

인삼(*Panax ginseng*)으로부터 생물전환을 이용한 생리활성물질인 Compound K의 생합성

김무성^{1,*} · 김자이² · 정경환³ · 유광원^{3,†} · 문기성^{3,†} · 이향렬^{3,†}

¹마크로케어, 연구소장

²한국교통대학교 식품생명학부, 학생

³한국교통대학교 식품생명학부, 교수

(2021년 10월 11일 접수: 2021년 10월 29일 수정: 2021년 10월 29일 채택)

Biosynthesis of Compound K, a biologically active saponin of *ginseng*(*Panax ginseng*) by bioconversion

MooSung Kim¹ · Ja-i Kim² · Kyung-Hwan Jung³ · Kwang-Won Yu^{3,†}
Gi-Seong Moon^{3,†} · Hyang-Yeol Lee^{3,†}

¹Macrocare Co., Ltd, 32, Gakri 1-gil, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Cheongju-si, Chungbuk

^{2,3}Division of Food Science and Biotechnology, Korea National University of Transportation,
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-guy, Chungbuk 27909,

(Received October 11, 2021; Revised October 29, 2021; Accepted October 29, 2021)

요 약 : 진세노사이드 Compound K는 트라이테펜계 사포닌으로써 인삼의 잎, 줄기, 뿌리등에서 발견된다. 본 연구는 효소 Plantase를 이용하여 인삼 추출물로부터 고부가가치의 진세노사이드인 Compound K를 생산하는 연구를 하였다. Plantase는 인삼추출물에서 Compound K를 매우 효율적으로 생산함을 보여 주었다. 또한 다양한 온도와 pH에서 Compound K 생산에 대한 최적의 반응을 조사한 결과 pH 5, 50 °C에서 가장 높은 효율을 보였다. 최적 조건에서 Compound K는 전체 추출물의 35%이상 농축될 수 있음을 확인하였다.

생물전환된 Compound K 농축물의 항균효과를 검정한 결과 여드름균인 *Cutibacterium acnes* KCTC 3314에 선택적인 활성을 보였다. Compound K (35% 함유) 인삼 생물전환물의 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대한 최소저해농도 측정 결과 31.25ug/mL로 확인되었다. 따라서 향후 여드름균 완화용 화장품의 잠재적 소재로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

주제어 : Ginsenoside, Compound K, Bioconversion, *Panax ginseng*, Antimicrobial effect

†Corresponding author

(E-mail: kwyu@ut.ac.kr, gsmoon@ut.ac.kr, hyl@ut.ac.kr)

*These authors contributed equally: Kwang-Won Yu, Gi-Seong Moon and Hyang-Yeol Lee.

Abstract : Ginsenoside Compound K is a triterpene saponin found in the leaves, stems and roots of *Panax ginseng*. This study aimed to prepare a valuable ginsenoside Compound K using ginseng extracts with the enzyme(Plantase). Plantase showed very efficient activity to produce Compound K from ginseng extracts. Plantase exhibited the highest activity at pH 5 and 50 °C, as a result of investigating the yield of Compound K by changing the temperature and pH, while fixing the enzyme concentration to 10% or 15% over 48 hours of reaction time. Under optimum conditions, Plantase produced and accumulated Compound K over 35 wt% of whole ginseng extracts. Antimicrobial activity of bioconverted ginseng extracts showed selectivity against *Cutibacterium acnes* KCTC 3314. Minimal inhibitory concentration (MIC) of bioconverted ginseng extract (35% of Compound K enriched extract) against *Cutibacterium acnes* KCTC 3314 strain is 31.25ug/mL. These results suggest that the Compound K enriched extract is potential materials for cosmetic products and Plantase is a very useful enzyme for Compound K production.

Keywords : Ginsenoside, Compound K, Bioconversion, *Panax ginseng*, Antimicrobial effect

