없거나 현저히 떨어지는 것으로 보고한 바 있다. 이렇듯 개인에 따른 유효 약리 성분의 대사 정도가 다양하기 때문에 효능 발현의 차이도 다양해지는데, 약효 발현을 위해 발효기법을 도입하면, 이미 발효에 의해 흡수가 용이한 비극성 대사체의 형태로 ginsenosides 조성을 바꾼 홍삼을 먹음으로 약효 발현의 개인차는 줄고 발현 정도는 극대화시킬 수 있다는 가설이 가능해진다.

3. Bio-conversion에 의한 인삼사포닌(변환사포닌)의 효능

인삼사포닌은 암세포의 사멸과 암세포의 분화촉진, 신생혈관형성 억제, 암세포 침윤억제 및 신체 면역력 증가와 암세포로 하여금 항암제에 대한 민감성을 높이는 등 다양한 방법으로 항암 및 항암전이 효과를 나타낸다.

일찍이 Odashima 등은 ginsenoside Rh₂는 체외에서 폐암세포, B-16 악성세포와 HELA의 증식을 억제한다고 보고하였고, Park 등과 Tatsuka 등은 ginsenoside Rh₂가 암세포의 사멸을 유도하고, Kim 등은 ginsenoside Rh₂와 Rh₁에서 암세포의 분화를 유도한다고 보고하였다. Park 등은 ginsenoside Rh₂와 Rh₁이 암세포의 침윤에 중요한 역할을 하는 MMP-9 유전자의 발현을 현저하게 감소시켜 항암전이 효과를 나타낸다고 보고하였고, Lee 등은 compound K가 체외에서 백혈병, 폐암세포,

위암세포, 간암세포의 증식 억제효과 및 골수암세포의 사멸 유도효과를 보고하였고, Jin 등은 protopanaxadiol의 HeLa 암세포 증식 억제 효과에 대해서 보고하였다. Tao 등은 ginsenoside Rg₃가 신생혈관형성 억제를 통하여 위암의 생장과 암전이 억제작용을 한다고 보고하였다. 또한 면역기능 증강에 대한 연구도 진행되었는데, Wang과 Meng은 마우스에 ginsenoside Rg₃를 처리하여 면역기관의 중량, 혈청 중 hemolysis의 농도, 림프세포 증식, NK 활성 등의 측정을 통하여 면역기능 증강 작용을 확인하였고, Xu 등, Gao 등, Zhang 등은 ginsenoside Rg₃가 암세포로 하여금 방사선치료약물에 대한 민감성을 높이고 신체 면역력을 증가시켜 수명을 연장시키고 삶의 질을 향상시킨다고 보고하였고, Guo 등은 ginsenoside Rh₂의 구조수식을 통하여 합성한 유도체물질의 농도에 따라 마우스 B 림프구 세포의 증식을 현저하게 촉진하고, NK세포의 살상작용을 월등하게 증가시키며, 대사기능을 증가시켰다고 보고하였다. 특히 변환사포닌의 신경보호작용 및 기억개선효과도 보고되었는데, Li 등은 ginsenoside Rg₂가 항산화와 glutamate 유발 신경세포손상을 현저하게 감소시킨다고 보고하였고, Kim 등은 homocysteine에 의해 유발된 마우스 해마신경세포의 흥분독성에 대한 ginsenoside Rg₃의 신경보호작용을 보고하였으며, Tian 등, Park 등은 ginsenoside Rg₃와 Rh₂가 뇌 허혈로 인한 쥐의 뇌손상에 대하여 신경보호작용을 한다고 보고하였다. 또한 Zhang 등은 ginsenoside Rg₃의 알콜로 인한 기억감퇴 개선효과를 보고하였고, Li 등은 ginsenoside Rg₂의 치매 치료효과를 보고하였다. 이외에 compound K, ginsenoside Rh₂, Rh₁ 등은 항알러지 작용을 나타내고, ginsenoside Rg₃ 혈소판 응집억제 효과, 대동맥 혈류

표 1. Ginsenoside의 암세포 독성효과

	EC50(mM)							
	혈청함유 배지				혈청 비(非)함유 배지			
	A549	P388	HeLa	HepG2	A549	P388	HeLa	HepG2
Compound K	27.9	31.6	27.1	28.8	0.1	-	0.1	0.6
Ginsenoside Rh2	>50	37.6	>50	>50	3.4	-	0.7	7.
Ginsenoside Rh3	>50	>50	>50	>50	28.9	-	>50	>50
Ginsenoside Rh1	>50	>50	>50	>50	>50	-	>50	>50
Ginsenoside Rh2	>50	>50	>50	>50	>50	-	>50	>50

개선효과, 항주름 효과 등 다양한 효능 연구를 찾아볼 수 있다.

표1은 발효 전후에 인삼으로부터 분리한 ginsenosides의 암세포 증식 억제 효과를 관찰한 실험의 연구결과이다. 대사 전의 ginsenosides인 Rb1과 Rb2의 경우, 암세포의 수를 줄이는데 크게 기여하지 못했으나, 대사 후의 ginsenosides Rh2나 C-K를 첨가 했을 때는 암세포의 수가 현저하게 감소되는 효과를 보여주고 있다. 이는 기존에 암을 유발한 동물 실험에서 ginsenosides를 섭취시켜 나타난 항암효과가 대사 전의 ginsenosides가 아닌 그 대사체에 의해 나타남을 추측할 있다.

