



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

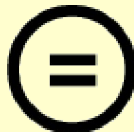
다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이학석사 학위논문

고려인삼 세근과 잎 추출물의
항균활성 조사



2012년 2월

부경대학교 대학원

미생물학과

김아름

이학석사 학위논문

고려인삼 세근과 잎 추출물의
항균활성 조사

지도교수 이 명 숙

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2012년 2월

부경대학교 대학원

미 생 물 학 과

김 아 름

김아름의 이학석사 학위논문으로 인준함.

2012年 2月



주 심 부 박 사 김 군 도 (인)

위 원 박 사 김 경 호 (인)

위 원 박 사 이 명 속 (인)

목 차

Abstract	v
서론	1
재료 및 방법	3
1. 실험재료	3
1.1. 인삼 부산물 준비 (세균, 잎)	3
1.2. 세균 배양	4
1.3. 숙주세포 배양 및 바이러스 증식	6
2. 실험방법	7
2.1. 일반 성분 분석	7
2.2. 발효를 위한 균주 선별 및 배지 제조	7
2.3. 항균성 물질 추출	8
2.4. 추출물의 항균 활성 평가	9
2.4.1. 디스크 확산법 (paper disc method)	9
2.4.2. 진탕 플라스크법 (shaking flask method)	10
2.5. 추출물의 항바이러스 활성 평가	11
2.6. 추출물의 HPLC 분석	12

결과 및 고찰	14
1. 고려인삼 세근과 잎의 일반 성분 분석	14
2. 발효를 위한 적합 균주 및 배지 농도 선정	16
2.1. 발효 균주 선정	16
2.2. 배지 농도 선정	19
3. 항균 활성 평가	23
3.1. 디스크 확산법 (paper disc method)	24
3.2. 진탕 플라스크법 (shaking flask method)	27
4. 항바이러스 활성 평가	29
5. 추출물의 HPLC 분석	31
요 약	36
감사의 글	38
참고문헌	40

List of Tables

Table 1. Various microorganisms used for this study	5
Table 2. Solvent gradient program of HPLC analysis	13
Table 3. Proximate compositions of ginseng fine root and leaf	15
Table 4. Change of viable cells count and antibacterial activity in ginseng fine root broth by various microorganism	17
Table 5. Change of growth rate and antibacterial activity in ginseng leaf broth by various microorganisms	18
Table 6. Antibacterial activity in ginseng fine root and leaf broth by various concentration	22
Table 7. Reduction rate on <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> by methanolic extracts of ginseng fine root and leaf	28
Table 8. Virucidal activity of ginseng fine roots and leaves methanolic extracts against <i>Feline calicivirus</i>	30
Table 9. Comparison of major ginsenosides of fermented ginseng extracts by <i>Lactobacillus plantarum</i>	35

List of Figures

Fig. 1. Change of viable cell counts in ginseng fine root broth by <i>L. plantarum</i> at various concentration.	20
Fig. 2. Change of growth rate in ginseng leaf broth by <i>L. plantarum</i> at various concentration.	21
Fig. 3. Effect of antibacterial activity on paper disc method of ginseng fine root methanolic extracts.	25
Fig. 4. Effect of antibacterial activity on paper disc method of ginseng leaf methanolic extracts.	26
Fig. 5. HPLC elution profiles of the standard ginsenosides and methanolic extracts of ginseng fine root	33
Fig. 6. HPLC elution profiles of the standard ginsenosides and methanolic extracts of ginseng leaf	34

Antimicrobial Activities of the Extracts of
Ginseng Fine Roots and Leaves

Ah Reum Kim

Department of Microbiology, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Panax ginseng C.A. Meyer (ginseng), a well-known traditional Korean medicine, has been used for several thousand years with mysterious powers in the Orient. Korea ginseng belongs to the *Panax* genus in the family *Araliaceae*. It is often referred to as the king of herbs. Several pharmacological activities of saponins have been found in the root of panax ginseng. So far, most studies have been focused on ginseng roots and scientists are less attracted by ginseng fine roots and leaves. However, ginseng fine roots have a higher saponin than main roots and leaves also have higher saponin content than that of the roots (> 4 to 5 times) and stems (> 9 times).

The study was performed to evaluate the antibacterial and antiviral activities of ginseng fine root and leaf in order to search for antibacterial substance. Among 8 kinds of fermentation strains, *Lactobacillus plantarum* was selected based on viable cell counts and antibacterial activities during incubation. Optimum fermentation was

determined condition and incubation at 35°C for 48 hr in 5% ginseng broth.

The antibacterial and antiviral activities were investigated from methanolic extracts of ginseng fine roots and leaves (non fermented ginseng; NG, fermented ginseng; FG). Antibacterial activity was tested by paper disc method and shaking flask method, and antiviral activity by 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀).

The results of paper disc method in NG extract and FG extract of Ginseng fine root measured against *E. coli* was 11mm and 20mm, *S. aureus* was 15mm and 22mm, respectively. Ginseng leaf was observed that inhibition clear zone of 18.5mm, 27mm against *E. coli* and *S. aureus* in NG extract, 16mm, 19mm against *E. coli* and *S. aureus* in FG extract. Shaking flask method of ginseng fine root showed that FG extract inhibited the growth of *E. coli* (99.9%) and *S. aureus* (99.9%). However, Ginseng leaf was observed that inhibit the growth of 99.9% against *E. coli* and 100% against *S. aureus* in NG extract. Comparison of the antibacterial activity of methanolic extracts in ginseng fine roots and leaf, ginseng leaf of NG extract was the best antibacterial activity of the methanolic extracts. Also, ginseng leaf of NG extracts showed the strongest antiviral activities against *Feline calicivirus* (FCV) as a surrogate for norovirus.

Each of extracts were investigated the compositional changes of ginsenosides on HPLC analysis. As a result, antibacterial activity substance of fermented ginseng fine root extract was determined

ginsenoside Rg1, Re and Rd and ginseng leaf extract was determined ginsenoside Re, Rd. Also, virucidal activity substance of ginseng leaf extract was determined ginsenoside Rb1, Rc and Rb2.

The results obtained in this study suggested that the ginseng root and leaf will be effective in the antibacterial and antiviral activities are useful resources.



서 론

인삼 (人蔘)은 오가피나무과 (*Araliaceae*) 인삼 속 (*Panax*) 에 속하는 다년생 초본류로서, 한반도를 비롯하여 만주, 연해주 일대의 옛 고구려 영토를 자생지로 두고 있다. 1843년 러시아의 Carl Anton Von Meyer 가 ‘만병을 치료한다.’는 뜻으로 인삼을 *Panax ginseng* C.A. Meyer로 명명 하였으며, 이는 품질이 가장 좋은 것으로 인지된 한국산 인삼 즉 고려인삼을 지칭하는 동시에 인삼의 대명사로 사용되고 있다. 인삼의 형태는 지상부인 꽃 (열매), 잎, 줄기와 지하부인 뇌두, 주근 (굵은 동체부위), 지근 (동체의 아래쪽으로 뻗어 나온 굵은 다리), 세근 (지근에서 발생 된 가는 뿌리)으로 이루어져 있으며, 동양권에서는 오래 전부터 지하부인 뿌리 부분을 약재로서 광범위하게 사용하였다 (Jo *et al.*, 1998).

