

Ginsenoside derivatives and quality characteristics of fermented ginseng using lactic acid bacteria

Bok-Hee Kang¹, Kun-Jae Lee², Sang-Sun Hur², Dong-Sun Lee³, Sang-Han Lee⁴,
Ki-Sun Shin⁵, Jin-Man Lee⁶*

¹Center for Food Function and Safety, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

²Department of Food Science and Biotechnology, Joongbu University, Geumsan 312-702, Korea

³Faculty of Biotechnology, College of Applied Life Sciences, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

⁴Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

⁵Biological Resource Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea

⁶Department of Food Science and Technology and Basic Science Institute, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

유산균을 이용한 발효인삼의 ginsenoside 유도체 및 품질특성

강복희¹ · 이군재² · 허상선² · 이동선³ · 이상한⁴ · 신기선⁵ · 이진만⁶*

¹호서대학교 식품기능안전연구센터, ²중부대학교 식품생명과학과, ³제주대학교 생명공학부,

⁴경북대학교 식품공학과, ⁵한국생명공학연구원 생물자원센터,

⁶호서대학교 식품공학과 및 기초과학연구소

Abstract

This study was done in order to investigate the bioconversion of ginsenoside, as well as the quality characteristics of fermented ginseng, by using lactic acid bacteria. Quality characteristics such as the thin layer chromatography(TLC) pattern, ginsenosides, total phenolic content, electron donating ability, and total sugar of fermenting ginseng and red ginseng were analyzed. The ginsenoside Rg2r, Rh2s and Rh2r of the fermented ginseng and red ginseng for 65 hours at a temperature of 37°C were not detected. The ginsenoside Rg1 and Re contents have decreased, while the Rh1, Rg2s, Rd, Rg3r, and Rg3s have increased due to fermentation. The ginsenoside Rg3 of the fermented red ginseng has increased and the contents were 114.83~131.68 µg/mL (control 104.56 µg/mL). The total phenolic content and electron donating ability of the red ginseng have totally decreased after 7 days of fermentation. The total phenolic contents of the fermented ginseng and red ginseng with different lactic acid bacteria did not show any tendency as different strains. The electron donating ability of the fermented ginseng has increased; however, the electron donating ability of the red ginseng has decreased. The total sugars of the fermented ginseng and red ginseng with different lactic acid bacteria have also decreased.

Key words : ginseng, red ginseng, fermentation, lactic acid bacteria, ginsenoside

서 론

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 오가피과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*) 식물에 속하는 다년생 반음지성 속근초로서 수천여년 전부터 약재로 널리 사용되어 왔다(1). 인삼의 화학적 성분은 사포닌 성분, 정유 성분, polyacetylene 성분,

phenol 성분, 알칼로이드 성분, 다당체, 아미노산, 유기산, 유리당, 비타민 및 무기성분 등으로 이루어져 있다(2). 인삼은 항암작용, 항산화작용, 동맥경화 예방, 고혈압 예방, 간기능의 촉진, 숙취제거, 항피로, 항스트레스, 노화방지, 두뇌활동 촉진 및 항염활성 등 다양한 효능이 보고되었다(3). 사포닌은 인삼의 약리적 효능을 나타내는 주요 물질 중의 하나로서 현재까지 30여종의 사포닌이 인삼에서 분리되어 진세노사이드로 명명되었으며 화학구조가 밝혀져 있다(4).

*Corresponding author. E-mail : jmlee@hoseo.edu
Phone : 82-41-540-5645, Fax : 82-41-544-4151

인삼의 사포닌은 major 사포닌의 당 가수분해에 의해 만들어진 minor 사포닌이 major 사포닌에 비해 흡수나 약효면에서 뛰어난 효과를 나타낸다(5).

인삼의 ginsenoside의 다양한 효능이 밝혀짐에 따라 다양한 처리(산, 열, 미생물)를 통하여 효능이 뛰어난 ginsenoside로의 전환을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 유산균 등을 이용한 인삼의 발효는 살아있는 유용한 미생물을 프로바이오틱(probiotic)으로 공급할 수 있으며, 배당체 구조인 ginsenoside의 당을 분해하여 ginsenoside의 구조를 전환하여 인삼에서 섭취할 수 있는 사포닌 보다 효율이 높은 사포닌을 섭취할 수 있다(6).

*Lactobacilli*와 *Bifidobacterium* 같은 유산균은 당류를 발효하여 젖산을 생성하는 세균으로 다양한 미생물이 존재하는 사람의 장내에서 우점종으로 분포하여 체내 유익균의 성장을 촉진하는 생균 활성제로서 역할을 담당한다(7). 젖산균이 생산하는 다양한 효소들 중 beta-glucosidase는 셀룰로오스나 β -1,4 당쇄결합을 지니고 있는 기질로부터 포도당을 유리시키는 효소이다(8). 유산균의 이러한 기능으로 인해 유산균을 이용한 인삼 발효시 고분자 진세노사이드의 저분자 진세노사이드로의 전환을 기대할 수 있다. 유산균을 이용한 인삼의 발효 연구가 다양하게 이루어지고 있는데 관련 연구로서 유산균을 이용한 발효인삼 제조 및 품질특성(9), *Lactobacillus brevis* LH8이 생산하는 효소에 의한 ginsenoside Rd의 compound K로의 전환(1), 식품 미생물에 의한 인삼의 Rb2와 Rc의 변환(10), ginsenoside 전환이 가능한 인삼 발효 미생물의 선별(6) 등이 있다. 인삼은 가공방법에 따라 효능이 달라지므로 이러한 발효 인삼을 이용한 가공제품의 개발시 처리조건에 따른 함량 변화, 품질 표준화 등에 대한 다양한 연구가 필요한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 인삼의 발효를 통한 가공제품의 개발을 위한 연구의 일환으로 β -glucosidase 활성이 있는 유산균주를 이용하여 발효한 인삼, 홍삼의 ginsenoside 유용 유도체의 전환 검토 및 발효에 의한 품질특성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험재료

인삼 발효 및 TLC(Thin layer chromatography) 확인에 사용한 인삼, 홍삼은 충남 금산 인삼 시장에서 2010년도에 구입한 것을 사용하였으며, 포장 가공된 제품은 인삼가공업체로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 인삼 및 홍삼 종류에 따른 TLC 사포닌 패턴 확인을 위해 사용된 시료는 인삼, 홍삼(건조물), 백삼(4 years curved ginseng, Jinan, Korea), 백삼(6 years, Youngju, Korea), 홍삼(6 years, Joongang Ginseng Farming Association, Youngju, Korea), 흑삼 6년근, 발효홍삼정(60 °Brix), 홍삼농축액(70 °Brix)을 사용하였다.