1. 서론

인삼은 항암, 항염, 항산화, 치매, 항당뇨 등의 효능이 있는 것으로 알려져 널리 이용되어 왔는데 이와 같은 효능은 인삼 속의 사포닌 성분인 진세노사이드로부터 기인한다. 90% 이상의 진세노사이드는 분자량이 큰 배당체 형태의 major 진세노사이드로써 생체 내 흡수율이 낮은 것으로 알려져 있다[1-6]. Major 진세노사이드는 섭취 시 장내 미생물에 의해 당 가수분해 되어 작은 분자량을 가진 minor 진세노사이드로 전환되어 흡수된다. 특히 분자량이 작은 minor 진세노사이드가 효능이 우수한 것으로 알려져 있으며 대표적으로 항염, 독성물질에 대한 간장보호, 피부보호, 알츠하이머 예방, 항암효능, 항알러지 작용 등이 잘 알려져 있는 Compound K가 있다[7-9]. Compound K는 진세노사이드의 활성성분으로써 Rb₁, Rb₂ 및 Rc등이 사람의 장내 미생물에 의해 탈당과정을 거쳐 생성된다고 알려져 있다. 그러나 사람의 체질 또는 식습관에 따라 장내미생물의 종류와 분포가 달라 인삼을 섭취하여도 Compound K와 같은 minor 진세노사이드가 생성되는 정도가 달라 사람마다 효능의 차이가 발생한다. 따라서 목표로 하는 진세노사이드의 함량을 높이기 위해 산처리, 미생물발효, 효소[7] 등 다양한 방법을 사용하고 있다. 특히 compound K는 자연계에 미량 존재하기 때문에 식품, 화장품, 제약 분야 등의 상업적 사용에 필요한 생산량을 얻기 위해서는 대량 생산할 수 있는 최적공

정에 대한 연구가 필요하다[10]. 활성성분인 compound K는 충치균(*Streptococcus mutans*)등을 포함한 포도상구균속(*Staphylococcus*) 균주, 바실루스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 등에 항균 효과가 있음이 보고되어 있다[11-12]. 본 논문에서는 생리활성 성분인 compound K를 주성분으로 함유하는 인삼추출물을 얻기 위해 효소(Plantase)를 이용하여 생물전환하는 공정을 연구하였으며 또한 compound K를 35% 이상 함유하는 생물전환(BC) 소재제품을 얻기 위해 생산공정을 최적화하였다. 진세노사이드는 또한 항균효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있는데 최근 여드럼균에 항균효과가 우수한 신규물질인 panaxydol과 panaxynol 등이 보고 되어 있다[13-15]. 우리는 생물전환을 통해 얻은 고농도의 compound K를 함유한 생물전환물(BC)에 대해 다양한 균주를 대상으로 항균효과를 검증하고 비교해 보았다. 본 논문의 결과는 출원된 특허를 바탕으로 작성되었습니다[16].

2. 실험

2.1. 실험재료 및 기기

표준물질 진세노사이드 Rb₁, Rc, Rb₂, Rd, F₂, compound K(Sigma/Aldrich, US), Dimethyl Sulfoxide(Daejung, Siheung, Korea), RCM broth(BD, Sparks, MD), resazurin sodium salt (TCI Co. Ltd., Tokyo, Japan) 제품을 구입하여

정제없이 사용하였다. 효소는 사전 screening을 통해 반응 가능한 효소(Plantase)를 확보하여 사용하였다. 연구에 사용된 인삼은 충북 증평 지역 재배 농가로부터 구입하여 사용하였다.

0.45um 주사필터(Agela Technologies Inc., Wilmington, DE), 8mm paper disc(Advantec Toyo Kaisha, Ltd. Tokyo, Japan), 험기챔버(DG250; Don Whitley, Scientific Ltd., Bingley, UK), UPLC/MS 분석은 고성능 Q-TOF LC MS/MS 시스템에 1.7 m입자를 가진 2.2 x 100mm 크기의 C18 칼럼을 사용하였으며 0.6 mL min⁻¹의 유속 및 ESI source를 사용하여 측정하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 총 사포닌 분석

총 사포닌(total saponin) 분석법은 바닐린-황산 방법을 검토하였으며, 시험법은 아래와 같이, 인삼의 사포닌 성분을 80% 메탄올로 추출하고 바닐린-황산 용액으로 발색시킨 후 545 nm에서 분광도를 측정하여 총 사포닌을 정량하는 방법으로서 ginsenoside-Re를 표준물질로 사용한다. 그러나 이 방법은 전처리 단계가 길어 정확도가 다소 불안정하며, 본 연구에서는 ginsenoside 각 성분의 변화를 보는 것이 필요하여, 인삼의 기본 성분분석에만 사용하였으며, 활성형 진세노사이드를 위한 반응에는 HPLC 분석법을 사용하였다. 인삼의 사포닌 성분을 80% 메탄올로 추출하고 바닐린-황산 용액으로 발색시킨 후 545 nm에서 분광도를 측정하여 총 사포닌을 정량하는 방법으로서 ginsenoside-Re를 표준물질로 사용한다. 표준원액으로 Ginsenoside-Re 표준품 5 mg을 메탄올에 녹이고 50 mL로 정용하여 표준원액으로 사용한다. 표준원액 보관용액 1, 2, 3, 4, 5 mL을 각각 정확히 취하고 메탄올을 가하여 5 mL로 정용한다. 시료 약 1 g를 정밀히 달아 등근바닥 플라스크에 넣고 80% 메탄올 용액 30 mL을 가하여 수욕조에서 1시간 동안 환류 추출한 후 여과한다. 잔류물에 80% 메탄올 용액 20 mL을 가하여 환류 추출하고 여과한다. 이 조작을 1회 더 반복한다. 여액을 한데 합쳐서 감압 농축한다. 농축물을 증류수 10 mL에 녹여서 분액깔때기로 옮기고 에테르 10 mL을 가하여 분배 추출하고 에테르 층을 버린다. 이 조작을 1회 더 반복한다. 물 층에 물 포화 부탄올 10 mL을 가하여 분배