인삼의 주요 약리 작용으로는 중추신경계의 흥분 진정작용 (Benishin, 1992), 항암 작용 (Kikuchi *et al.*, 1991), 혈압조절 작용 (Kang *et al.*, 1992), 항당뇨 작용 (Huo *et al.*, 1998), 항산화 작용 (Jung *et al.*, 1996), 항균 작용 (Kwak *et al.*, 2006) 등이 있는 것으로 보고되어있다. 이는 인삼의 주요 성분인 40 여종 이상의 사포닌 (saponin)을 비롯하여 비사포닌 (non-saponin) 계열인 polysaccharides, alkaloids, polyacetylene, phenolic compounds 등에 의한 것으로 그 약리적 특성은 현재에도 연구 중이다. 하지만, 현재까지 수행된 대부분의 연구가 약용으로 사용되는 뿌리부의 주근과 지근만을 대상으로 이루어져 잔뿌리인 세근이나 뿌리 형성 시 상호 동화 작용을 하는 잎은 대부분 폐기되거나 겨울철 낙엽으로 취급 되는 것이 현실이다.

상품적 가치가 낮은 세근과 잎은 일부만이 캔디, 젤리, 비누 등에 이

용되지만 부위별 총 사포닌 함량을 비교한 연구에 의하면 뿌리부의 주근과 지근은 각각 1.02%, 3.94%, 세근은 8.31%로 약재로 이용되는 주근과 지근에 비해 약 2배 이상의 사포닌을 함유하고 있다 (Choi *et al.*, 2009). 또한 잎은 뿌리에 비해 약 4~5배, 줄기의 약 9배 많은 사포닌을 함유한 것으로 알려져 있으며, 이들 잎에 함유된 사포닌 성분 (ginsenoside Rg1, Rb1, Rb2, Re, Rc, Rd, Rf 등)은 뿌리와 유사한 것으로 확인 되었으며, 그 중 항균기능이 있는 ginsenoside Rg1과 Rd는 각각 8배와 15배가량 많은 것으로 보고되었다. 또한, 2006년에는 잎에서 추출한 사포닌을 이용할 수 있도록 뿌리 추출물과 같은 관세분류 품목으로 인정하였다 (Kim *et al.*, 1987, Chang *et al.*, 2003). 하지만, 사포닌의 질적 비율이 양적 비율보다 중시되어 인삼 부산물을 이용한 유효성 및 기능성에 대한 체계적이고 폭넓은 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 인삼 부산물로 폐기되어지는 세근과 잎을 이용하여 발효에 적합한 유용 미생물을 선별하고 발효 유,무에 따른 항균성 및 항바이러스 활성을 분석하여 각각의 작용에 영향을 주는 사포닌의 성분 변화를 검토한 후, 세근과 잎의 상품적 가치 증대 및 효율적 활용방안에 대한 기초 연구 데이터로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1.1. 인삼 부산물 준비 (세근, 잎)

본 실험에 사용된 세근과 잎은 충남 금산 지역에서 재배된 4년생 고려인삼으로 인삼 잎은 뿌리에 영향을 미치지 않는 9월 (초가을)에 채취하였다.

세근과 잎은 구입 즉시 실험실로 옮겨 표면에 부착된 흙이나 이물질 등의 불순물을 2차 증류수로 2~3회 깨끗이 세척하여 음지에서 자연 건조하였다. 충분히 건조된 세근과 잎은 분쇄기로 마쇄하여 분말 형태로 -20℃에 보관하며 본 연구에 사용하였다.

1.2. 세균 배양

세균과 잎의 발효를 위해 인삼의 배당체 분해에 효과적인 것으로 알려진 세균 6종, 곰팡이 1종, 효모 1종 (Kim *et al.*, 2003; Doosan. Co., Ltd. 2008)과 향균 활성 분석을 위해 사용한 세균 2종, 항바이러스 조사를 위한 바이러스 1종은 Table 1에 정리하였다.

발효에 사용된 Mold와 Yeast는 각각 Potato dextrose broth (Difco, U.S.A.)와 Yeast mold broth (Difco, U.S.A.) 배지에서 25℃, 150 rpm으로 48시간 동안 배양하였고, Lactic acid bacteria 와 *Bacillus* spp. 는 각각 MRS broth (Difco, U.S.A.)와 Brain Heart Infusion broth (Difco, U.S.A.) 배지에서 35℃, 150 rpm으로 24시간 교반 배양 하였다. 또한 향균 활성 실험에 이용된 세균은 Nutrient broth (Difco, U.S.A.)와 Mueller hinton broth (Difco, U.S.A.) 배지에서 35℃, 150 rpm으로 24시간 배양 하였다.

Table 1. Various microorganisms used for this study

Type	Microorganisms
Fermentation strains	<i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC 3103
	<i>Lactobacillus brevis</i> KCTC 3498
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> KCTC 3237
	<i>Enterococcus faecium</i> KCCM 12118
	<i>Aspergillus oryzae</i> KCTC 6291
	<i>Candida utilis</i> ATCC 16321
	<i>Bacillus subtilis</i> KCTC 1024
	<i>Bacillus megaterium</i> KCTC 1098
Antibacterial activity	<i>Escherichia coli</i> KCTC 12006
	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621
Antiviral activity	<i>Feline calicivirus</i> ATCC VR-782

1.3. 숙주세포 배양 및 바이러스 증식

노로바이러스 대체모델로 사용되는 Feline calicivirus (FCV, ATCC VR-782)와 FCV의 숙주세포인 Crandell-reese Feiline Kidney cell (CrFK, ATCC CCL-94)은 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 분양받아 사용하였다.

FCV의 배양은 2% Fetal bovine serum (FBS)가 첨가된 Dulbecco modified eagle medium (DMEM) 배지를 사용하였고, 숙주세포인 CrFK cell은 10% FBS, 100 U/ml penicillin과 100 µg/ml streptomycin으로 조성된 배지를 이용하여 75 cm² tissue culture flask (TC flask, Corning, USA)에서 37℃, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다. CrFK cell은 80~90% 이상 monolayer을 형성하면 2일에 한번 씩 계대 배양하여 사용하였다 (Bidawid *et al.*, 2003). 바이러스의 증식을 위해서 CrFK cell이 monolayer을 형성하면 growth medium을 제거하여 FCV 배양액을 0.1 M.O.I (multiplication of infection)가 되도록 접종하고, 바이러스가 세포에 흡착되도록 90분간 반응시켰다. 그 후, FCV배양액을 다시 흡착하여 maintenance medium (DMEM + 2% FBS)을 10 ml 첨가하고 37℃, 5% CO₂ 조건에서 16~24 시간 후 세포병변효과 (cytopathic effects; CPE)가 일어나 부착된 세포들이 떨어지면 FCV가 감염된 flask를 2~3회 freezing-thawing을 반복하였다. 이 후 이들을 원심분리 (1,800g, 15분간)하여 Cell-debris는 제거하고 세포를 파쇄 시켜 바이러스가 함유된 상등액을 0.5 ml씩 cryogenic vial (Nalgene, USA)에 분주한 다음 -70℃에 보관하며 실험에 사용하였다 (Bidawid *et al.*, 2003).

2. 실험방법

2.1. 일반 성분 분석

인삼 세근과 잎의 구성 성분을 알아보기 위하여 식품공전에 제시된 방법을 사용하여, 수분, 조회분, 조단백질, 조지방, 탄수화물 분석을 하였다. 먼저, 수분 분석은 105℃ 상압가열건조법, 조회분은 550℃ 직접 회화법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였다. 탄수화물은 총 100에서 수분, 조회분, 조단백질 및 조지방의 수치를 뺀 값으로 계산하여 구하였다.