4. Bio-conversion기술을 이용한 인삼사포닌의 장점

인삼, 홍삼 성분의 고분자 및 배당체 형태를 저분자화 하고 비배당체로 전환시켜 흡수율을 높이고, 독성은 낮추며, 생리활성을 높임으로 인체 내에서 활용되어, 체력증진, 원기회복, 자양강장, 혈행 개선등에 도움을 줄수 있다.

특히, 인체에 무해한 균주를 이용하여 과학적인 방법으로, 기존의 재래식 증숙방법과는 달리 사포닌의 성분전화를 표준화 하였다. 특히 재래식 증숙방법에서는 많이 전환되지 않는 Compound K, Rh1, Rh2등의 minor 인삼사포닌성분은 최근 국제적인 논문에서도 그 유용성이 높은 것으로 많이 알려져 있으며, Bio-conversion을 이용한 방법에서는 그러한 유용성이 높은 minor 인삼사포닌이 많이 생성되는 것을 알 수 있다.

5. 인삼사포닌의 전환방법

인삼사포닌은 구조적으로 당부분과 비당부분 즉 비당체 부분으로 나뉘며 ginsenoside Ro를 제외한 기타 인삼사포닌의

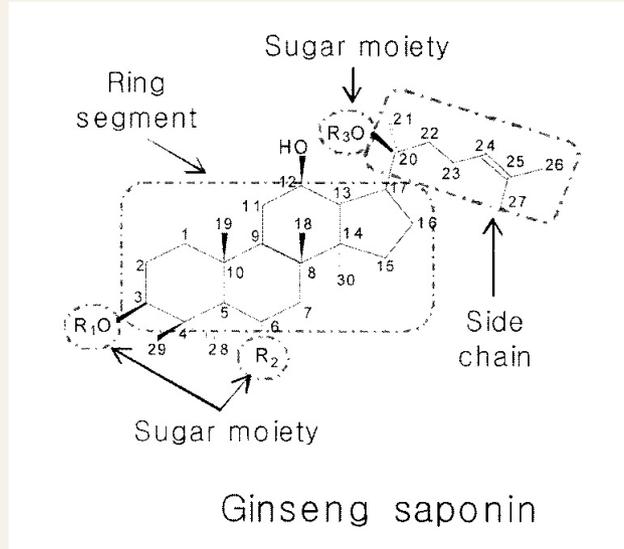
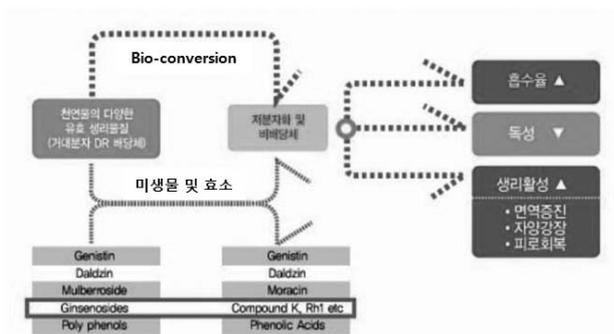


그림 3. 진세노사이드 일반구조

비당부분은 다시 4환성 고리부분과 측쇄부분으로 나눌 수 있다(그림3).

인삼 사포닌의 당부분에는 주로 glucose, arabinose, xylose, rhamnose 등 당이 ether 결합을 하고 있고 당과 aglycone의 결합에는 glc(1-3)C, glc(1-6)C, glc(1-20)C 결합이 포함되고 당과 당사이의 결합에는 glc(2-1)glc, glc(6-1)glc, glc(6-1)ara, glc(6-1)rha, alc glc(6-1)xyl 등 결합이 포함되어 있으며, 측쇄 부분에는 이중결합이 포함되어 있다. 인삼사포닌의 구조에 있어서 고리부분은 상대적으로 화학적 성질이 안정한데 비해, 당부분과 측쇄 부분은 모두 화학반응이 잘 일어나는 부위로 minor 인삼사포닌 생산에서 특히 측쇄부분에 의한 부반응 감소가 중요하다.

5-1. 산에 의한 인삼사포닌 전환

산에 의한 가수분해는 인삼사포닌의 전환에서 가장 많이 사용되는 방법 중의 하나로 인삼사포닌은 산의 촉매작용 하에서 쉽게 당 가수분해가 일어난다.

6종 major 인삼 사포닌에는 ginsenoside Rg₁을 제외하고 3개 혹은 3개이상의 당이 결합되어 있으며, 당의 종류, 위치 및 당과 당사이의 결합방식이 서로 다를 뿐만 아니라 측쇄부분에는 반응성이 아주 높은 이중결합을 함유하고 있다. 화학촉매는 효소의 촉매작용과 달리 한 가지 촉매가 많은 유형의 반응

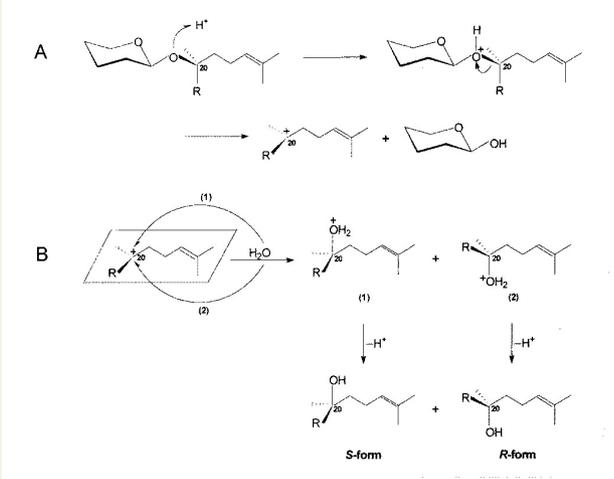


그림 4. 진세노사이드 산 가수분해도(A: 카르보양이온 형성처리, B: 친핵성일부자 반응)