추출하고 물 포화 부탄올 층을 취한다. 이 조작을 3회 더 반복한다. 물 포화 부탄올 층을 한데 합치고 증류수로 10 mL씩 2회 세척한 후 물 포화 부탄올 층을 취하여 감압 농축한다. 농축물을 메탄올에 녹이고 50 mL로 정용하여 시험용액으로 사용한다. 총 사포닌의 분석은 시험용액 100 μ L을 정확히 취하여 시험관에 넣고 얼음물 속에서 8% 바닐린-ethanol 용액 0.3 mL과 72% 황산 용액 4 mL을 가한다. 시험관을 60°C 항온 수조에 넣고 10분간 가온하여 내용액을 발색시킨 후 545 nm에서 분광도를 측정한다. 검량선의 작성은 Ginsenoside-Re 표준용액 각 100 μ L을 정확히 취하여 앞의 방법에 준하여 발색시킨 후 분광도를 측정한다. 각 표준용액의 분광도와 ginsenoside-Re의 농도 간에 검량선을 작성한다.

시료에 함유되어 있는 총 사포닌 함량(Y)은 다음 식에 준하여 계산한다.

$$Y (\%) = Y' \times \{(T / V) / W\} \times 100$$

Y': 시험용액의 분광도를 검량선에 대입하여 구한 양 (mg)

T: 사포닌 추출액을 정용한 부피 (mL)

V: 분광도 측정 시 취한 부피 (μ L)

W: 시료 채취량 (mg)

2.2.2. Ginsenoside의 HPLC 분석 방법

진세노사이드의 성분과 함량을 확인하기 위해서 HPLC 분석실험을 진행하였다. 분석용 C-18 컬럼을 이용하였으며, column의 유속은 1.0 mL/min 이었고, 이동상 용매로는 Acetonitrile (A)과 정제수(B)를 gradient 조건(표)으로 분리하였다. Ginsenoside 함량은 파장 210nm로 고정하여 UV Detector로 분석하였다.

Table 1. Gradient condition for the HPLC analysis

Time	ACN (A)	H ₂ O (B)
0	20	80
10	20	80
25	24	76
30	33	67
42	37	63
87	80	20
88	100	0
98	60	40
100	20	80

상기 분석조건에서 각 ginsenoside standard를 분석한 retention time은 아래와 같다.

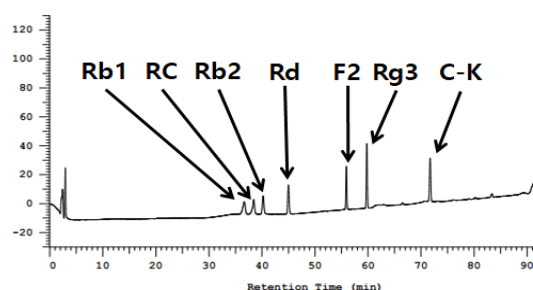


Fig. 1. HPLC profile of ginsenoside standards.

2.2.3. 총 폴리페놀(polyphenol) 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 응용하여 측정하였다[17]. 5ml의 추출물에 Folin-Ciocalteu 시약 5ml를 첨가하고 5분간 정치시킨 후 10% Na_2CO_3 용액을 가하여 혼합, 발색시키고 실온에서 1시간 정치한 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질은 gallic acid를 기준으로 환산 하여 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

2.2.4. 총 플라보노이드(flavonoid) 함량

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등이 개발한 방법으로 측정하였다[18]. 증류수 4ml이 들어있는 시험관에 시료 1ml을 가하고 5분 경과 후 5% NaNO_2 0.3ml과 10% AlCl_3 0.3ml을 차례로 가하였다. 대조군은 시료 대신 증류수 1ml을 가하였다. 시작 시간으로부터 6분이 경과한 시간에 1M NaOH 2ml을 가하고 증류수를 추가로 넣어 10ml로 만든 다음 골고루 섞었다. 분홍색을 띠는 시료를 415nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며 이 때 표준물질은 catechin을 기준으로 환산하여 총 플라보노이드를 표시하였다.

2.2.5. 효소 처리한 인삼추출물 중 compound K 함량 측정 기준 및 시험법

2.2.5.1. 성상 사용한 인삼추출물 시료는 황색 또는 옅은 황색의 가루 형태.