2.2. 발효를 위한 균주 선별 및 배지 제조

인삼 세근과 잎의 항균 및 항바이러스 활성 증대를 위해 발효공법을 이용하였다. 이에 인삼 세근과 잎의 발효에 적합한 균주를 선별하기 위하여 세근과 잎만을 영양원으로 제공한 각각의 분말배지를 (3차 증류수 100 ml, 세근 및 잎 분말 5%) 제조하였다. 멸균된 각각의 배지에 발효균주 8종 (Table 1)을 초기균수 $6.0 \log \text{CFU/ml}$ 이 되게 접종한 후, 72시간 동안 각각의 균주에 따른 전 배양 온도와 동일하게 배양하며 배양액의 성장능 및 항균성을 pour-plate 법과 paper disc법으로 비교 분석하였다. 선별된 발효균주의 최적 발효조건을 찾기 위해서 세근과 잎 분말 배지의 농도를 각각 2.5~30% (w/v)로 제조하여 선택된 균주를 접종한 뒤 균주 선정과 동일한 과정으로 성장능 (pour-plate) 및 배양액의 항균성 (paper disc)을 평가하였다.

2.3. 항균성 물질 추출

인삼의 세근과 잎으로 제조된 2종의 분말 배지를 각각 준비하고 발효 균주로 선정된 *Lactobacillus plantarum*을 접종하여 발효한 배양액과 발효 하지 않은 배양액을 각각 methanol과 1 : 10 비율로 혼합하였다. 물질 추출을 위해 70℃에서 3시간 동안 3회 교반 추출하여 충분히 식힌 후 각 추출물을 여과한 뒤 45℃ 항온수조에서 rotary evaporator로 감압 농축하였다. 각 추출물은 200 mg/ml의 농도로 dimethyl sulfoxide (DMSO; Kanto, Japan)에 녹인 다음 0.45 µm millipore filter로 여과하여 -20℃에 보관하며 항균성 및 항바이러스 활성 실험을 비롯한 각 추출물의 성분 분석에 사용하였다.



2.4. 추출물의 항균 활성 평가

2.4.1. 디스크 확산법 (Paper disc method)

인삼 세근과 잎의 각 추출물에 대한 항균 활성 분석은 디스크 확산법 (paper disc method)과 진탕 플라스크법 (shaking flask method)으로 실험하였다. 시험균으로 사용한 *Escherichia coli*와 *Staphylococcus aureus*는 Mueller hinton broth (MHB)에 접종하여 35℃ 배양기에서 24시간 배양하여 준비하였으며, 이를 McFarland No. 0.5의 농도가 되게 희석하여 Mueller hinton agar (MHA) plate에 멸균된 면봉을 이용하여 각각 도말하였다. 직경 8 mm의 멸균된 paper disc (Tokyo, Japan)에 세근과 잎의 각 추출물을 5 mg/disc로 흡수시킨 후 충분히 건조시켜 시험균이 도말된 각각의 배지에 밀착 시켜 35℃ 배양기에서 24시간 배양하여 inhibition zone (mm)의 직경을 측정하여 항균성을 평가하였다.

2.4.2. 진탕 플라스크법 (Shaking flask method)

한국산업규격 (KS) 에서 인정한 항균력 공인 시험 방법인 진탕 플라스크법으로 인삼 세균과 잎의 각 추출물에 대한 항균 활성을 검토하였다. 시험균으로 사용한 *E. coli*, *S. aureus*는 Nutrient broth에 접종하여 35℃에서 24시간 배양하여 준비하였다. 그 후, 0.2% Nutrient broth로 제조된 중화용액 100 ml에 시험균의 초기 균수가 5.0 log CFU/ml이 되도록 희석하여 접종하였으며, 동시에 세균과 잎 추출물을 각 5 mg/ml이 되게 첨가하였다. 항균성은 35℃, 150 rpm으로 배양하며, 12시간을 단위로 두 번 반응 시킨 후 pour-plate 법으로 균의 감소율을 확인하였다.

감소율은 아래의 식으로 계산하여 항균 활성을 측정하였다. 이때 추출물을 첨가 하지 않고 동일 조건에서 일정시간 배양된 시험 균액을 대조구 (control)로 하여 균수의 차이로 항균력을 비교 분석 하였으며, 모든 실험은 3회 이상 실시하여 이의 평균값을 도출하였다.

$$\text{Bacterial reduction rate (\%)} = \left(\frac{Mc - Me}{Mc} \right) \times 100$$

Me; Microorganism number of experiment,

Mc; Microorganism number of control.

2.5. 추출물의 항바이러스 활성 평가

항바이러스 활성 분석은 최근 식중독 바이러스로 문제가 되고 있는 노로바이러스를 대체한 모델인 FCV를 이용하여 분석하였으며, 각 추출물의 항바이러스 활성 분석을 위하여 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀) 방법으로 FCV의 감염가를 측정하였다.

세균과 위의 각 추출물에 대한 FCV의 사멸정도를 확인하기 위해 5.0 TCID₅₀/ml로 희석된 FCV를 일정시간 추출물과 반응시킨 후 CrFK cell에 나타난 세포병변효과 (CPE)를 통해 바이러스의 감염가를 측정하여 그 효과를 판정하였다 (Doultree *et al.*, 1999; Gehrke *et al.*, 2004).

숙주세포인 CrFK cell은 96 well plate에 37℃, 5% CO₂, 48시간 배양하여 monolayer를 얻었다. 희석된 FCV와 추출물을 1:1로 혼합하고 실온에서 1, 6, 12, 24 시간별로 반응하여 50 μ l씩 4개의 well에 접종하고 90분간 방치하여 FCV를 CrFK cell에 감염시켰다. 바이러스 흡착이 완료되면, 다시 바이러스를 회수하고 growth medium을 aspirate로 제거하여 2% FBS가 첨가된 DMEM (maintenance medium)을 100 μ l씩 다시 첨가한 후 37℃, 5% CO₂ 조건으로 3~4일 배양하며 세포병변효과를 현미경으로 관찰하였다. 배양이 완료되면 3.4% formaldehyde 용액으로 cell을 고정하고 0.1% crystal violet으로 가시화하였다. 이때 대조구로는 추출물 대신 maintenance medium을 희석된 FCV와 혼합한 것으로 비교 분석하였고, 바이러스 감염가는 Reed-Muench method로 50%이상 CPE가 나타난 well의 희석단계를 산정하여 log TCID₅₀/ml로 표기하였다 (Kampf *et al.*, 2005).

2.6. 추출물의 HPLC 분석

인삼 세근과 잎의 발효 유, 무에 따른 항균 및 항바이러스 활성 결과를 토대로 각 추출물의 성분변화를 알아보기 위하여 high performance liquid chromatography (HPLC) 분석법을 사용하였다.

HPLC 장비는 Agilent 1100 series (Agilent Tech, U.S.A.)를 이용하였으며, 분석용 칼럼은 정지상의 크기가 5 μm 인 C₁₈ reverse-phase column (Shiseido C₁₈ 5 μm , 4.6 mm x 250 mm, Japan)을 이용하여 column 온도는 35℃로 분석하였다. 각 시료의 주입량은 10 μl 이고, 이동상으로는 HPLC급 용매로서 A용액은 water와 B용액은 acetonitrile을 사용하여 acetonitrile의 비율이 점진적으로 높아지다 낮아지는 gradient program을 사용하였다. A 용액과 B 용액을 80 : 20의 비율로 시작하여 27 분까지 B 용액을 30%로 유지하고, 44 분에 35%까지 올린 후 54 분에 30%, 65 분에 20%로 다시 비율을 낮추어 총 65 분간 분리하였다 (Table 2). 유속은 1ml/min 이었으며, 검출기는 UV detector로 203 nm에서 측정하여 표준물질과 비교 분석하였다. 표준물질인 ginsenoside Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2, Rd는 Extrasynthese S.A (France)에서 구입하였다.