을 촉매할 수 있다. 따라서 major 인삼사포닌에 산을 처리하면 당의 가수분해 반응에 의하여 다양한 인삼사포닌으로 전환될 뿐만 아니라 이중 결합에 의해 쉽게 첨가반응, 산화반응, cyclization 등 부반응이 일어날 수 있고, C-20에 연결된 강이 전부 가수분해 되어 수산기로 치환이 될 경우 쉽게 epimerization 반응 및 탈수 반응이 일어나 사포닌의 선택적 가수분해에 매우 큰 어려움을 준다.

5-2. 염기에 의한 인삼사포닌 전환

염기에 의한 인삼사포닌의 가수분해는 전형적인 친핵성 2 분자반응이 특징이지만 당부분에서 입체구조의 반전이 생기고 인삼 사포닌은 입체구조를 그대로 유지시켜 S-form만 생성이 된다(그림 5).

염기 가수분해는 산 가수분해에 비하여 측쇄에 의한 cyclization, epimerization 등 부반응을 많이 감소시킬 수 있지

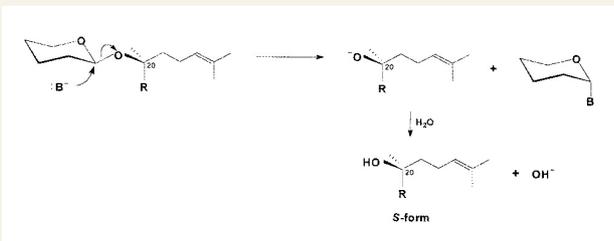


그림 5. 진세노사이드 염기가수분해도

만, 높은 반응온도, 고농도의 강염기를 필요로 하므로 가수분해산물 뿐만 아니라 측쇄에 의한 기타부반응(탈수반응, 산화반응 등)이 많이 진행되어 가수분해의 선택성이 떨어지는 동시에 환경오염을 유발시킬 수 있다.

5-3. 효소와 미생물에 의한 인삼사포닌 전환

효소는 단백질의 일종으로서 생체내에서 일어나는 각종 화학반응을 촉매하는 역할을 한다. 효소는 화학적 촉매의 비특이적 특성, 즉 한 분자내에서 많은 반응을 동시에 촉매하여 부산물을 많이 형성하는 성질과는 달리 정해진 물질 혹은 그것과 유사한 구조를 가진 물질에만 특이적으로 작용하여 높은 반응선택성을 나타내는 동시에 상온과 상압 및 중성에 가까운 pH에서 반응을 진행할 수 있어 높은 효율성을 나타낸다.

β -glucosidase는 당을 가수분해하는 효소로 주로 아래와 같은 두가지 가수분해 기작, 즉 구조반전(inversion, 그림 6A)과 구조유지(retention, 그림 6B)의 방식에 따라 반응을 촉매한다.

β -glucosidase의 촉매활성부위는 두 개의 카르복실기로서 두 작용기 사이의 거리가 약 10 Å 일 때에는 inversion 기작의 형식으로 가수분해가 일어나고 거리가 약 5.5 Å 일 때에는 retention 기작의 형식으로 가수분해를 진행한다. 효소에 의한 당의 가수분해에서 구조유지와 구조반전은 염기가수분해와 마찬가지로 모두 당 부분에서 일어나고 비당체 부분은 원래의 구조를 유지한다.

효소에 의한 인삼사포닌의 전환은 직접 미생물을 사용하거

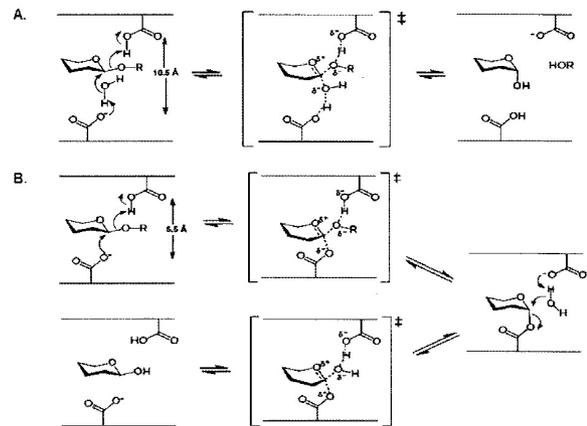


그림 6. 진세노사이드 효소가수분해도

나 또는 미생물로부터 분리한 효소를 이용하여 미생물은 주로 곰팡이나 세균, 그중에서도 장내세균에 의한 전환이 많이 연구되어오고 있다.