2.2.5.2. 확인실험

이 원료 2mg을 메탄올 1ml에 넣어 완전히 녹여 검액으로 한다. Compound K 표준품 메탄올에

녹여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 각 20 μl 씩을 박층크로마토그래프용실리카겔(60 F₂₅₄) 위에 점적하고 클로르포름 : 메탄올 : 증류수(65 : 35 : 10)혼합액을 전개용매로 하여 박층판에 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 건조된 박층판을 254nm의 자외선램프로 관찰하고, 발색제(10% 황산용액)를 고르게 뿌리고 105 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 가열하여 발색시킨 다음 육안에서 관찰한다.

2.2.5.3. 순도시험

이 원료 0.01g을 ethanol 100ml에 넣어 녹일 때 액은 옅은 황색이며 맑다.

중금속 : 이 원료 1.0g을 달아 장원기 일반 시험법중 제 2법에 따라 조작하여 시험한다. 비교액에는 납표준액 1.0ml를 넣는다.(10ppm 이하)

비소 : 이 원료 1.0g을 달아 장원기 일반 시험법중 제 3법에 따라 조작하여 시험한다. 비교액에는 비소표준액 2.0ml를 넣는다.(4ppm 이하)

2.2.5.4. 유도결합플라즈마분광기 사용방법

① 검액 및 표준액의 조제: 납시험법 항의 표준액 및 검액의 조제와 같은 방법으로 만든 액을 검액 및 표준액으로 한다.

② 시험조작: 각각의 표준액을 다음의 조작조건에 따라 유도결합플라즈마분광기(ICP spectrometer)에 주입하여 얻은 비소의 검량선을 가지고 검액 중 비소의 양을 측정한다.

2.2.5.5. 조작조건

파장: 193.759 nm(방해성분이 함유된 경우 비소의 다른 특성파장을 선택할 수 있다)

플라즈마가스: 아르곤(99.99 v/v%이상)

잔류용매(ethanol) : 이 원료 0.2g을 정밀하게 달아 디메틸설폭사이드를 넣어 정확하게 10ml로 하여 검액으로 한다. 따로 ethanol 표준품을 0.2g을 정밀하게 디메틸설폭사이드를 넣어 정확하게 100ml로 하고, 이 액 10ml을 정확하게 취하여 여기에 디메틸설폭사이드를 넣어 정확하게 100ml로 하여 표준액으로 한다. 검액과 표준액 각 1 μl 씩을 가지고 다음의 조작조건으로 기체크로마토그래프법에 따라 시험하여 ethanol의 피크면적 A_T 및 A_S 를 이용하여 ethanol 잔류량을 구한다(ethanol 500ppm 이하).

ethanol의 양(mg) =

$$\frac{A_T}{A_S} \times \text{ethanol 표준품의 양(mg)}$$

조작조건(HEWLETT PACKARD 5890)

검출기 : 불꽃이온화 검출기(Waters, SYS. IMT, MDD)

칼럼 : 안지름 0.2mm, 길이 50m의 관에 폴리에틸렌글라이콜 TPA가 교차결합된 HP-FFAP를 0.3 μ m 두께로 피복 처리한 칼럼

칼럼 온도 : 주입 후 7분 까지 50°C로 유지하고 230°C가 될 때까지 매분 당 10°C로 상승시킨 다음 5분간 유지.

주입구온도 : 240°C

검출기온도 : 240°C

이동상 : 헬륨

유속 : 0.8ml/min.

건조감량 1.0% 이하(1g, 105°C, 2시간)

강열잔분 0.2% 이하(1g, 제 3법)

2.2.5.6. 정량법

이 원료 약 50mg을 정밀하게 달아 메탄올로 녹여 정확하게 100ml로 하여 검액으로 한다. 따로 Compound K 표준품 10mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확히 100ml로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ l씩을 취하여 다음의 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 Compound K의 피크면적 A 및 B를 이용하여 Compound K의 함량을 구한다. 기용기용리법 조건은 Table 1과 동일하다.

Compound K 함량(mg/g) =

$$\frac{A \times B}{\text{시료 채취량(g)}} \times S \times \frac{1}{1000}$$

S : 시험용액 중 진세노사이드 농도(μ g/g)

A : 시험용액의 전량(mL)

B : 희석배수

조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계(UV 210nm)

칼럼 : 내부직경 4.6mm, 길이 250mm인 스테인레스관에 5 μ g의 액체크로마토그래프용 옥타데실 실란화한

실리카겔을 충전.

칼럼온도 : 30°C

유속 : 1.0ml/min.