Table 2. Solvent gradient program of HPLC analysis

Time (min)	A : water (%)	B : acetonitrile (%)
0	80	20
17	80	20
27	70	30
44	65	35
54	70	30
65	80	20

*Agilent 1100 series (Agilent Tech, U.S.A.), C₁₈ reverse-phase column
(Shiseido C₁₈ 5 μ m, 4.6 mm x 250 mm, Japan)

결과 및 고찰

1. 고려인삼 세근과 잎의 일반성분 분석

충남 금산 지역 4 년생 인삼 세근과 잎의 구성 성분을 알아보기 위해 일반성분 (수분, 조회분, 조지방, 조단백질, 탄수화물)을 분석하여 Table 3에 나타내었다.

세근의 성분 분석 결과는 수분 10.8%, 조회분 5.7%, 조지방 1.2%, 조단백질 15.8%와 탄수화물 66.5%가 함유된 것으로 분석되었으며, 강화도 지역 6년생 인삼 근의 성분 결과를 비교하면 조회분을 제외한 다수의 다른 성분들은 함량 차이가 없었다 (Lee, 1985). 잎의 경우에는 수분 13.8%, 조회분 6.7%, 조지방 3.4% 조단백질이 0.5%, 탄수화물은 75.6%가 함유되어 경기도 화성군 4년생 잎의 성분 결인과 수분 14.95%, 조회분 6.75%, 조지방 2.49%, 조단백질 14.26%와 탄수화물 61.55%와 비교 시 다수 성분들의 함량은 유사하였으나, 조단백질과 탄수화물의 경우에는 각각 약 15%와 5%로 큰 차이를 나타내었다 (Chang *et al.*, 2000). 이와 같은 결과는 인삼의 영양성분이 재배지 및 재배 년수 등 환경적 요인에 따른 차이가 있는 것으로 확인된다.

한편, 세근과 잎의 일반성분 분석 결과 대부분이 탄수화물로 구성됨을 확인할 수 있었으며, 잎이 세근에 비해 약 10% 많이 함유된 것으로 확인되었다. 이는 인삼의 주요 기능 (항산화 활성, 항균성 등)을 나타내는 성분이 사포닌 또는 진세노사이드 (ginsenosides)라는 물질로 알려져 있으며, 이들은 복합 탄수화물이기 때문에 인삼 전체 구성 성분 중 탄수화물 함량 비율이 가장 높은 것으로 추정된다.

Table 3. Proximate compositions of ginseng fine root and leaf

Components	Fine root	Leaf
Moisture	10.8 ± 0.3	13.8 ± 0.3
Crude ash	5.7 ± 0.3	6.7 ± 0.2
Crude lipid	1.2 ± 0.1	3.4 ± 0.2
Crude protein	15.8 ± 0.7	0.5 ± 0.4
Carbohydrate	66.5 ± 0.5	75.6 ± 0.2

* Values are mean ±SD of triplicate determinations.

2. 발효를 위한 적합 균주 및 배지 농도 선정

2.1. 발효 균주 선정

인삼 세균과 잎의 항균 및 항바이러스 활성 증대를 위하여 발효공법을 이용하고자 하였다. 발효에 적합한 균주를 선별하기 위해 균 성장에 따른 항균력을 분석하여 발효 균주를 선별 하였다. 이를 위하여 세균과 잎을 유일한 영양원으로 하는 5% 분말 배지를 제조한 다음 Table 1에 제시된 균주로 72시간 동안 배양하여 성장능과 배양액의 항균성을 분석 하였으며 그 결과를 각각 Table 4, 5에 나타내었다.

그 결과 동일 배양 시간에서 세균과 진균류의 성장능 및 항균력은 세균이 우세한 것으로 나타났고, 유산균과 *Bacillus* 속을 비교 시 유산균의 성장능 및 항균력이 뛰어난 것으로 확인되었다. 이는 Lactic acid bacteria와 *Bacillus* spp.의 인삼 발효능을 비교한 연구에서 유산균이 *Bacillus* 속에 비해 단시간에 우수한 증식을 나타낸다는 보고와 일치하는 결과를 보여주고 있다 (Kim *et al.*, 2007). 유산균 중 성장능 및 항균력이 가장 뛰어난 종은 *Lactobacillus plantarum*으로 초기 접종 균수 대비 1000배 이상의 성장능과 약 2배 정도 높은 항균력을 나타내고 있으며, 이는 Park 등의 인삼 배지에서 증식 가능한 유산균주의 선별 중 *L. plantarum*이 초기 접종 균수 대비 800배 이상의 우수한 증식률을 나타낸 보고와도 일치한다 (Park *et al.*, 2006). 또한, 배양액의 항균력 역시 다수의 균주들에 비해 *L. plantarum*이 세균과 잎 배지에서 가장 높은 15 mm, 17 mm의 효과를 나타내 발효를 위한 최적 균주는 *L. plantarum*으로 선정 하였다.

Table 4. Change of viable cells count and antibacterial activity in ginseng fine root broth by various microorganisms

Microorganism	Incubation time (hr)			
	0	24	48	72
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6.36 ± 0.4 ¹⁾ 8 ²⁾	8.64 ± 0.3 13	9.85 ± 0.4 15	9.67 ± 0.4 14.5
<i>Lactobacillus brevis</i>	6.52 ± 0.3 8	6.99 ± 0.2 10	6.69 ± 0.4 12	6.63 ± 0.3 12
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	6.68 ± 0.4 8	7.98 ± 0.1 12	8.28 ± 0.3 12.5	7.96 ± 0.2 12
<i>Enterococcus faecium</i>	6.70 ± 0.4 8	6.88 ± 0.1 11.5	6.53 ± 0.5 12	6.34 ± 0.2 11
<i>Aspergillus oryzae</i>	6.15 ± 0.3 8	6.93 ± 0.3 8	6.80 ± 0.1 8	6.72 ± 0.2 8
<i>Candida utilis</i>	6.81 ± 0.2 8	7.76 ± 0.3 8	8.04 ± 0.2 8	8.00 ± 0.4 8
<i>Bacillus subtilis</i>	6.97 ± 0.2 8	7.70 ± 0.3 8	8.96 ± 0.1 8	8.81 ± 0.2 8
<i>Bacillus megaterium</i>	6.94 ± 0.1 8	8.28 ± 0.4 8	7.08 ± 0.5 8	7.04 ± 0.4 8

¹⁾ Viable cell count is average of triplicate determinations (log CFU/ml).

²⁾ Antibacterial activity of *Escherichia coli* (mm). Paper disc diameter (8 mm) was included.