인삼 및 홍삼 발효에 사용한 균주는 충남 아산 배방읍 세출리 지역에서 수집한 16종의 김치로부터 분리한 균주 중 *Lactobacillus plantarum* KC-1, *Lactobacillus brevis* KC-2, *Lactobacillus* sp. KC-3, KC-5, KC-35와 분양받은 균주 및 보유하고 있는 유산균 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, *L. plantarum* Danisco, *Bifidobacterium longum* Danisco, *B. bifidum* Danisco-W, *B. bifidum* Danisco-Y 등 10여개 균주를 사용하였다. 발효시 사용한 균주는 esculin agar법을 이용하여 β -glucosidase 활성 유무를 검색한 후 활성이 있는 것으로 나타난 균주를 실험에 사용하였다.

β -glucosidase 활성 균주에 의한 인삼/홍삼 추출물 발효

37°C에서 24시간 전배양한 유산균 100 μ L을 인삼/홍삼 추출물 1 mL을 포함하는 MRS 배지(Lactobacilli MRS broth, Difco, Detroit, USA) 6 mL에 접종하여 37°C에서 65시간 동안 혐기적으로 배양하여 TLC 및 ginsenoside 함량을 분석하였다. 발효기간에 따른 품질특성을 알아보기 위하여 홍삼추출물에 대한 유산균 발효는 37°C에서 7일간 실시하였으며, 발효균주에 따른 인삼/홍삼 발효액의 품질특성을 알아보기 위해 37°C에서 72시간 발효 후 총페놀성 화합물 및 전자공여능을 측정하였다.

TLC 분석

배양액 1 mL에 수포화 부탄올 200 μ L를 첨가하여 진탕한 후 분리된 부탄올 층을 이용하여 TLC 분석에 이용하였다. 진세노사이드의 TLC 분석은 인삼/홍삼 발효액을 80°C에서 4시간 열수추출한 후 부탄올로 추출한 시료를 silica gel TLC 판(TLC aluminium sheet silica gel 60F254, Merck, Darmstadt, Germany)에 점적하여 부탄올/에틸아세테이트/물(5 : 1 : 4, 혼합용매의 상층사용)로 전개한 다음 10% H₂SO₄ 용액을 분무한 후 110°C에서 5분간 가열하여 발색시켜 표준품 대비 시료 중의 ginsenosides pattern을 비교 확인하였다.

총당 함량 측정

발효액의 총당 함량은 Dubois 등(11)에 의한 방법으로 측정하였다. 적절히 희석된 시료 0.5 mL에 5% phenol 0.5 mL를 첨가한 다음 Conc. H₂SO₄ 2.5 mL를 첨가하여 30분 동안 반응시킨 후 냉각시켰다. 반응액은 UV spectrophotometer를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, standard는 glucose(Sigma, St. Louis, Missouri, USA)를 이용하여 측정하였다.

총 페놀성 화합물의 함량 측정

총 페놀성 화합물의 함량은 Folin-Denis법(12)을 이용하

여 측정하였다. 시험용액을 일정하게 희석한 검액 1 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 1 mL를 가해 혼합하고, 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치한 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량 곡선의 작성에 사용하였다.

전자공여능 측정

시험용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH)를 사용한 방법으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH 용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정하였다. 이 용액 5 mL를 취하여 추출물 0.5 mL와 혼합한 후 상온에서 10분간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로서 표시하여 전자공여능으로 하였다.

$$\text{EDA (\%)} = (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{공시험의 흡광도}) \times 100$$

Ginsenoside 분석 조건

인삼/홍삼의 유산균 발효에 따른 ginsenoside 함량 변화를 알아보기 위하여 시료는 다음과 같이 제조하였다. 인삼 추출물은 6년근 백삼을 90°C, 120 rpm에서 용매비 10배로 4시간 열수추출한 후 감압농축하여 15 °Brix로 농축하였으

며, 홍삼발효액은 홍삼엑기스(고려홍삼정, 70 °Brix)를 20 °Brix로 희석하여 홍삼 발효에 사용하였다. 인삼/홍삼의 유산균 발효는 MRS 배지 6 mL에 인삼 추출물(15 °Brix), 홍삼 추출물(20 °Brix)를 각각 1 mL을 첨가한 후 멸균한 다음 각 유산균주 배양액 0.1 mL를 접종하여 37°C에서 65시간 동안 발효를 실시하였다. 인삼/홍삼 발효액 ginsenoside 분석조건은 Table 1과 같으며, UPLC-PDA를 이용하여 ginsenoside 14종(Rg1, Re, Rf, Rh1, Rg2(s), Rg2(r), Rb1, Rc, Rb2, Rd, Rg3(s), Rg3(r), Rh2(s), Rh2(r))에 대한 분석을 실시하였다.

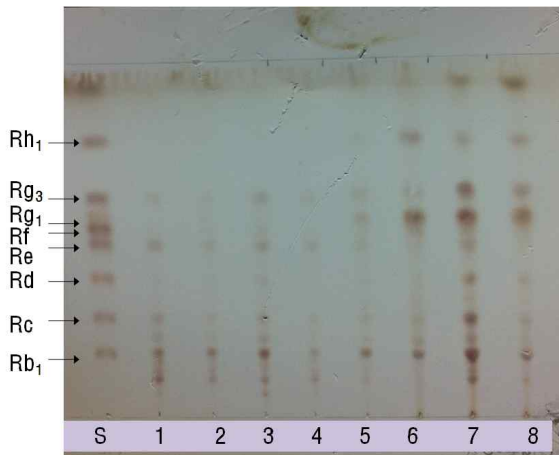
결과 및 고찰

인삼 종류별 추출물 TLC pattern 비교

인삼 종류를 달리하여 80°C에서 4시간 열수추출 후 부탄올로 추출하여 TLC 패턴을 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 흑삼은 구증구포하여 제조된 것으로, 화학성분은 ginsenoside Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1 함량이 백삼, 홍삼 보다 증가되며, 열에 의한 인공 생성물은 Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 류는 홍삼보다 높은 함량을 나타내는 것으로 알려져 있다(13). 수삼, 홍삼에 비해 흑삼의 경우 동일 농도로 추출하여 spot 하였을 때 Rg1, Rh1의 spot이 보다 진하게 나타남을 관찰할 수 있었다. Park 등(14)은 볶음처리하여 얻은 인삼박 중의 사포닌 성분의 변화를 TLC로 확인하였을 때 200°C 이상의 볶음 처리 온도에서 ginsenoside-Rf 이하 위치의 극성인 사포닌