이동상 : 아세토나이트릴 (A), 물 (B)

2.2.6. Compound K 고함유 인삼 생물전환물의 항균활성 및 최소저해농도(MIC; minimal inhibitory concentration) 측정

피부상재균 등에 대한 항균활성 측정을 위해 compound K 고함유(35wt%) 인삼 생물전환물 (Bioconversion; BC)을 10,000 μ g/mL 농도로 Dimethyl Sulfoxide(Daejung, Siheung, Korea)에 녹인 후 여과(0.45 μ m 주사필터; Agela Technologies Inc., Wilmington, DE)하여 사용하였다. 대상균주로는 *Cutibacterium acnes* KCTC 3314, *Candida albicans* KCTC 7270, *Staphylococcus aureus* KCTC 3881, *Staphylococcus epidermidis* CJNU 0754 균주를 사용하였다. 각각의 균주는 한천(agar)을 적당량 첨가한 최적배지에 접종하여 섞은 후 고체배지 상에 부었다. 즉, *C. acnes* KCTC 3314 균주는 RCM broth(agar 1.2%)(BD, Sparks, MD)에, *C. albicans* KCTC 7270 균주는 YPD broth(Yeast extract 10g/L, Peptone 20g/L, Dextrose 20g/L; agar 0.7%)에, *S. aureus* KCTC 3881 균주와 *S. epidermidis* CJNU 0754 균주는 MRS broth(agar 0.7%)(BD)에 1% 접종하여 현탁 후 고체배지 상에 부은 후 그 위에 8mm paper disc(Advantec Toyo Kaisha, Ltd. Tokyo, Japan)를 올리고, 시료 30 μ L를 점적한 후 37°C에서 정치배양 하면서 생육저해환(inhibition zone) 생성 유무를 관찰하였다. *C. acnes* KCTC 3314 균주는 혐기챔버(DG250; Don Whitley, Scientific Ltd., Bingley, UK)에서 배양하였다.

최소저해농도 측정을 위해서는 RCM broth (Difco)에 compound K 고함유 인삼 생물전환물의 최종농도를 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 μ g/mL이 되도록 첨가한 후 *C. acnes* KCTC 3314 균주를 0.1% 펩톤수에 현탁하여 각 well당 최종 균수가 1 \times 10⁵ CFU/mL이 되도록 접종하였다. 37°C에서 24시간 혐기배양한 후 resazurin sodium salt(TCI Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 최종농도 100 μ g/mL이 되게 배양액에 첨가한 후 진탕배양기(37°C, 100rpm)에서 4시간 반응하였다. 색의 변화가 관찰되지 않는 최소 첨가 농도를 최소저해농도 값으로 결정하였다.

3. 결과 및 고찰

인삼에 함유된 많은 사포닌 중 주요 활성성분의 하나인 compound K는 인삼에는 거의 존재하지 않는 것으로 알려져 있으며, 홍삼에는 없거나 극소량 존재하는 진세노사이드이다. 일반적으로 compound K를 생성하는 방법은 glucosidase류를 활용한 효소적 방법이 대중적이며 다양한 효소를 활용하여 제조한다. 본 실험에는 사전 screening을 통해 반응 가능한 효소(Plantase)를 확보하였으며, 실험을 통해 효소의 최적조건을 설정하였다. 효소의 최적조건을 확립하기 위해서 인삼 추출물을 10%(w/v)로 제조하고 온도, pH, 반응시간, 효소의 양 등의 최적조건을 확인하였다.

3.1. 선정효소의 최적온도 확립

최적 온도를 확인하기 위하여 효소(Plantase)의 농도를 10%(w/v), pH 5, 반응시간을 48시간으로 고정하고 온도는 30, 40, 50, 60, 70°C로 조정하여 200rpm으로 교반하며 반응하였다. 반응 후 3000rpm으로 10분간 원심분리하고 침전물과 상층액을 따로 회수하여 생성된 compound K의 함량을 확인하였다. 50°C에서 compound K의 생성량이 가장 많은 것을 확인하였으며, 추후 모든 실험에서는 50°C로 고정하여 실험을 진행하였다.

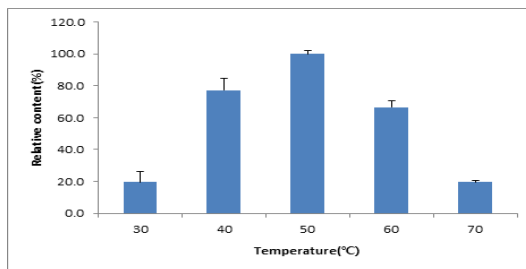


Fig. 2. Effect of temperature of enzyme on compound K production.