Table 5. Change of growth rate and antibacterial activity in ginseng leaf broth by various microorganisms

Microorganism	Incubation time (hr)			
	0	24	48	72
<i>Lactobacillus plantarum</i>	6.74 ± 0.2 ¹⁾ 8 ²⁾	8.84 ± 0.2 15	9.94 ± 0.3 17	9.73 ± 0.2 16
<i>Lactobacillus brevis</i>	6.63 ± 0.3 8	6.87 ± 0.2 10.5	7.75 ± 0.2 12.	7.51 ± 0.3 12
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	6.77 ± 0.4 8	7.40 ± 0.3 11	8.26 ± 0.3 15	8.04 ± 0.1 13
<i>Enterococcus faecium</i>	6.87 ± 0.3 8	7.66 ± 0.2 10	7.92 ± 0.4 11.5	6.75 ± 0.1 11
<i>Aspergillus oryzae</i>	6.83 ± 0.3 8	7.62 ± 0.3 8	8.81 ± 0.2 8	8.45 ± 0.2 8
<i>Candida utilis</i>	6.72 ± 0.2 8	7.65 ± 0.2 8	8.59 ± 0.1 8	8.10 ± 0.3 8
<i>Bacillus subtilis</i>	6.75 ± 0.3 8	7.49 ± 0.1 8	8.90 ± 0.1 8	8.63 ± 0.1 8
<i>Bacillus megaterium</i>	6.52 ± 0.1 8	7.46 ± 0.4 8	7.83 ± 0.3 8	7.57 ± 0.3 8

¹⁾ Viable cell count is average of triplicate determinations (log CFU/ml).

²⁾ Antibacterial activity of *Escherichia coli* (mm). Paper disc diameter (8 mm) was included.

2.2. 배지의 농도 선정

발효능 증대를 위해 발효 최적 균주로 선정된 *L. plantarum*을 이용하여 세균과 잎 분말 배지의 농도를 각각 2.5, 5, 10, 20, 30% (w/v)로 제조하여 35℃, 72 시간 배양하며 성장능과 항균력을 분석하였으며 이 결과를 각각 Fig. 1, 2, Table 6에 요약정리 하였다. 다양한 농도의 세균과 잎 분말 배지에서 *L. plantarum*은 5% 농도에서 최고의 성장율을 나타내었으며, 동시에 진행한 항균력 시험결과 또한 모두 5% 농도에서 최대의 항균활성을 나타내었다.

이와 같은 결과를 바탕으로 인삼 세균과 잎의 발효에 적합한 균주는 *L. plantarum*이며 배지의 농도는 5%인 것으로 확인되어 이후 실험은 이와 같은 조건으로 진행하였다.

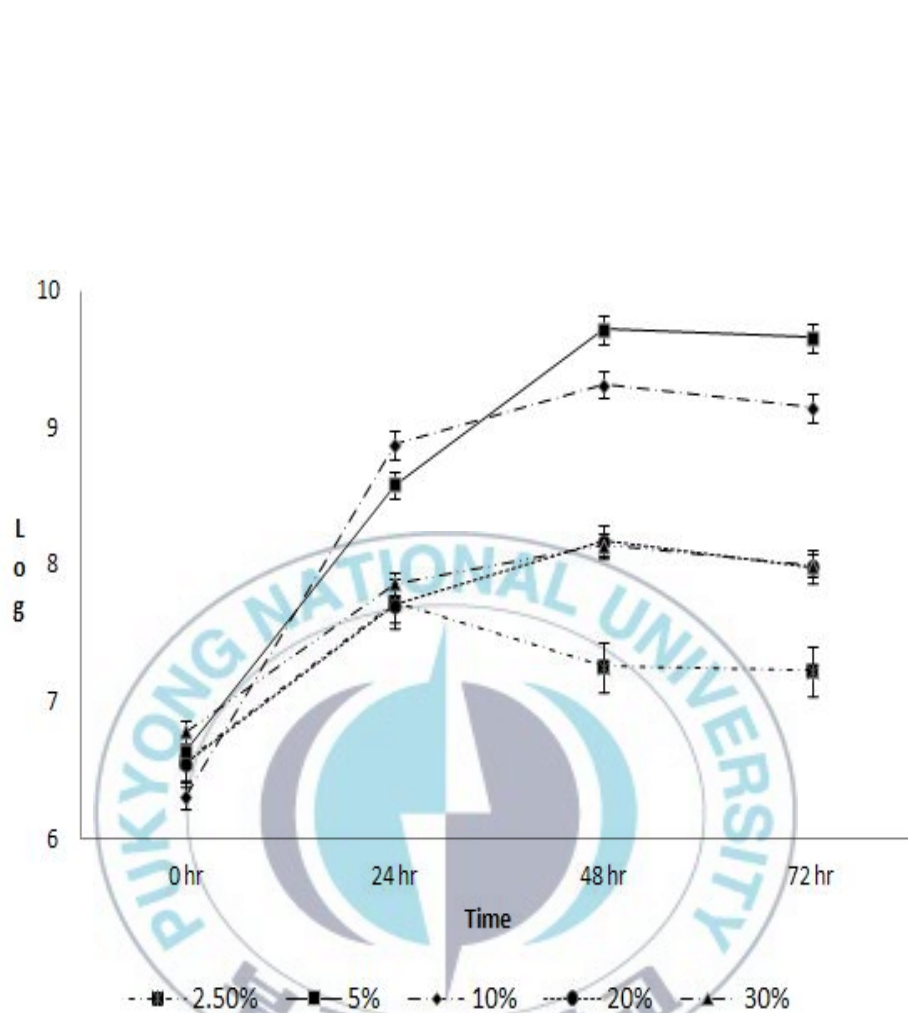


Fig. 1. Change of viable cell counts in ginseng fine root broth by *L. plantarum* at various concentration. This experiment was performed as triplicate. Each value is the result of mean $\pm$ S.E..

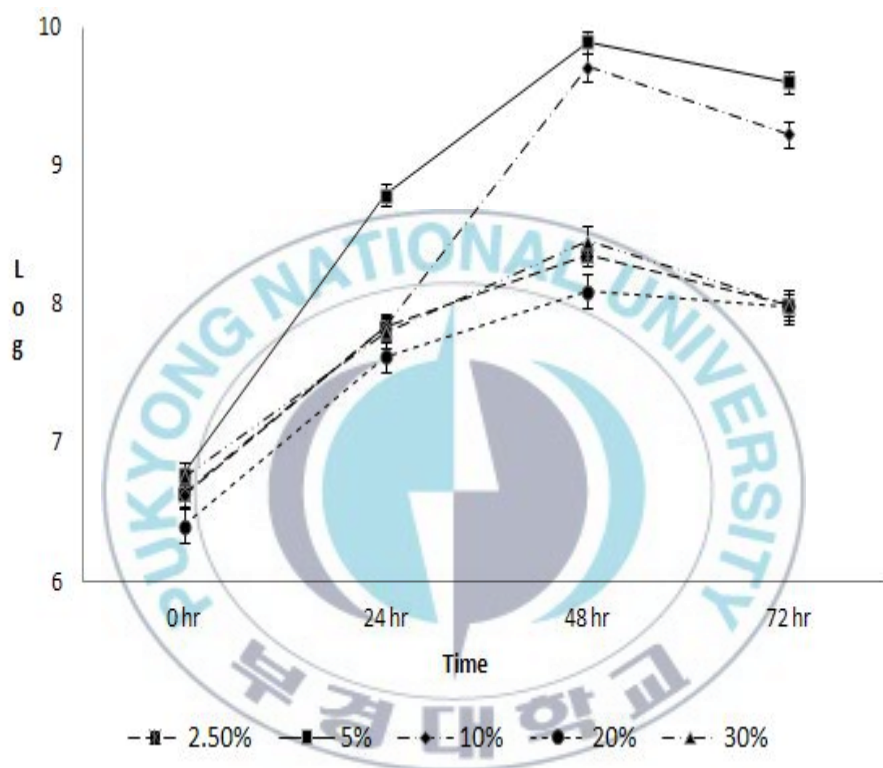


Fig. 2. Change of growth rate in ginseng leaf broth by *L. plantarum* at various concentration. This experiment was performed as triplicate. Each value is the result of mean $\pm$ S.E..