6. 인삼사포닌 전환에 이용되는 미생물 균주들

일반적으로 인삼사포닌 전환에 이용되는 미생물은 크게 세균류와 진균류(담자균과 자낭균류)로 나눌 수 있다. 최소한의 안전성 확보 차원에서 발효에 이용되는 세균은 주로 유산균이나 *Bacillus sp.* 등과 같이 사람이나 발효식품 유래의 종류들이, 진균류로는 황국균 등과 같이 발효 식품 유래의 곰팡이나 식용 버섯의 균사들이 주로 사용되고 있다. 발효 미생물로서 세균의 가장 큰 장점은 다른 미생물에 비해 발효에 걸리는 시간이 짧고, 단세포 생물체로서 비교적 생활사가 간단하다는 것이다. 실제로 현재까지 발효실험에 이용되는 균주의 대부분이 유산균류인 것도 같은 맥락에서 이야기 되어 질수 있다. 현재 생활사가 비교적 간단하여 품질관리가 용이하고 발효시간이 짧게 걸리는 세균류에 대한 연구가 중점적으로 이뤄지고 있으나 일부 진균류를 이용한 발효인삼의 효능 평가도 검토된 바 있다. 또한 국내 특허에서 살펴보면 인삼과 번데기를 혼합한 배지에서 동충하초를 배양하는 기술, 상활버섯 균사 배양을 통한 ginsenosides 조성 전환기술을 찾아볼 수 있다.

그러나, 진균류의 경우, 발효에 걸리는 시간이 길고, 특히 버섯류의 경우 자실체로 ginsenosides 성분이 전이되는 확률이 극히 낮은 것으로 알려져 있어 버섯균을 이용한 연구는 균사체 위주로 진행되고 있다. 진균 특히 버섯균사를 이용한 발효는 빠른 결과를 얻을 수 있는 세균을 이용한 연구와는 달리 배양 시간은 오래 걸리나 버섯이 갖는 효능 성분까지도 함유시킬 수 있어 더욱 복합적인 소재를 만드는 일이 가능할 수도 있다. 그러나, 균사에 대한 식용여부가 불투명한 종이 많으므로 안전성에 대한 검증이 재고되어야 한다.

7. 효소 및 미생물에 의한 인삼사포닌 전환 메커니즘

Cheng 등은 인삼발 토양으로부터 분리한 A균주로 ginsenoside Rb₁을 Rd, F₂, compound 로 전환시켰고, Son 등은 B균주로 ginsenoside Rb₁을 ginsenoside Rd로 전환시켰다.

Hasegawa 등은 장내 C균주로 ginsenoside Rb₁이 compound K로 전환되는 것을 발견하였으며, Sung 등은 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rg₁이 장내 D균주에 의해 각각 ginsenoside Rb₁ → Rd → F₂ → compound K, Rb₂ → compound O ⇒ compound Y → compound K, ginsenoside Rc → Mc₁ → MC → compound K(그림 7) 순으로 분해된다고 보고하였으며, Shin 등은 장내 E균주를 이용하여 ginsenoside Rg₅를 Rh₃로 전환시켰다. 또한 Bae 등은 20(S)- 및 20(R)-Rg₅를 장내 F균주로 각각 20(S)- 및 20(R)-Rh₂로 전환시켰고, Choi 등은 장내 G균주를 이용하여 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc를 Rd, F₂를 거쳐 compound K로, ginsenoside Re는 Rg₅를 거쳐 Rh₁으로 전환된다고 보고하였다. 곰팡이에 의한 인삼 사포닌의 전환에서 Kim 등은 H균주의 효소를 이용하여 ginsenoside Rb₁을 Rd로 전환하였고, Yu 등은 I균의 multi-glucosidase를 이용하여 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd를 모두 F₂를 거쳐 compound K로 전환시키는 동시에 ginsenoside Rg₅를 Rh₂로 전환하였으며, Chen 등은 J균주를 이용하여 ginsenoside Rg₁, Re를 ginsenoside Rh₁, Rh₄, Rg₂ 등으로 전환시켰다. Ko 등은 K균주에서 분리한 효소를 이용하여 PPT type 사포닌을 ginsenoside Rg₅, Rh₁으로 전환시켰으며, L균주로부터 분리한 효소를 이용하여 ginsenoside Re, Rg₁, Rg₂, Rh₁, F₁으로 Rf, Rg₁ 및 Rg₂를 Rh₁으로 전환시켰다. 또한 버섯균사체를 이용하여 ginsenoside Rb₁을 Rd로 전환하였다. 또한 N사는 자체변형균주를 이용하여 ginsenoside Rb₂, Rg₁을 Rg₂, Rg₃, F₂로 전환시

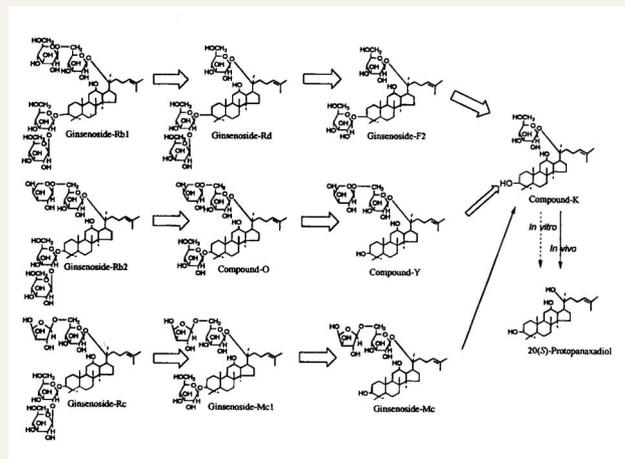
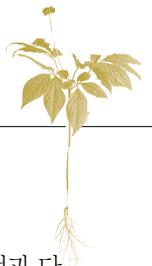