3.2. 효소의 최적 pH 확립

상기와 같은 방법으로 온도는 50°C로 고정하고 pH를 4, 4.5, 4.75, 5, 5.5로 조정하여 최적 pH를 확인하였다. 인삼 추출물의 고형분을 10%로 맞춘 추출물의 최적 pH는 4.75-5.0으로서 pH 보정없이 효소를 바로 첨가하는 것이 compound K 생성에 효과적이었다.

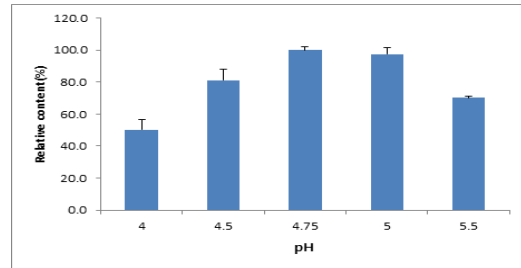


Fig. 3. Effect of pH of enzyme on compound K production.

3.3. 효소 농도 및 반응시간의 영향

효소 10%(w/v)을 첨가하였을 경우 96시간에서 최적의 시간을 나타내었다. Compound K는 96시간에서 최대값을 나타내었고 그 이후 compound K는 증가하지 않은 것으로 확인되었다. 반응시간을 단축시키고자 효소의 양을 2배로 늘려 compound K 전환 양을 확인하였으며, 효소 15%(w/v)를 사용한 경우 compound K는 72시간에서 10% 효소 처리시 보다 높은 compound K 생성을 확인하였다. 따라서, 최적조건은 Fig. 4에서 나타난 바와 같이 효소 15%, 반응 온도 50°C, pH 4.75, 반응시간 72시간으로 정하였다.

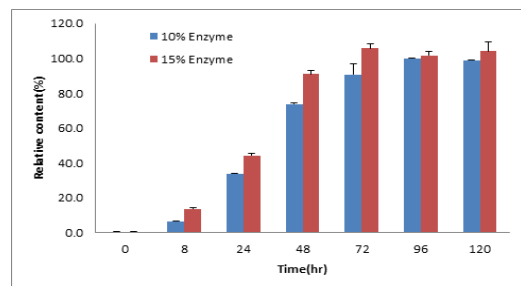


Fig. 4. Time course of compound K production using 10% and 15% enzyme. □(blue); 10% enzyme, □(red); 15% enzyme.

시간에 따른 ginsenoside 성분의 변화를 HPLC로 측정하여 표준물질과 비교한 결과를 보면 Fig. 5에 나타난 바와 같이 반응 초기에는 Rb₁, Rc, Rb₂ 등이 주로 분석되나 시간이 경과함에 따라 Rd가 증가하고 이어서 F₂가 형성되며 이후에 compound K 함량이 증가하는 것으로 확인되었다.

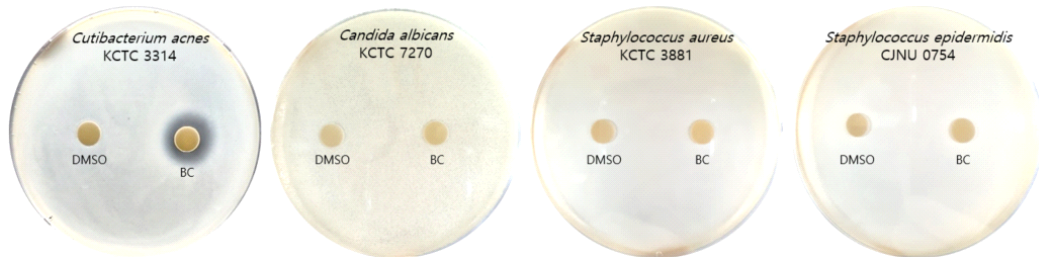


Fig. 7. Antimicrobial activity of bioconverted ginseng extract against several microorganisms related to human skin. DMSO, negative control (solvent); BC, bioconverted ginseng extract. BC; 10.0mg/mL

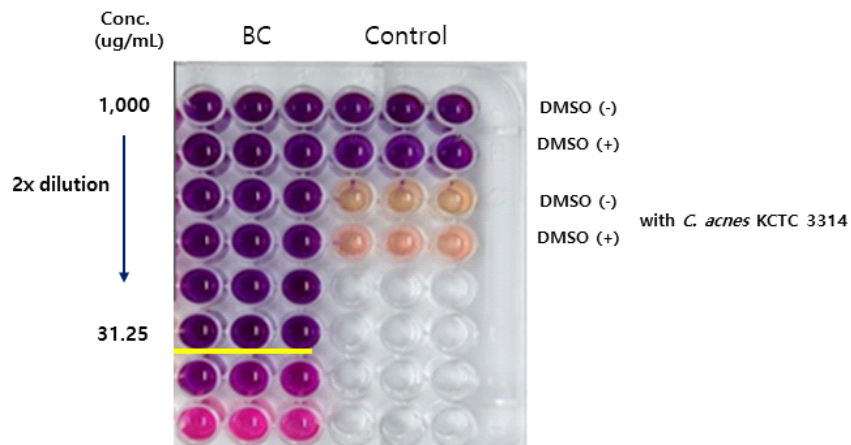


Fig. 8. Minimal inhibitory concentration (MIC) of bioconverted ginseng extract (BC) against *Cutibacterium acnes* KCTC 3314 strain. DMSO, negative control (solvent); BC, bioconverted ginseng extract.