Table 6. Antibacterial activity in ginseng fine root and leaf broth by various concentration

Conc. (%)	Incubation time (hr)							
	Fine root				Leaf			
	0	24	48	72	0	24	48	72
2.5	8 ¹⁾	11.5	12.5	12.5	8	14	15.5	15
5	8	13	15	15	8	15	17	16.5
10	8	12	15	14.5	8	15.5	16.5	16.5
20	8	13	14	13.5	8	13.5	16	14.5
30	8	12.5	14	13.5	8	13	16	15.5

¹⁾ Antibacterial activity of *Escherichia coli* (mm). Paper disc diameter (8 mm) was included.

3. 항균 활성 평가

세균과 잎을 이용하여 발효 최적조건을 조사한 결과, 5%농도 분말 배지에 *L. plantarum*을 접종하여 48시간 발효하는 것이 가장 뛰어난 것으로 조사되었다. 이에 최적조건으로 발효된 (발효) 세균과 잎 그리고, 발효하지 않은 (비발효) 세균과 잎을 각각 methanol로 추출·농축하여 발효 유, 무에 따른 항균 활성을 비교 검토 하였으며, 그 방법은 디스크 확산법 (paper disc method)과 진탕 플라스크법 (shaking flask method)으로 하였다.



3.1. 디스크 확산법 (paper disc method)

Paper disc법을 이용한 항균 활성 분석은 세균과 잎의 비발효와 발효 추출물을 5 mg/disc의 농도로 비교하였으며, 그 결과를 각각 Fig. 3, 4에 나타내었다. 세균 추출물에 대한 결과로 *E. coli*에 대한 생육 저해 환이 각각 11 mm (1; 비발효)와 21 mm (2; 발효)로 나타났으며, *S. aureus*에 대한 생육 저해 환은 각각 15 mm (1; 비발효)와 25 mm (2; 발효)로 나타났다 (Fig. 3). 이는 비발효 추출물에 비해 발효 추출물에서 항균 활성이 증가 되어 발효를 통해 세균에 함유된 항균성 물질이 증가된 것으로 확인된다. 반면, 잎 추출물의 경우에는 *E. coli* 와 *S. aureus*에 대한 clear zone의 직경이 각각 18.5 mm (1; 비발효)와 16 mm (2; 발효), 27 mm (1; 비발효)와 19 mm (2; 발효)로 세균 추출물과 반대로 잎은 비발효 추출물이 발효 추출물에 비해 항균 활성이 뛰어난 것으로 분석되었다 (Fig. 4). 이는 인삼 잎의 성분 중 주요 기능 (항산화 활성, 항균성 등)을 나타내는 사포닌 즉, 진세노사이드 (ginsenosides)라는 복합탄수화물 물질이 세균에 비해 약 10% 많이 함유되어 있는 이유인 것으로 분석된다.

Gram negative 균과 Gram positive 균을 대표하는 *E. coli* 와 *S. aureus*에 대해 세균과 잎에 함유된 항균성 물질은 Gram positive균에 우수한 활성이 있는 것으로 확인되었다.

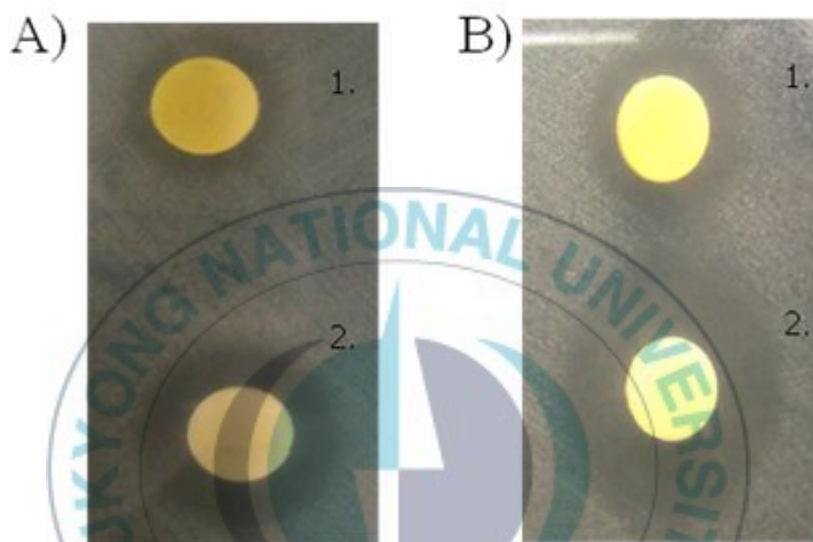


Fig. 3. Effect of antibacterial activity on paper disc method of ginseng fine root methanolic extracts. Antibacterial activities of *Escherichia coli* (A) and *Staphylococcus aureus* (B). 1, non fermentation; 2, fermented ginseng fine root by *L. plantarum*.

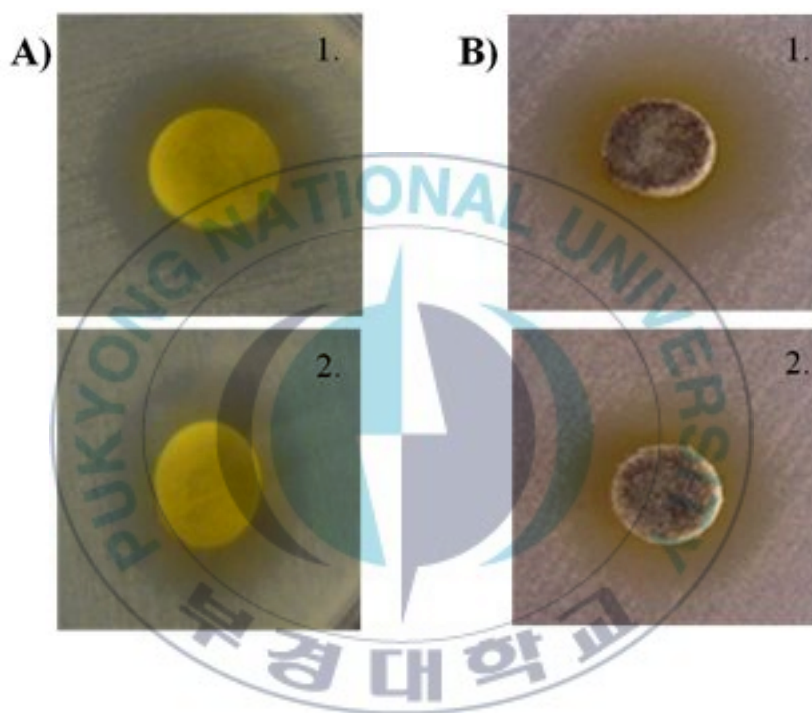


Fig. 4. Effect of antibacterial activity on paper disc method of ginseng leaf methanolic extracts. Antibacterial activities of *Escherichia coli* (A) and *Staphylococcus aureus* (B). 1, non fermentation; 2, fermented ginseng leaf by *L. plantarum*.

3.2. 진탕 플라스크법 (shaking flask method)

Shaking flask법에 의한 항균 활성의 검토는 paper disc법에 사용한 시험균주와 추출물의 농도를 동일하게 분석하였으며, 35℃에서 24 시간 배양하며 12 시간을 단위로 두 번 반응 시킨 후 pour-plate 법으로 균의 감소율을 확인하였다 (Table 7).