그림 7. 장내 D균주에 의한 인삼사포닌 대사 메커니즘



켰으며, 대부분의 발효인삼사포닌 제품이 건강기능성 식품 기준이 되는 Rb1과 Rb2의 값이 낮아서 판매가 되지 못하는 실정에 비해 Rb1의 이용을 최소화하여 전환이 이루어지기 때문에 향후 인삼사포닌 전환에 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

8. Bio-conversion 기술의 응용분야

생명공학 기술을 바탕으로 환경친화적인 생물전환법을 이용한 기능성 대체당의 대량 생산 기술을 개발하고 있다. 생물촉매의 고효율성, 반응특이성, 선택성을 이용한 생물전환기술은 화학공정의 대체/보완을 위한 환경친화형 생물공정기술의 핵심분야로서 생물촉매/생물전환기술에 의한 고부가가치 첨단생물소재 및 식품소재 개발이 세계 각국에서 경쟁적으로 이루어지고 있다.

신소재 전분당 분야 : 신소재 전분당은 크게 올리고당과 Cyclodextrin으로 분류되고 올리고당에는 말토올리고당, 프락토올리고당, 갈라토올리고당, 대두올리고당, 이소말토올리고당, 자일로올리고당, 이소말톨로오즈, 커플링슈거, 락투로오즈 및 키틴올리고당으로 구성되어 있고, Cyclodextrin에는 α -cyclodextrin, β -cyclodextrin, γ -cyclodextrin 및 분지 cyclodextrin 등이 존재하고 있으며 이는 효소와 미생물에 의해서 생산되고 있다(그림 8).

단백, 펩타이드 신식품소재 : 단백 및 펩타이드는 단백질을

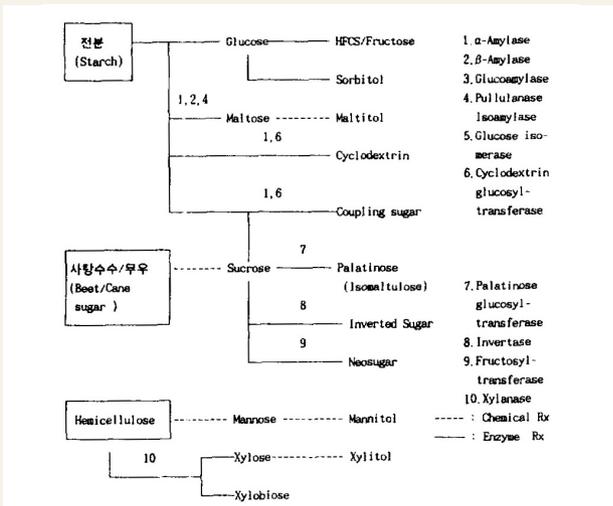


그림 8. 탄수화물로부터 저분자의 당류생산과 관련된 효소

분해하여 단백분해물로 신규식품소재를 개발하는 과정과 단백질 가수분해효소의 역반응을 이용한 펩타이드의 효소적인 합성에 이용되고 있다.

지방성분 관련 식품소재 : 지방관련 식품소재는 리놀레, 리놀렌산, 감마 리놀렌산, EPA, DHA, 감마 오리지놀, 옥타코사놀 및 스쿠알렌 등이 건강관련의 대표적인 지방계 소재로 초기에 주로 식품성분에서 유충성분을 효과적으로 생산하는 방법 연구에서 근래에는, 생산하는 자원의 다량화로 미생물자원에서의 생산에 대한 연구가 이루어지고 있다.

이밖에 한약재의 유효성분 함량을 높이기 위해 bio-conversion 기술이 이용되고 있는 등 제약분야에서 점차 적용하고 있으며, 미래 에너지로 인기가 있는 바이오디젤 및 에탄올 개발에도 적용되고 있다.

9. Bio-conversion을 이용한 인삼사포닌제품 국내 산업 동향

요쿠르트나 김치, 술 발효의 부원료로 인삼이 첨가되었을 때 발효에 미치는 영향이나 그 기호도를 평가하는 연구가 주류였던 반면, 약물대사에서 장내미생물의 역할이 밝혀진 이후, 배당체를 비당체로 정환시키는 생물전환기술이 각광받게 되었고, 이를 이용한 발효기술 도입이 적극적으로 검토되어 졌다.

경희대 약학 대학 김동현 교수 연구팀은 한국인의 장내에서 분리한 유산균 중 PD계 ginsenosides의 C-K 전환율이 높은 균주를 분리하여 2002년 (주)구안산업을 통해 제품으로 선보였다.

생약발효 연구소 김재백 소장과의 일본의 하세가와 박사팀은 장내에서 ginsenosides대사와 밀접한 연관을 갖는 *Prevotella oris* 균주를 분리하여 하세가와 균주로 명명, 인삼발효에 적용한 상품을 원광제약을 통해 선보였다.

(주)비피도에서는 “Probiotic 유산균을 이용하여 인삼 사포닌의 전환연구”를 수행한 바 있으며, 그 외에도 (주)일화의 “비삼” 등의 발효인삼 제품이 산업화되어 생산·판매 되고 있다.