3.4. Compound K (35%) 인삼 생물전환물 (BC)의 항균활성 측정

한천확산법에 의한 compound K (35%) 인삼 생물전환물의 항균활성 시험 결과, 여드름 원인균인 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대해서만 생육 저해환이 관찰되었다(Fig. 7). 이는 compound K 인삼 생물전환물이 여드름 원인균인 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대하여 항균 선택성(selectivity)이 있음을 의미한다. 추가적으로 compound K 고함유 인삼 생물전환물의 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대한 최소저해농도 측정 결과 31.25ug/mL로 확인되었다(Fig. 8).

인삼으로부터 생리활성성분인 Compound K를 생물전환법을 이용하여 최적화하는 연구를 통해

다음과 같은 결과를 얻었다. 효소(Plantase)의 농도를 10%(w/v), pH 5, 반응시간을 48시간으로 고정하고 온도를 변화하여 compound K의 수율을 조사한 결과 50°C에서 Compound K가 최적의 생성량을 보이는 것을 확인하였다. 온도를 50°C로 고정하고 pH를 4, 4.5, 4.75, 5, 5.5로 조정하여 최적 pH를 확인한 결과 최적 pH는 4.75-5.0에서 Compound K 생성이 가장 효과적이었다. 효소 10%(w/v)을 첨가하였을 경우 96시간에서 최적의 시간을 나타내었으며, 효소를 15%(w/v)로 사용한 경우 compound K는 72시간에서 가장 높은 수율을 기록하였으며 평균 35% 이상의 함량을 가지는 기능성 소재를 얻을 수 있었다. Ginsenoside 성분의 변화를 HPLC로

측정한 결과 $Rb_1 \rightarrow Rc \rightarrow Rb_2 \rightarrow Rd \rightarrow F_2 \rightarrow$ compound K 순으로 전환되는 것을 확인하였다. Compound K 고함유 인삼 생물전환물이 여드럼 원인균인 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대하여 항균 선택성(selectivity)이 있었으며 Compound K 고함유 인삼 생물전환물의 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대한 최소저해농도 측정 결과 31.25ug/mL로 확인하였다.

4. 결론

연구결과 인삼추출물에 효소를 처리하여 효과적으로 35% 이상의 고농도 compound K 함유 생물전환물을 얻을 수 있었으며 공정을 최적화할 수 있었다. 또한 이 소재에 대한 항균효과를 검증하여 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대해 선택적으로 저해효과(MIC = 31.25ug/mL)가 있음을 새로이 밝혔다. 최근 연구결과에 의하면 홍삼 추출물로부터 여드럼균에 항균효과가 있는 신규 물질인 panaxydol과 panaxynol 등이 발견되었다 [13]. 이 중 panaxynol이 12.5–25mg/mL농도에서 저해환 측정을 통해 우수한 저해효능이 있음을 보였다. 본 연구에 사용한 생물전환추출물 BC는 이보다 낮은 10mg/mL 농도, 특히 순수한 물질이 아닌 35wt% 함유 추출물에서도 여드럼균에 대해 우수한 저해효능을 보여 본 생물전환물 소재가 매우 뛰어난 항균소재가 될 수 있음을 시사하고 있다.

또한 피부상재균인 *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* 등을 대상으로한 compound K 고함유 추출물의 항균효능 평가에서 다양한 균들 중 오직 여드럼균인 *C. acnes* KCTC 3314 균주에 대해서만 선택적으로 저해효능을 보였다. 기존에 출원된 특허들에서 순수한 compound K가 *Staphylococcus* 균주 등에 항균효능이 있음을 보고하고 있으나 [11–12] 본 연구에서 사용한 35% 함유 compound K 소재의 농도(10mg/mL)에서는 여드럼균 이외에는 항균효과를 거의 보이지 않았다. 뿐만 아니라 여드럼균에 대한 compound K의 항균효과에 관한 연구논문도 제가 아는한 알려진 바가 거의 없다. 따라서 compound K는 진세노사이드 중 여드럼균에 대한 완화효과가 우수해 보이므로 본 소재를 기초화장품 등에 이용할 경우 매우 우수한 기능성 소재가 될 수 있음을 암

시하고 있다. 그러나 compound K가 여드럼균에만 선택성을 보이는 이유는 아직 알려져 있지 않으므로 앞으로 추가 기초연구가 더 필요해 보인다.