세균 추출물의 경우 비발효 추출물은 *E. coli* 와 *S. aureus*에 대해 각각 73.8%, 99.8%의 항균력을 나타내었으나, 발효 추출물에서는 반응 12 시간 만에 *E. coli* 와 *S. aureus*의 성장을 99.9% 억제시켜 24 시간까지 지속되는 것으로 분석 되었다. 하지만 인삼 잎 추출물은 세균 추출물과 반대로 비 발효 추출물에서 24 시간에 *E. coli*의 성장이 99.9% 억제 되었고, *S. aureus*의 성장은 100% 억제시키는 것으로 분석되어 서로 상반된 결과를 나타내었다.

이상의 두 실험 결과를 분석하면 인삼 세균은 비 발효 추출물에 비해 발효 추출물에서, 인삼 잎은 발효 추출물 보다 비발효 추출물에서 항균 활성이 뛰어난 것으로 분석되며, 세균과 잎 추출물 모두 Gram positive 균에 대한 활성이 좀 더 우수한 것으로 확인되었다.

Table 7. Reduction rate on *E. coli* and *S. aureus* by methanolic extracts of ginseng fine root and leaf

Ginseng extracts	Metanol extracts (5 mg/ml)			
	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>	
	12 hr	24 hr	12 hr	24 hr
Control	2.2 x 10 ⁸	4.2 x 10 ⁸	6.2 x 10 ⁷	5.7 x 10 ⁸
Fine root	NFG ¹⁾	1.8 x 10 ⁸	1.1 x 10 ⁸	6.8 x 10 ⁶
		18.2%	73.8%	89.0%
	FG ²⁾	5.0 x 10 ²	1.9 x 10 ¹	9.5 x 10 ³
		99.9%	99.9%	99.9%
	Control	7.3 x 10 ⁷	1.8 x 10 ⁸	8.4 x 10 ⁷
		2.7 x 10 ⁸		
Leaf	NFG	2.5 x 10 ³	2.1 x 10 ²	5.3 x 10 ²
		99.9%	99.9%	99.9%
	FG	3.3 x 10 ⁷	2.0 x 10 ⁷	2.7 x 10 ⁷
		54.7%	88.8%	67.8%
	Control	7.3 x 10 ⁷	1.8 x 10 ⁸	8.4 x 10 ⁷
		2.7 x 10 ⁸		

¹⁾ NFG, Non Fermented Ginseng

²⁾ FG, Fermented Ginseng (Fermented for 48 hr by *L. plantarum*)

4. 항바이러스 활성 평가

FCV에 대한 세균과 잎의 각 추출물의 virucidal activity를 알아보기 위하여, 각각의 추출물을 농도별로 FCV 희석액과 반응시키고 CrFK cell에 감염시킨 후 FCV에 대한 추출물의 virucidal activity를 Table 8에 나타내었다.

추출물을 함유하지 않은 대조군과 비교하였을 때, 항바이러스 활성 효과는 $\log$ TCID₅₀/ml 값이 4 $\log$ 이상 감소하였을 때 virucidal activity가 인정된다 (Bellamy, 1995). 세균의 경우 발효 및 비발효 추출물에서 TCID₅₀/ml 값이 최대 약 1 $\log$ 만이 감소되었기 때문에 항바이러스 활성은 없는 것을 알 수 있다. 따라서, 세균의 발효 추출물은 *E. coli* 와 *S. aureus*에 대한 항균활성은 있으나, FCV에 대한 virucidal activity는 미약한 것으로 확인된다. 이는 로즈마리가 Gram positive균에 대하여 항균 활성이 있다고 보고되고 있으나, FCV에 대한 virucidal activity는 미약하다는 것과 유사한 경향을 나타낸다 (Chung *et al.*, 2001). 반면, 잎의 경우에는 비발효 추출물에서 5 mg/ml 농도로 FCV와 6시간 반응하였을 때 CrFK cell에서 바이러스 감염이 나타나지 않았으며, 1.25 mg/ml의 농도에서는 12시간 반응 시킨 경우 바이러스 감염이 나타나지 않아 바이러스가 완전히 불활성화 되었으므로 세균 추출물과 비교하면 뛰어난 virucidal activity를 나타내었다. 하지만, 잎의 발효 추출물에서도 세균과 마찬가지로 virucidal activity를 확인 할 수 없었다. 따라서 잎은 비발효 추출물에서 반응시간에 따른 차이는 있으나 TCID₅₀/ml 값이 5 $\log$ 이상 감소되어 상당히 높은 항바이러스 활성을 가지며, *E. coli* 와 *S. aureus*에 대한 항균 활성 또한 우수한 것으로 확인되었다.

Table 8. Virucidal activity of ginseng fine roots and leaves methanolic extracts against *Feline calicivirus*

Ginseng extracts	Conc. (mg/ml)	log TCID ₅₀ /ml				
		0 hr	1hr	6hr	12 hr	24 hr
Fine root	20		5.6	5.6	5.1	4.1
	10		5.6	5.6	5.2	4.1
	5	5.6	5.6	5.6	5.2	4.6
	2.5		5.6	5.6	5.2	5.1
	1.25		5.6	5.6	5.2	5.2
	20		5.6	5.6	5.1	4.6
	10		5.6	5.6	5.1	4.9
	5	5.6	5.6	5.6	5.2	5.1
	2.5		5.6	5.6	5.2	5.1
	1.25		5.6	5.6	5.2	5.1
Leaf	20		2.6	ND ³⁾	ND	ND
	10		3.1	ND	ND	ND
	5	5.6	3.6	ND	ND	ND
	2.5		4.6	3.2	ND	ND
	1.25		5.1	3.6	ND	ND
	20		5.6	5.2	4.9	4.9
	10		5.6	5.6	5.1	4.9
	5	5.6	5.6	5.6	5.1	5.1
	2.5		5.6	5.6	5.2	5.1
	1.25		5.6	5.6	5.2	5.1
Control ⁴⁾	–	5.6	5.6	5.6	5.2	5.1

TCID₅₀, 50% tissue culture infectious dose; ¹⁾NFG, Non Fermented Ginseng; ²⁾FG, Fermented Ginseng (Fermented for 48 hr by *L. plantarum*); ³⁾ND, feline calicivirus are inactivated; ⁴⁾Ginseng extracts were not added.

5. HPLC에 의한 항균 및 항바이러스 활성 물질 분리

세균과 잎 추출물에서 항균과 항바이러스 활성을 검토한 결과 세균의 경우 발효 추출물에서 항균활성을 나타내며, 잎의 경우에는 비발효 추출물에서 항균과 virucidal activity에 대해 우수한 활성을 가지는 것으로 나타나, 이를 HPLC로 분석하여 항균 및 항바이러스 활성을 가지는 물질을 분리하였다.

인삼은 다양한 생리활성에 관하여 다방면으로 주목받고 있는 건강 기능 식품 중의 하나로 특히 홍삼의 사포닌이 농도 의존적으로 *S. aureus*의 성장을 억제시킨다는 연구 결과 (Kwak *et al.*, 2006)와 세균의 생육에 미치는 인삼 성분을 조사한 결과 ginsenoside Rg1과 Rd가 항균 효과가 있음을 나타낸 연구 (Jun *et al.*, 1982)를 통해 ginsenoside 성분이 항균 및 항바이러스 활성에 영향을 주는 물질로 판단되어 세균과 잎의 각 추출물을 HPLC로 분석하였다 (Fig. 5, 6, Table 9). 그 결과 세균과 잎 추출물에서 표준물질과 동일 retention time에서 같은 peak가 나타나 비발효 및 발효 추출물의 주된 성분이 표준물질과 동일한 물질인 것을 알 수 있었다. 세균의 발효 추출물의 protopanaxtriol (PT)계열인 Rg1, Re와 protopanaxadiol (PD)계열의 Rd가 선택적으로 증가하였고 그 외에 PD계열인 Rb1, Rc, Rb2는 감소되어 6가지 성분들 간의 변화가 확인 되었다.