이들 발효 인삼 제품의 특징은 ginsenosides 대사가 가능한 균주를 선별하여 발효에 적용함으로써, 항암, 치매 억제, 면역증강에 유익한 활성이 있다고 알려진 Rh1, Rh2, Rg3와 같은 ginsenosides 대사체나 C-K 함량 증가라는 분명한 조성변화

회사	제품명	사용균주	특징
(주)구안산업	전략	한국형 비피더스균 K-110	홍삼성분인 진세노사이드 Rg3, Rh2, 20-ginseno side Rg3 (Rg 5+Rk1), 20-ginsenoside Rh 2(Rh3+Rk2), 진세노사이드 장내대사물질인 C-K 함유
(주)대상	홍의보감	유용 미생물	팽화·발표 기법 적용
원광제약	효삼	Prevotella Oris	ginsenoside 대사체인 FGM1과 FGM4 강화로 함암효과 증대
(주)일화	비삼	유산균	인삼의 체내 대사산물인 IH-901을 함유

를 내세우고 있다는 것이다.

미생물을 이용한 발효 기법 외에도 미생물이 생산하는 β -glucosidase를 분리, 적용한 생물질 전환 기법으로 녹십자상아제 약의 “어삼”, 일동제약의 “황삼”과 같은 제품도 현재 시판되고 있다.

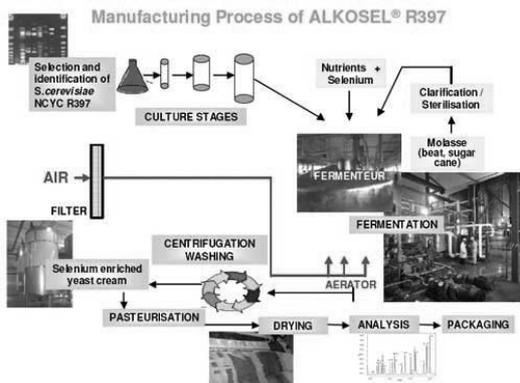
현재 발효인삼사포닌 시장은 꾸준히 성장하여 무수한 제품들이 쏟아져 나오고 있으며, 제품들은 아래와 같다.

기능성식품 전문 쇼핑몰 애플트리 김약사네가 국내산 6년근 홍삼만을 달인 홍삼액에 ‘발효 홍삼’을 넣은 ‘순(純) 발효 홍삼액’을 출시하였고, 메타레드진은 자체개발균주를 이용한 메타레드진 시리즈를 출시하였다.

이와 더불어 웅진(장쾌삼, 대왕의 힘 시리즈), LG생활건강(청운진 태자삼, 보령제약(발효홍삼액정), 종근당제약(발효홍삼헛개), 김정문알로에(발효홍삼 비선고), 대상웰라이브(발효홍삼녹용겔)에서 제품이 출시되었다.

10. Bio-conversion 기술의 해외응용 사례

- 셀레늄 효모 생산(ALKOSEL)(Denmark)



- 유기고체폐기물로 바이오 가스 생산(Italy)
- 고정화 효소에 의한 말토올리고당, 갈락토 올리고당 생산 (일본)
- 연속 효소공정에 의한 이소말톨로스 생산(독일)
- 효소를 이용한 카제인 포스포 펩타이드 생산(일본)
- 효소 생합성을 이용한 오피오이드 펩타이드 생산(일본)

11. Bio-conversion을 인삼사포닌 연구전망

이미 발효 인삼사포닌 제품들이 시중에 유통되고 있기는 하나 향후 해결해야할 숙제는 많다. 우선 미생물 선택에 있어서 유의해야 할점은 모든 미생물이 ginsenosides를 대사시킬 수 있는 것이 아니란 점이다.

인삼을 요구르트에 첨가해서 유산 발효시켰을 때, 인삼에 의해 유산균 증식 효과라든지 여타의 효과는 기대할 수 있겠지만 그렇다고 그 요구르트가 반드시 C-K나 Rg3의 함량이 증가된 상태는 아닐 수 있음을 구분해야 한다는 것이다.

같은 종이라고해도 이용된 미생물의 특성에 따라 ginsenosides의 대사가 이뤄지지 않거나, 이뤄진다 하더라도 대사율에 현저한 차이를 보이게 되기 때문이다. 그러므로 연구 개발된 발효 인삼제품이 신뢰성을 갖기 위해서 우선, 현재 집중되어 있는 발효인삼의 효능에 관한 연구 뿐 아니라, 발효로 인해 대사됐을 ginsenosides profile 특성 역시 객관적인 자료로 제시되어 소재에 대한 신뢰성을 유지하기 위한 꾸준한 노력이 필요하다.

두 번째는 발효 전후의 인삼조성 변화에 대한 다양한 고찰이 필요하다. 미생물 발효에 있어 영향 받는 부분은 ginsenosides만이 아니므로 발효조건에 따라 산성 다당체, 지용성 성분, 함질소 화합물 등의 유효성분들이 가감되거나 변화되는 부분 또



한 관찰되어야 한다. 이러한 연구가 거듭되면서 인삼 약효를 최대화 할 수 있는 효율적인 발효기법에 대한 연구 내용이 축적되어 질 것이다.

끝으로 단일 성분을 이용한 효능평가도 다양한 방면에서 계속 되어야겠지만 발효 인삼에 대한 실질적인 효능 평가도 이뤄져야 한다. 물론 인삼 자체 외에도 미생물 균체라는 변수가 개입하는 다소 복잡한 실험 디자인이 되겠지만 그렇지 않고서는 발효인삼사포닌의 효과는 이론적인 수준에 그칠 것이기 때문이다.