Table 1. Analysis condition of ginsenosides for ginseng fermentation extract

Specification	Conditions		
Instrument	UPLC - PDA		
Column	BEH C ₁₈ (2.1×50 mm, 1.7 µm), Waters		
Mobile Phase	Time (Min)	A (%) D.W.	B (%) Acetonitrile
	initial	85	15
	0.5	85	15
	14.5	70	30
	15.5	68	32
	16.5	60	40
	17.0	45	55
	21.0	10	90
	25.0	85	15
	27.0	85	15
Flow rate	0.6 mL/min		
Injection volume	2 µL		
Detector	UV 203 nm		
Column temperature	40°C		



- S. Standard
1. Fresh ginseng
 2. Red ginseng
 3. White ginseng
(Curved ginseng, Six year root)
 4. White ginseng (Six year root)
 5. Red ginseng (Six year root)
 6. Black ginseng (Six year root)
 7. Fermented red ginseng extract
 8. Red ginseng extract

Fig. 1. TLC patterns of ginsenosides from 8 kinds of ginseng/red ginseng extract.

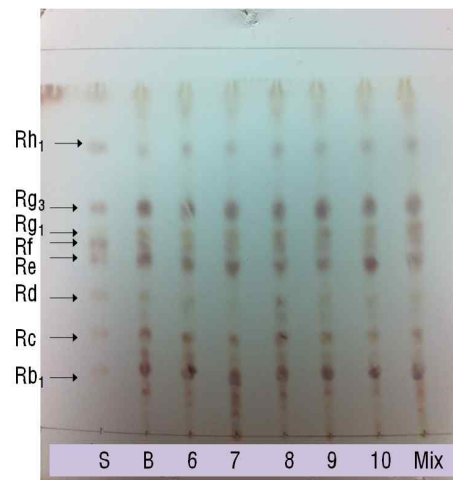
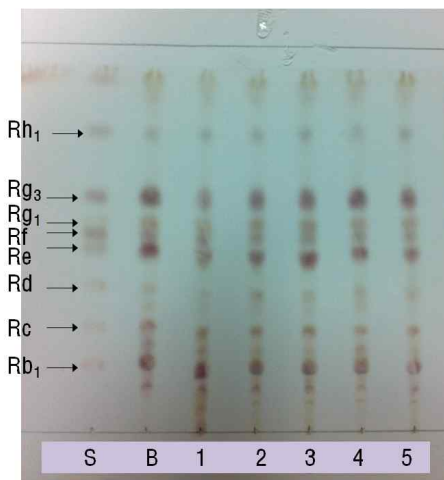


Fig. 2. TLC patterns of ginsenosides from fermented ginseng extract using lactic acid bacteria.

(S standard, 1 *Lactobacillus plantarum* KC-1, 2 *Lactobacillus brevis* KC-2, 3 *Lactobacillus* sp. KC-3, 4 KC-35, 5 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, 6 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, 7 *L. plantarum* Danisco, 8 *B. longum* Danisco, 9 *B. bifidum* Danisco-W, 10 *B. bifidum* Danisco-Y).

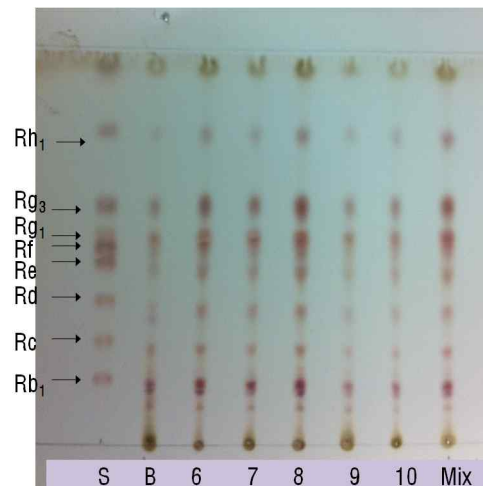
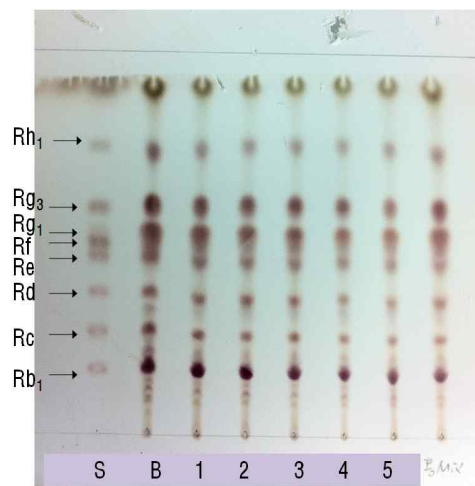


Fig. 3. TLC patterns of ginsenosides from fermented red ginseng extract using lactic acid bacteria.

(S standard, 1 *Lactobacillus plantarum* KC-1, 2 *Lactobacillus brevis* KC-2, 3 *Lactobacillus* sp. KC-3, 4 KC-35, 5 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, 6 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, 7 *L. plantarum* Danisco, 8 *B. longum* Danisco, 9 *B. bifidum* Danisco-W, 10 *B. bifidum* Danisco-Y).

은 대부분 소실되었고, 그 윗부분의 비극성 사포닌 부분만 남았으며, 230°C에서 30분간 처리시에는 이 부분도 소실되었다고 보고하여 볶음처리와 같은 높은 열에는 불안정하다고 보고한 바 있다.