감사의 글

이 논문은 2021년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구지원사업(No. 2021R1A6A1A03046418)이며, 또한 2021년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반 지역혁신 사업의 결과입니다(No. 2021RIS039301).

References

1. M-H. Han, G. S. Moon, "Bioconversion of Ginseng Using Microorganisms", *Journal of Biotechnology and Bioindustry*, Vol. 7, pp. 5–11, (2019).
2. B. X. Wang, J. C. Cui, A. J. Liu, S. K. Wu, "Studies on the anti-fatigue effect of the saponins of stems and leaves of *Panax ginseng*(SSLG)", *Journal of Traditional Chinese Medicine*, Vol. 3, pp. 89–94, (1983).
3. A. S. Attele, J. A. Wu, C. s. Yuan, "Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions", *Biochemistry Pharmacology*, Vol. 24, pp. 119–127, (1999).
4. B. Kenarova, H. Neychev, C. Hadjiivanova, V.D. Petkov, "Immunomodulating activity of ginsenoside Rg1 from *Panax ginseng*", *Japan Journal of Pharmacology*, Vol. 54, pp. 447–454, (1990).
5. K. S. Im, H. Y. Chung, S. H. Park, N. K. Je, "Anticancer effect of the hydrolyzed monoglucoside of total saponin from ginseng leaf", *Korean Journal of Ginseng Science*, Vol. 19, pp. 291–294, (1995).
6. H. Saito, Y. Yoshida, K. Takagi, "Effect of *Panax ginseng* root on exhaustive exercise in mice", *Japan Journal of*

- Pharmacology*, Vol 24, pp. 119-127, (1974).
7. E. Choi, E. Kim, J. H. Kim, K. Yoon, S. Kim, J. Lee, "AKT1-targeted proapoptotic activity of compound K in human breast cancer cells", *Journal of Ginseng Research*, Vol. 43, pp. 692-698, (2019).
 8. S. J. Lee, J. S. Lee, E. Lee, T-G. Lim, S. Byun, "The ginsenoside metabolite compound K inhibits hormone-independent breast cancer through downregulation of cyclin D1", *Journal of Functional Foods*, Vol. 46, pp.159-166, (2018)
 9. A. Sharma, H. J. Lee, "Ginsenoside Compound K: Insights into Recent Studies on Pharmacokinetics and Health-Promoting Activities", *Biomolecules*, Vol. 10, pp. 1028-1069, (2020).
 10. S. J. Kim, C. S. Park, "Production of Compound K using ginsenosides from ginseng leaf by commercial enzyme", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol. 26, No. 6, pp. 2287-7428, (2019)
 11. H. M. Oh, S. Y. Lee, E. G. Lee, D. S. Ahn, "Anti-microbial agent consists of Ginsenoside compound K", Korea Patent No. 10-2012-0139612, (2012)
 12. Y. Her, J. H. Oh, "Ginsenosides and composition effective to inhibit growth of dental cavity-causing bacteria (*Streptococcus mutans*)", Korea Patent No. 10-2018-0094763, (2020).
 13. J. H. Hou, H. Shin, K. H. Jang, C. K. Park, B. Koo, H. Shin, S. H. Yuk, K. Y. Lee, "Anti-acne properties of hydrophobic fraction of red ginseng(*Panax ginseng* C.A. Meyer) and its active components", *Phytotherapy Research*, Vol. 33, pp. 584-590, (2019).
 14. J. S. Kim, J. E. Kang, I. H. Yu, K. H. Jung, G. S. Moon, H. Y. Lee, "Antimicrobial and Immunological Activities of Vinca minor Extracts", *Journal of Korean Oil Chemists' Society*, Vol. 32, No. 1, pp. 108-115, (2015).
 15. K. H. Jung, H. Y. Lee, "Escherichia coli β -galactosidase-catalyzed synthesis of 2-phenoxyethanol galactoside and its characterization", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, Vol. 38, No. 2, pp. 365-372, (2015).
 16. M. S. Kim, S. R. Lee, K. W. Jung, "Extraction methods for compound K", submitted Korea Patent No. 10-2-21-0061366, (2021)
 17. O. Folin, W. Denis, "Protein metabolism from the standpoint of blood and tissue analysis", *Journal of Biological Chemistry*, pp. 161-167, (1912)
 18. J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming, "The determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals", *Food Chemistry*, Vol. 64, pp. 555-559, (1999).