12. Bio-conversion을 인삼사포닌 제품에

- 웅진 발효홍삼



- 진락발효홍삼



- 메타레드진



- 웅진장쾌삼



- 보령제약 발효홍삼



- 대상웰라이프 발효홍삼



- LG생활건강 발효홍삼(청운진)



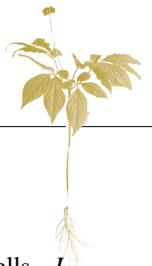
references

참고문헌

1. Aling, D, Min, Y, Hongzhu, G, Junhua, Z, Dean, G (2003) "Microbial transformation of ginsenoside Rb1 by Rhizopus stolonifer and Curvularia lunata" *Biotechnol. Lett.* 25: 339-344
2. Anufriev, V.P., G.V. Malinovskaya, V.A. Denisenko, N.I. Uvarova, G.B. Elyakov, S.I. Kim, and N.I. Baek. 1997. Synthesis of ginsenoside Rg₃, a minor constituent of *Gonseng radix*. *Carbohydr. Res.* **304**, 197-182.
3. Atopkina, L.N., N.I. Uvarova, and G.B. Elyakov. 1997 Simplified preparation of the ginsenoside-Rh2 minor saponins from ginseng. *Carbohydr. Res.* **303**, 449-451.
4. Bae, E.A., M.J. Han, E.J. Kim, and D.H. Kim. 2004 Transformation of sinseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities

- of their transformation. *Arch. Pharm. Res.* **27**(1), 61-67
5. Bae, E.A., M.J. Han, M.K. Choo, S.Y. Park and D.H. Kim. 2002 Metabolism of 20(S)- and 20(R)-ginsenoside Rg₃ by human intestinal bacteria and its relation to in vitro biological activities. *Biol. Pharm. Bull.* **25**(1), 58-63.
 6. Bae, E. A., S.Y. Park, and D.H. Kim. 2000. Constitutive beta-glucosidases hydrolyzing ginsenoside Rb₁ and Rb₂ form Human intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.* **23**(12), 1481-1485.
 7. Chen, G., M. Yang, Z. Lu, J. Zhang, H. Huang, Y. Liang, S. Guan, Y. Song, L. Wu, D.A. Guo. 2007 Microbial transformation of 20(S)-protopanaxatriol-type saponins by *Absidia coerulea*. *J. Nat. Prod.* **70**(7), 1203-1206.
 8. Cheng, L.Q., M.K. Kim, J.W. Lee, Y.J. Lee, and D.C. Yang. 2006. Conversion of major ginsenoside Rb₁ to ginsenoside F₂ by *Caulobacter leidyia*. *Biotechnol Lett.* **28**, 1121-1127.
 9. Chi, H., G.E. Ji. 2005. Transformation of ginsenosides Rb₁ and Re from *Panax ginseng* by food microorganisms. *Biotechnol Lett.* **27**, 765-771.
 10. Choi, E.K., J.i. GE. 2005. Food microorganisms that effectively hydrolyze O-glycoside but not C-glycoside isoflavones in *Puerariae radix*. *J. Food Sci.* **70**, C25-C28.
 11. Choo, M.K., E.K. Park, M.J. Han and D.H. Kim. 2003 Antiallergic activity of ginseng and its ginsenoside. *Planta Med.* **69**(6), 518-522.
 12. Hasani-Ranjbar, S., N. Nayebi, B. Larijani, and M. Abdollahi. 2009. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. *World J Gastroenterol* **15**, 3073-3085.
 13. Hasegawa, H. 2004. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid. *J. Pharmacol. Sci.* **95**, 153-157.
 14. Hasegawa, H., J. H. Sung, S. Matsumiya and M. Uchiyama. 1996. Main Ginseng Saponin Metabolites Formed by Intestinal Bacteria. *Planta Medica.* **62**, 453-457.
 15. Hasegawa, H., J. H. Sung and Y. Benno. 1997. Role of humanintestinal *Prevotella oris* in hydrolyzing ginseng saponins. *Planta Medica* **63**(5), 436-440.
 16. Hasegawa, H and M. Uchiyama. 1998. Antimetastatic efficacy of orally administered ginsenoside Rb₁ in dependence on intestinal bacterial hydrolyzing potential and significance of treatment with an active bacterial metabolite. *Planta Medica* **64**, 696-700.
 17. Hwang, E.Y., Y.H. Kong, Y.C. Lee, Y.C. Kim, K.M Yoo, Y.O. Jo, and S.Y. Choi. 2006. Comparison of phenolic compounds contents between white and red ginseng and their inhibitory effect on melanin biosynthesis. *J Ginseng Res.* **30**, 82-87.
 18. In, J.G., B.S. Lee, E.J. Kim, M.H. Park, and D.C. Yang. 2006. Increase of functional saponin by acidic treatment and temperature of red ginseng extract. *Korea J Plant Res.* **19**, 139-143.
 19. Karikura, M., T. Miyase, H. Tanizawa, T. Taniyama and Y. Takino. 1991. Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VI. The decomposition products of ginsenoside Rh₂ in the stomach of rats. *Chem. Pharm. Bull.* **39**(2), 400-404.
 20. Kim, J.H., S. Kim, I.S. Yoon, J.H. Lee, B.J. Jang, S.M. Jeong, J.H. Lee, B.H. Lee, J.S. Han, and S. Oh. 2005. Protective effects of ginseng saponins on 3-nitropropionic acid-induced striatal degeneration in rats. *Neuropharmacology* **48**, 743-756.
 21. Kim, H.S, E.H. Lee, S.R. Ko, K.J. Choi, J.H. Park, and D.S. Im. 2004. Effects of ginsenosides Rg₃ and Rh₂ on the proliferation of prostate cancer cells. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 429-435.
 22. Ko, S. R., Y. Suzuki, K. J. Chei and Y. H. Kim. 2000. Enzymatic preparation of genuine prosapogenin, 20(S)-ginsenoside Rh₁, from ginsenosides Re and Rg₁. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**(12), 2739-2743
 23. Ko, S.R., K.J. Choi, K. Uchida, and Y. Suzuki. 2003. Enzymatic preparation of ginsenosides Rg₂, Rh₁, and F₁