인삼/홍삼 추출물의 발효 전후 TLC pattern 및 ginsenoside 유도체 함량 변화

(1) 유산균주를 이용한 인삼/홍삼 발효액의 TLC pattern

발효시 사용한 균주는 esculin agar 법을 이용하여 β -glucosidase 활성 유무를 검색한 후 활성이 있는 것으로 나타난 균주를 실험에 사용하였다. β -glucosidase 활성이 있는 유산균주를 이용하여 인삼/홍삼 추출물의 발효를 실시한 후 발효액을 다시 부탄올로 추출한 다음 부탄올 층을 이용하여 TLC를 실시한 결과는 Fig. 2~3과 같다. 발효를 실시하지 않은 blank와 비교하였을 때 발효 전후 패턴 상에서 사포닌 성분의 선택적 유실이나 새로운 진세노사이드로의 전환은 TLC 상에서 육안적으로 쉽게 구분되지 않았다.

(2) 유산균주를 이용한 인삼/홍삼 추출물의 발효에 따른 ginsenoside 함량 변화

발효에 의한 ginsenoside 전환 확인을 위하여 유산균주 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058 및 10균주를 혼합하여 발효한 인삼/홍삼 발효액의 발효에 따른 ginsenoside 함량 변화 분석결과는 Table 2 및 Fig. 4와 같다. 37°C에서 65시간 발효 후 ginsenosides 함량을 분석한 결과 Rg2r, Rh2s, Rh2r는 모두 불검출되었으며, 인삼/홍삼 추출물 발효에서 발효전과 비교하여 Rg1, Re는 감소한 반

면, Rh1, Rg2s, Rd, Rg3r, Rg3s는 발효 후 모두 증가한 것으로 나타났다. 홍삼에서 대표적인 성분으로 알려져 있는 Rg3의 경우 홍삼액 발효전 104.56 $\mu\text{g/mL}$ 에서 발효 후 균주 종류에 따라 114.83~131.68 $\mu\text{g/mL}$ 으로 증가하였다. 이는 인삼과 홍삼의 고분자 진세노사이드가 유산균 발효에 의해 저분자 진세노사이드로 전환되었기 때문인 것으로 생각된다.

인삼사포닌의 약효를 증대시키기 위해서는 기존에 존재하는 major 사포닌을 상대적으로 흡수도 잘되고 약효도 뛰어난 minor 사포닌으로의 전환이 요구된다(1). 인삼 사포닌을 변환시키는 방법으로 산·염기에 의한 화학적 전환, 기질 특이성을 이용한 효소적 전환, Smit 방법 등이 있다(16). 등외품 인삼배지에서 *Bifidobacterium Longum* B6을 이용하여 발효에 따른 고분자 진세노사이드에서 저분자 진세노사이드로의 전환패턴을 정량적으로 분석한 결과 발효 초기부터 12시간까지 Rb1은 빠른 속도로 분해되는 반면, Rg3와 Rh2의 전환량은 적었으며 72시간 이후 Rb1으로부터의 Rh2의 전환율은 약 56.07%, Rg3는 12.03%의 진세노사이드 전환율을 나타내었다고 하였다(15). 또한, 발효에 따라 고분자 진세노사이드 Re의 Rg2로의 전환 패턴을 확인한 결과 진세노사이드 Re가 감소함에 따라 Rg2가 점차적으로 증가하는 것을 확인하여 본 연구결과와 일치하는 경향을 나타내었다.

인삼/홍삼 발효에 따른 총 페놀성 화합물 함량 및 전자공여능

(1) 홍삼액 발효 기간에 따른 총 페놀성 화합물 함량 및 전자공여능

발효기간에 따른 영향을 알아보기 위하여 5종의 유산균

Table 2. Ginsenosides content of fermented ginseng and red ginseng by lactic acid bacteria

	Rg1	Re	Rf	Rh1	Rg2s	Rg2r	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg3s	Rg3r	Rh2s	Rh2r
1	126.49	124.57	31.86	4.30	12.63	ND ¹⁾	208.67	83.28	71.26	13.54	13.93	7.06	ND	ND
2	100.22	103.61	28.24	6.06	15.66	ND	192.25	89.75	75.01	15.77	25.63	12.45	ND	ND
3	90.68	91.48	24.73	6.99	13.26	ND	199.46	81.61	72.47	14.88	28.13	13.19	ND	ND
4	102.91	103.89	32.72	9.29	16.70	ND	216.36	89.99	75.46	15.31	28.88	14.01	ND	ND
5	70.06	97.90	56.49	20.70	43.81	ND	298.40	112.77	109.06	69.78	104.56	45.30	ND	ND
6	64.22	90.69	58.53	26.84	56.70	ND	301.09	115.95	108.77	72.51	114.83	50.72	ND	ND
7	63.38	96.24	62.66	31.36	62.15	ND	311.26	119.31	109.28	77.57	131.68	57.99	ND	ND
8	56.41	86.57	55.06	31.22	57.11	ND	282.27	110.73	104.10	70.48	114.86	50.82	ND	ND

1 fermented ginseng extract - blank.

2 fermented ginseng extract - *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718.

3 fermented ginseng extract - 10 strains mix.

4 fermented ginseng extract - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058.

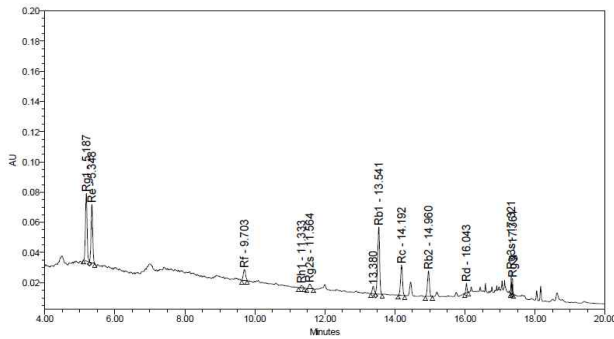
5 fermented red ginseng extract - blank.

6 fermented red ginseng extract - *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718.

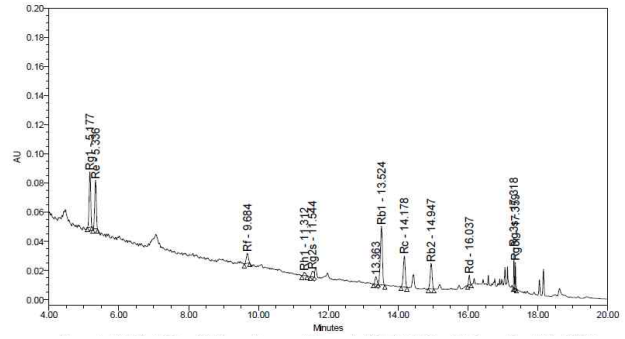
7 fermented red ginseng extract - 10 strains mix.

8 fermented red ginseng extract - *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058.

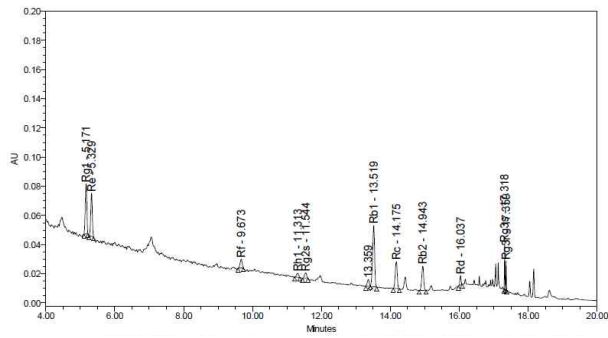
¹⁾Not detected.



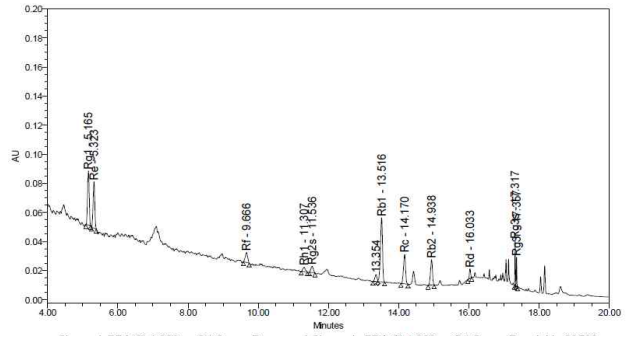
1 Fermented ginseng extract-blank



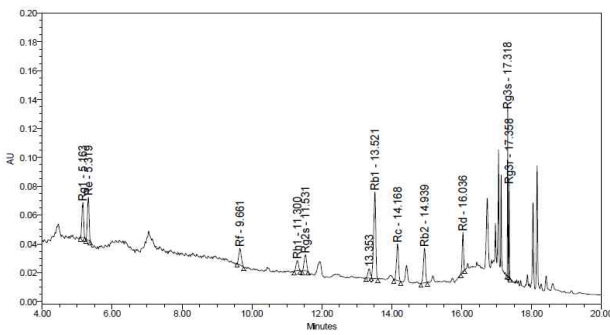
2 Fermented ginseng extract-*Leuonostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718



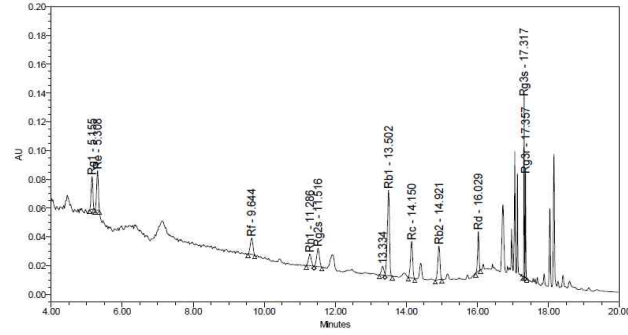
3 Fermented ginseng extract-10 strains mix¹⁾



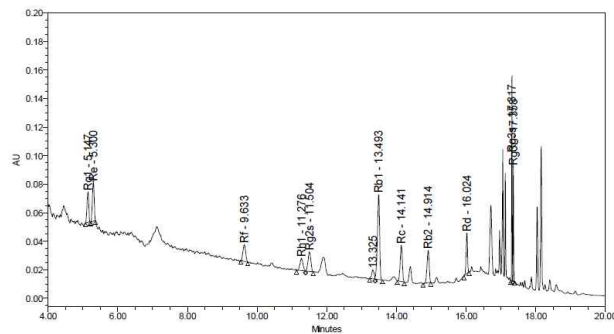
4 Fermented ginseng extract-*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058



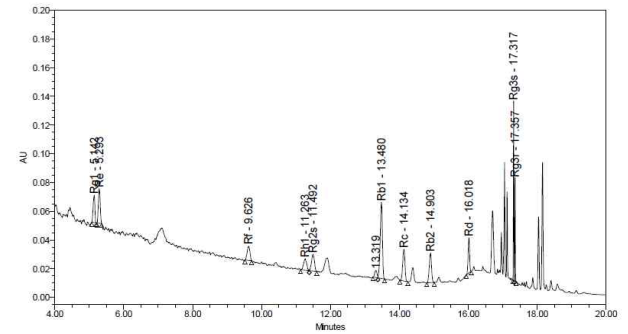
5 Fermented red ginseng extract-blank



6 Fermented red ginseng extract-*Leuonostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718



7 Fermented red ginseng extract-10 strains mix¹⁾



8 Fermented red ginseng extract-*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058

Fig. 4. Ginsenoside chromatograms of fermented ginseng and red ginseng extract using lactic acid bacteria.

¹⁾10 strains mix: *Lactobacillus plantarum* KC-1, *Lactobacillus brevis* KC-2, *Lactobacillus* sp. KC-3, KC-35, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, *Leuonostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, *L. plantarum* Danisco, *B. longum* Danisco, *B. bifidum* Danisco-W, *B. bifidum* Danisco-Y.