- from protopanaxatriol-type ginseng saponin mixture. *Planta Med.* **69**, 285-286.
24. Kwon, O.S. and Y.B. Chung. 2004. Solubilization of IH-901, a novel intestinal metabolite of ginseng saponin, in aqueous solution. *J. Kor. Pharm. Sci.* **34**(5), 385-391.
 25. Lee, M.R., B.S. Yun, B.S. Sun, L. Liu, D.L. Zhang, C.Y. Wang, Z. Wang, S.Y. Ly, E.K. Mo, and C.K. Sung. 2009. Change of ginsenoside Rg₃ and acetylcholinesterase inhibition of black ginseng manufactured by grape juice soaking. *J Ginseng Res* **33**, 349-354.
 26. Lee, J.H., and H.J. Park. 1995. Effects of lipophilic fraction from Korean red ginseng on platelet aggregation and blood co-agulation in rats fed with corn oil and beeftallow diet. *Kor J Ginseng Sci.* **19**, 206-211.
 27. Li, X., H.G. Wan, D.Q. Lu, and P. Wei. 2003 advance of research on antitumor activity of ginsenosides. *Chinese J. Bioproc Eng.* **1**(2), 13-17.
 28. Mccarter, J., and S.G. Withers. 1994. Mechanisms of enzymatic glycoside hydrolysis. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **4**(6), 885-892.
 29. Mochizuki, M., Y.C. Yoo, K. Matsuzawa, K. Sato, I. Saiki, S. Tono-oka, K. Samukawa, and I. Azuma. 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.
 30. Matsuda, H., T. Kubo, M. Kubo. 2000. Chemical changes of ginsenoside-Rb₁ in stomach and improving effects of its product, 20(S)-ginsenoside-Rg₃ on a peripheral circulation disorder. *The Ginseng Review* **28**, 12-15.
 31. Nam, K.Y., 2005. The Comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *J Ginseng Res* **29**, 1-18.
 32. Ota, T., M. Mada, and S. Odashima. 1991. Mechanism of action of ginsenoside Rh₂ uptake and metabolism of ginsenoside Rh₂ by cultured B16 melanoma cells. *J Pharm Sci.* **80**, 1141-1146.
 33. Park, J.A., K.Y. Lee, Y.I. Oh, K.W. Kim, and S.I Kim. 1997. Activation of caspase-3 protease via a Bcl-2-insensitive pathway during the process of ginsenoside Rh₂-induced apoptosis. *Cancer Lett.* **121**, 73-81.
 34. Park, J.D., and D.S. Kim. 1996. Effects of ginseng saponin on modulation of multidrug resistance. *Arch Pharm Res.* **19**, 213-218.
 35. Park, J.D. 1996. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean J Ginseng Sci.* **20**, 389-396.
 36. Samukawa, K., H. Matsuda, M. Kubo. 1992. Inhibition of thrombocyte aggregation of red ginseng. -Effects of ginsenosides on pulmonary thromboembolism. *The Ginseng Review* **14**, 57-61.
 37. Son, J.W., H.J. Kim, and D.K. Oh. 2007. Ginsenoside Rd production from the major ginsenoside Rb(1) by beta-glucosidase from *Termus caldophilus*. *Biotechnol. Lett* DOI 10.1007/s 10529-0007-9590-4.
 38. Tachikawa, E., K. Kudo, M. Nunokawa, T. Kashimoto, E. Takahashi, and S. Kitagawa. 2001. Characterization of ginseng saponin ginsenoside-Rg₃ inhibition of catecholamine secretion in bovine adrenal chromaffin cells. *Biochem Pharmacol.* **62**, 943-951.
 39. 김상달, 서정훈, 1982. Rhizopus sp.가 생산하는 효소에 의한 인삼사포닌의 전환(제1보) Ginsenoside Rb₁에서 ginsenoside Rd로의 전환확인. *Kor. J. Appl. Microbiol Bioeng.* **10**(2), 267-273.
 40. 성종환, 하세가와, 마츠미야, 우치야마, 하주영, 이문순, 허재두. 1995. 사람의 장내세균에 의한 인삼사포닌의 대사. *생약학회지.* **26**(4), 360-367.
 41. 이영경, 이영철, 홍희도, 노정해, 김영찬. 2007. 발효를 이용한 인삼 가공 원리와 제품 동향. *고려인삼연구와 산업.* **1**(1), 8-12.