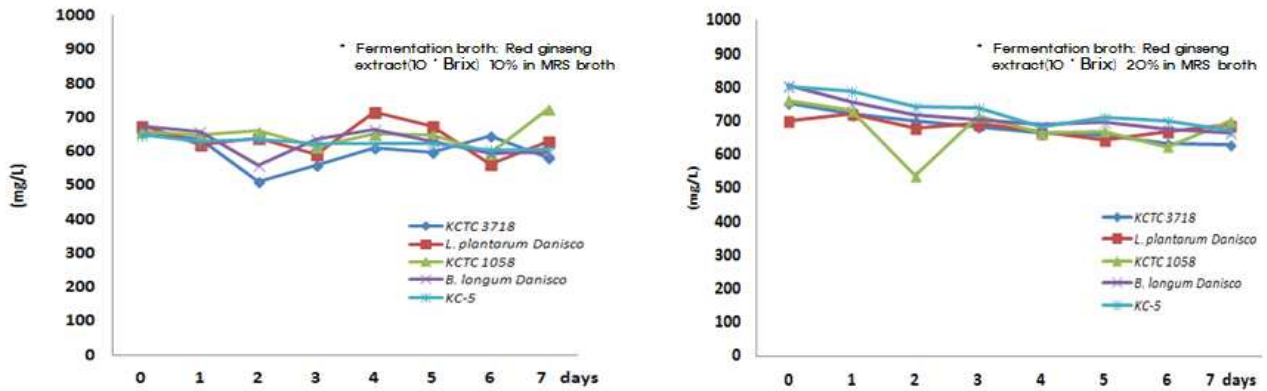


Fig. 5. Changes of total phenol content of fermented red ginseng extract by lactic acid bacteria.

(Stains: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, *L. plantarum* Danisco, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, *B. longum* Danisco, *Lactic acid bacteria* KC-5).

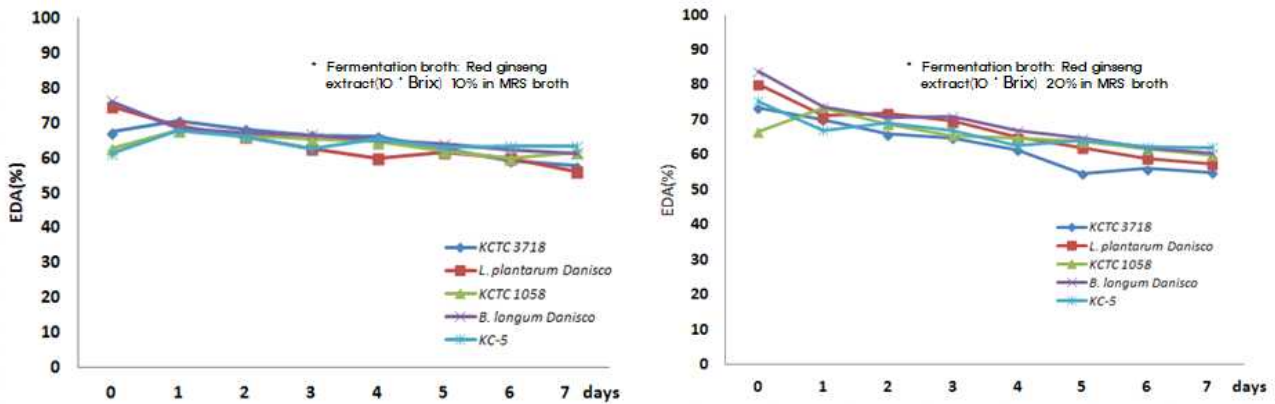


Fig. 6. Changes of electron donating ability of fermented red ginseng extract by lactic acid bacteria.

(Stains: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, *L. plantarum* Danisco, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, *B. longum* Danisco, *Lactic acid bacteria* KC-5).

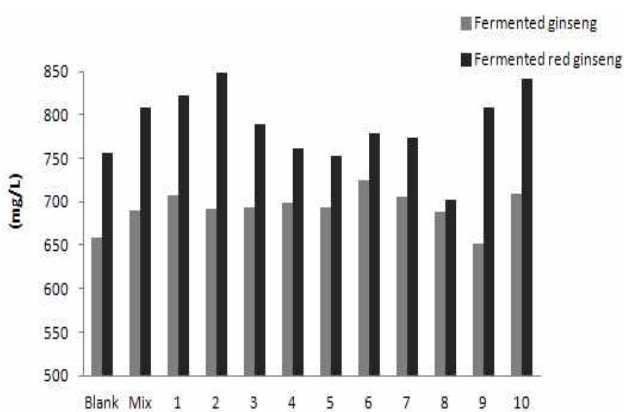


Fig. 7. Total phenol content of fermented ginseng/red ginseng extract by lactic acid bacteria.

(Stains: Mix 1~10 strains mix, 1 *Lactobacillus plantarum* KC-1, 2 *Lactobacillus brevis* KC-2, 3 *Lactobacillus* sp. KC-3, 4 KC-35, 5 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, 6 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, 7 *L. plantarum* Danisco, 8 *B. longum* Danisco, 9 *B. bifidum* Danisco-W, 10 *B. bifidum* Danisco-Y/ Fermentation condition: 37°C, 72 hr).

주를 이용하여 홍삼액 10°Brix를 각각 MRS 배지에 10%, 20%로 첨가하여 7일간 발효를 실시한 후 총 페놀성 화합물 함량을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 사용균주에 따라 차이가 있어 일부 균주에서는 발효전과 비교하여 감소하다가 다시 증가하는 경향을 나타내기도 하였으나, 발효가 0~7일 차까지 진행됨에 따라 총 페놀성 화합물의 함량은 전반적으로 약간 감소되는 경향을 나타내었다. Lee 등(16)은 인삼잎에서 총 폴리페놀 함량이 350.4 mg%이었으며, 발효 인삼잎에서는 312.5 mg%를 함유하여 발효과정에 의해 총 폴리페놀 함량은 다소 감소하는 것으로 나타났다고 보고한 바 있다.

홍삼액 10°Brix를 각각 MRS 배지에 10%, 20%로 첨가하여 7일간 발효를 실시한 후 전자공여능을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. 사용균주에 따라 차이가 있어 일부 균주에서는 발효전과 비교하여 감소하다가 다시 증가하는 경향을 나타내기도 하였으나, 발효가 0~7일차까지 진행됨에 따라 전자공여능은 전반적으로 약간 감소되는 경향을 나타내었

다. Lee 등(16)은 인삼잎의 전자공여능은 발효에 의해 활성이 증가하지는 않았다고 보고하였다.

(2) 인삼/홍삼 발효에 따른 총 페놀성 화합물 함량 및 전자공여능

유산균주를 이용하여 인삼 및 홍삼추출물의 발효를 실시한 후 총 페놀성 화합물 및 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 7~8과 같다. 인삼 발효액의 경우 대조구의 총 페놀성 화합물의 함량이 658 mg/L에서 9번(*B. bifidum* Danisco-W) 균주는 72시간 발효 후 652 mg/L 이었으며 나머지 균주의 경우 688~724 mg/L로 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 홍삼 발효액의 총 페놀성 화합물 함량을 분석한 결과 8번(*B. longum* Danisco) 균주는 발효전에 비하여 함량이 감소하였으나 이를 제외한 다른 균주를 이용한 발효에서는 발효전보다 발효후 총 페놀성 화합물 함량이 보다 높게 나타났다. 홍삼 발효액의 경우 발효 균주 종류에 따라 72시간 발효 후 총 페놀성 화합물을 측정한 결과 균주 종류에 따라 발효 초기보다 증가하거나 또는 감소하는 경향을 나타내어 일관된 경향성은 나타나지 않는 것으로 판단된다. Doh 등(18)은 발효인삼의 폴리페놀류 함량 측정 결과 무발효 추출물은 61.92±0.26 mg/10 g이었으며, 발효 추출물은 균주 종류에 따라 9.18±0.39~17.05±0.77 mg/10 g으로 낮게 나타나 전체적으로 발효시 무발효추출물의 폴리페놀 함량 보다 낮았다고 보고하였다. 또한, 발효시간의 변화에 따른 폴리페놀 함량은 균주 종류에 따라 증가하거나 감소하였으며, 효소 처리 발효인삼 추출물의 경우 발효 48시간까지는 폴리페놀 함량이 증가하였으나 72시간 발효에서는 함량이 감소하였다고 하였다. Kim 등(18)은 유산균을 이용하여 37°C에서 7일간 발효시킨 홍삼 발효물의 폴리페놀 함량은 대조구 22.52 µg/g과 비교하여 발효된 홍삼이 유산균 종류에 따라 27.17~29.71 µg/g으로 더 높게 나타났다고 보고하였다. Cho 등(19)의 연구에서도 *Lactobacillus* sp.를 이용한 홍삼

extract 발효시 대조구의 폴리페놀 함량이 936.8 µg/mL에서 일부 균주는 941.7~965.3 µg/mL으로 증가하였으나 균주간의 유의적인 차이는 없었으며 다른 균주에 의한 홍삼발효물의 폴리페놀 함량은 대조구보다 감소하였다고 보고하여 본 연구의 결과와 일치하는 경향을 보였다.

유산균주를 이용하여 인삼 및 홍삼추출물의 발효를 실시한 후 전자공여능을 측정한 결과 인삼 추출물 발효액의 경우 발효전 전자공여능이 35.21%에서 발효 후 균주 종류에 따라 71.58~79.28%로 증가하는 경향을 보였다. 그러나, 홍삼 추출액 발효시에는 발효전 전자공여능 68.62%에서 발효 실시 후 48.00~56.05%로 낮아지는 경향을 보였다.

인삼/홍삼 발효에 따른 총당 함량 변화

인삼 및 홍삼 추출액을 첨가하여 유산균주별로 발효를 실시한 후 총당 함량을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. 총당 함량은 발효에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, 인삼발효액의 경우 총당 함량이 초기 13.16 mg/g에서 발효 후 유산균주의 종류에 따라 2.62~11.42 mg/g으로 나타났다. 홍삼 발효액은 총당 함량이 초기 31.92 mg/g에서 발효 후 유산균주의 종류에 따라 7.68~18.1 mg/g으로 나타나 총당 함량은 발효에 따라 감소되는 경향을 보였다. Kim 등(18)은 *L. plantarum* M1을 이용하여 발효한 고려인삼의 진세노이드 함량 변화 연구에서 유산균주를 이용하여 발효한 홍삼발효물의 총당 함량 측정 결과 발효된 홍삼 발효물의 총당 함량이 4.52 mg/g~6.21 mg/g으로 대조구의 총당 함량 8.62 mg/g와 비교하여 감소하였으며, 각각의 균주 종류에 대해서는 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. Cho 등(19)은 *Lactobacillus* sp.를 이용하여 37°C에서 5일간 홍삼 추출물 발효시 대조구의 total carbohydrate 함량이 224.3 mg/mL이었으며 발효된 홍삼 extract의 total carbohydrate 함량은 158.8~200.9 mg/mL으로 *Lactobacillus* sp.의 생육에 의해 발효 후 total carbohydrate가 감소한 원인이라고 하였다.

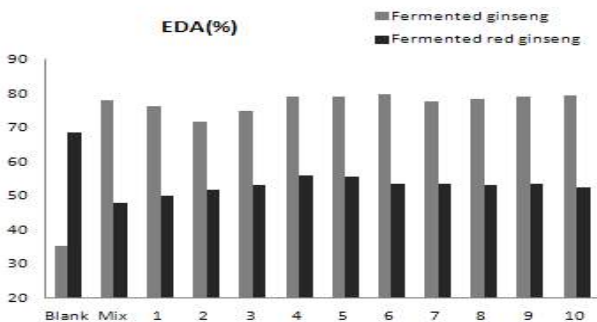


Fig. 8. Electron donating ability of fermented ginseng/red ginseng extract by lactic acid bacteria.

(Strains: Mix 1~10 strains mix, 1 *Lactobacillus plantarum* KC-1, 2 *Lactobacillus brevis* KC-2, 3 *Lactobacillus* sp. KC-3, 4 KC-35, 5 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, 6 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, 7 *L. plantarum* Danisco, 8 *B. longum* Danisco, 9 *B. bifidum* Danisco-W, 10 *B. bifidum* Danisco-Y | Fermentation condition: 37°C, 72 hr).

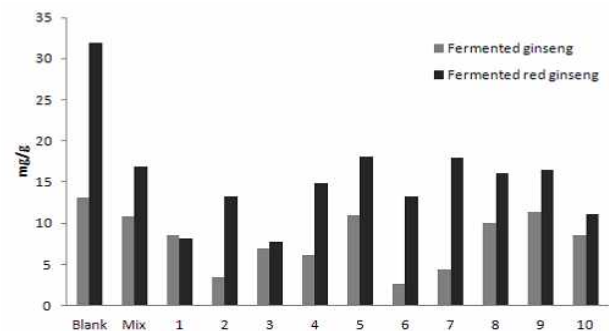


Fig. 9. Total sugar content of fermented ginseng/red ginseng extract by lactic acid bacteria.

(Strains: Mix 1~10 strains mix, 1 *Lactobacillus plantarum* KC-1, 2 *Lactobacillus brevis* KC-2, 3 *Lactobacillus* sp. KC-3, 4 KC-35, 5 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* KCTC 1058, 6 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* KCTC 3718, 7 *L. plantarum* Danisco, 8 *B. longum* Danisco, 9 *B. bifidum* Danisco-W, 10 *B. bifidum* Danisco-Y | Fermentation condition: 37°C, 72 hr)

요약

본 연구에서는 β -glucosidase 활성이 있는 유산균주를 이용하여 발효인삼의 ginsenoside 유용 유도체의 전환 검토 및 품질특성 알아보고자 하였다. β -glucosidase 활성 유산균주를 검색하여 인삼 및 홍삼 발효에 따른 TLC 패턴, ginsenoside 함량 변화, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능 및 총당 함량을 분석하였다. 37°C에서 65시간 발효 후 Rg2r, Rh2s, Rh2r은 모두 불검출되었으며, 인삼 및 홍삼 추출물 발효에서 발효전과 비교하여 Rg1, Re는 감소한 반면, Rh1, Rg2s, Rd, Rg3r, Rg3s는 발효 후 모두 증가한 것으로 나타났다. 홍삼에서 대표적인 성분으로 알려져 있는 Rg3의 경우 홍삼액 발효전 104.56 $\mu\text{g/mL}$ 에서 발효 후 균주 종류에 따라 114.83~131.68 $\mu\text{g/mL}$ 으로 증가하였다. 7일간 발효 후 홍삼액의 총 페놀성 화합물 및 전자공여능은 일부 균주에서는 발효전과 비교하여 감소하다가 다시 증가하는 경향을 나타내기도 하였으나, 발효가 0~7일차까지 진행됨에 따라 전반적으로 약간 감소되는 경향을 나타내었다. 전자공여능은 인삼 추출물 발효액은 발효 후 균주 종류에 따라 증가하는 경향을 보였으나, 홍삼 추출액은 발효 후 낮아지는 경향을 보였다. 인삼 및 홍삼 추출액을 첨가하여 유산균주별로 발효를 실시한 결과 총당 함량은 발효에 따라 감소하는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 호서대학교 2011년 교내 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Quan LH, Liang Z, Kim HB, Kim SH, Kim SY, Noh YD, Yang DC (2008) Conversion of ginsenoside Rd to compound K by crude enzymes extracted from *Lactobacillus brevis* LH8. *J Ginseng Res*, 32, 226-231
2. Yu HE, Cho SM, Seo GS, Lee BS, Lee DH, Lee JS (2006) Screening of bioactive compounds from mushroom *Pholiota* sp. *Korean J Mycol*, 34, 15-21
3. Park JD (1996) Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng. *Korean J Ginseng Sci*, 20, 389-415
4. Kim JH, Nah SY (2005) Effect of ginsenoside total saponins on experimental irritable bowel syndrome in rat. *J Ginseng Res*, 29, 94-99
5. Shin JE, Park EK, Kim EJ, Hong YH, Lee KT, Kim DH (2003) Cytotoxicity of compound K (IH-901) and ginsenoside Rh2, main biotransformants of ginseng saponins by bifidobacteria, against some tumor cells. *J Ginseng Res*, 27, 129-134
6. Kim HG, Kim KY, Cha CJ (2007) Screening for ginseng-fermenting microorganisms capable of biotransforming ginsenosides. *Korean J Microbiol*, 43, 142-146
7. Goldin BR (1998) Health benefits of probiotics. *Br J Nutr*, 80, 203-207
8. Jang MH, Kim MD (2010) Exploration of β -glucosidase activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Food Engineering Progress*, 14, 243-248
9. Park SJ, Kim DH, Paek NS, Kim SS (2006) Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria(FGL). *J Ginseng Res*, 30, 88-94
10. CHI H, KIM DH, JI GE (2005) Transformation of ginsenosides Rb2 and Rc from *Panax ginseng* by food microorganisms. *Biol Pharm Bull*, 28, 2102-2105
11. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28, 350 - 358
12. Amerine MA, Ough CS (1980) Methods for analysis of musts and wine. Wiley & Sons, New York, NY, USA, p 176-180
13. Han ST, Whang WK, Kim IH, Yang BW, Cho SH, Ko SK (2005) Analysis of ginsenosides of black ginseng. *Yakhak Hoeji*, 49, 490-494
14. Park MH, Park CK, Lee KS, Kim KC (1996) Changes of ginsenosides in ginseng marc by roasting process. *Korean J Ginseng Sci*, 20, 184-187
15. Choi WY, Lee CG, Song CH, Seo YC, Kim JS, Kim BH, Shin DH, Yoon CS, Lim HW, Lee HY (2012) Enhancement of low molecular ginsenoside contents in low quality fresh ginseng by fermentation process. *Korean J Medicinal Crop Sci*, 20, 117-123
16. Lee KS, Seong BJ, Kim GH, Kim SI, Han SH, Kim HH, Baik ND (2010) Ginsenoside, phenolic acid composition and physiological significances of fermented ginseng leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 1194-1200
17. Doh ES, Chang JP, Lee KH, Seong NS (2010) Ginsenoside change and antioxidation activity of fermented ginseng. *Korean J Medicinal Crop Sci*, 18, 255-265
18. Kim BG, Choi SY, Kim MR, Suh HJ, Park HJ (2010) Changes of ginsenosides in Korean red ginseng(*Panax*

- ginseng*) fermented by *Lactobacillus plantarum* M1.
Process Biochem, 45, 1319-1324
19. Cho HJ, Jung EY, Oh SH, Yoon B, Suh HJ, Lee HS
(2010) Microbial conversion of ginsenoside from the
extract of Korean red ginseng(*Panax ginseng*) by
Lactobacillus sp. J Food Sci Nutr, 15, 105-112

(접수 2013년 3월 4일 수정 2013년 8월 2일 채택 2013년 8월 5일)