Kim *et al.* 2007에 따르면 인삼분말을 *Bacillus* spp.로 발효시킨 결과 Rc, Rb1 및 Rb2가 ginsenoside- α -arabinofuranase에 의해 Rd로 전환되는 것을 보고 하였는데, 본 연구 또한 PD계열의 Rb1, Rc, Rb2가 감소되고 Rd가 증가되어 ginsenoside- α -arabinofuranase효소의 영향인 것으로 사료된다. 세균 추출물의 ginsenoside 정량 분석 결과는 Table 9에

정리하였으며, 이중 가장 많은 함량 변화를 보인 성분은 Rd로 약 50 $\mu\text{g/g}$ 이 증가되었다. 따라서 세근 추출물의 항균 활성은 ginsenoside Rd 성분이 가장 유력한 것으로 추정되며, 세근으로 발효된 추출액이 정제된 물질이 아닌 점을 고려한다면, ginsenoside Rd에 상당한 항균기능이 있는 것으로 판단된다.

인삼 잎의 발효 추출물을 비발효 추출물과 비교하면 PD계열의 Rb1, Rc, Rb2, Rd와 PT계열 Re 총 5가지 성분들이 상대적으로 감소되었으며, 표준물질로 알 수 없는 성분들이 생겨난 것을 확인 할 수 있었다. 이는 발효한 인삼 잎에서 ginsenoside Rg1, Re, Rb1, Rc, Rb2, Rb3의 함량은 소실되고, 홍삼에서 검출되는 특유의 Rh2, Rh1, Rg2, 및 Rg3의 성분이 증가된다는 보고와도 일치한다 (Eom *et al.*, 2008). 한편, 잎 추출물에 대한 ginsenoside 성분 변화의 정량적인 비율은 Table 9에 나타내었으며, 비발효 추출물이 발효 추출물에 비해 다량의 ginsenoside가 함유된 것으로 정리된다. 잎의 비발효 추출물의 항균과 virucidal activity에 관여하는 물질을 세근의 발효 추출물의 성분과 비교 분석하면, 잎 추출물의 항균 활성에는 ginsenoside Re, Rd성분, 항바이러스 활성에는 ginsenoside Rb1, Rc, Rb2 성분들이 영향을 주는 것으로 판단된다. 이는 잎 비발효 추출물에 항균과 virucidal activity에 관여하는 ginsenoside가 다량 존재하여 잎 자체로서의 이용가치가 충분히 우수하다는 점으로 시사된다.

따라서 약용으로 이용되는 인삼의 주근 및 지근에 못지않게 다량의 사포닌이 함유된 세근과 잎을 부산물로 취급하여 폐기하거나, 겨울철 낙엽으로 치부하기 보다는 본 연구를 통해 얻어진 인삼 잎 자체 추출물과 세근의 발효 추출물의 우수한 항균 및 항바이러스 활성 결과를 토대로 세근과 잎에 함유된 사포닌의 새로운 이용방법 및 상품적 가치를 증대하기 위한 다양한 활용 방안이 모색될 수 있을 것으로 기대된다.

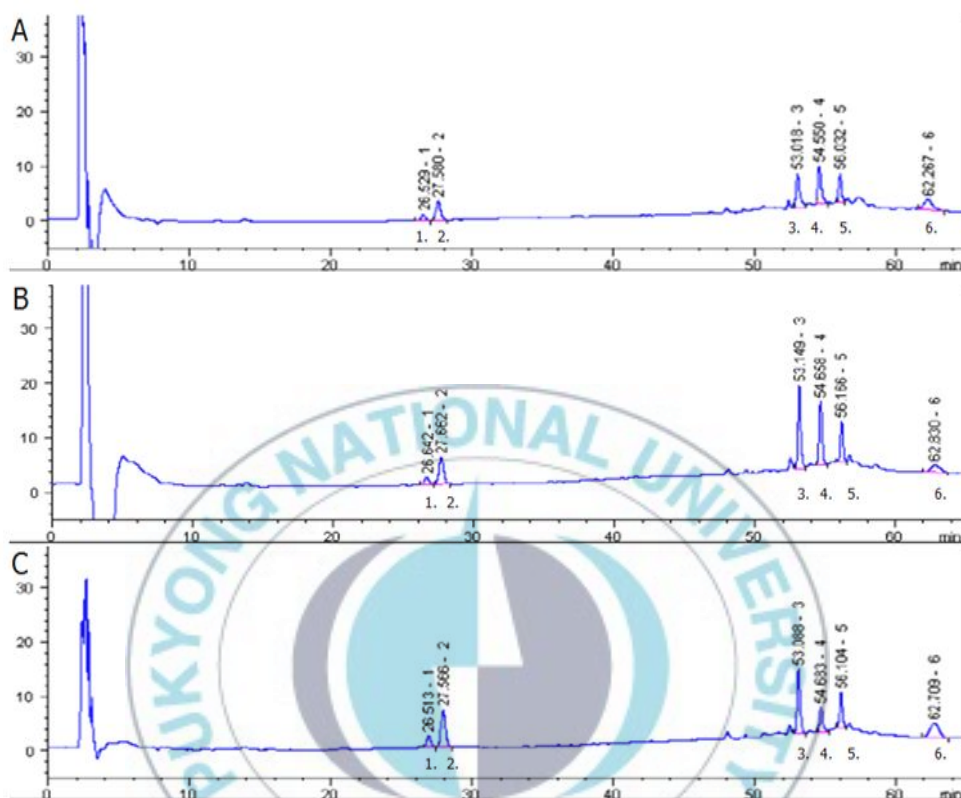
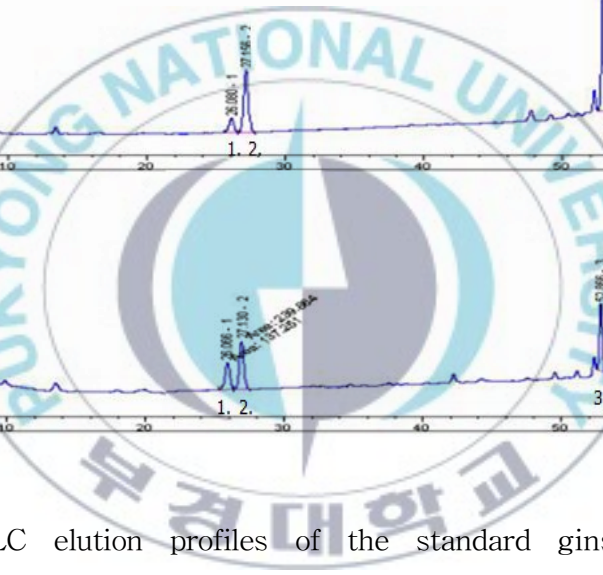


Fig. 5. HPLC elution profiles of the standard ginsenosides and methanolic extracts of ginseng fine root. That was isolated and analyzed by HPLC as described in Materials and Methods. (A) standard; (B) non fermentation; (C) fermented ginseng fine root by *L.plantarum*. Ginsenosides; 1, Rg1; 2, Re; 3, Rb1; 4, Rc; 5, Rb2; 6, Rd.



olution profiles of the standard

Table 9. Comparison of major ginsenosides of fermented ginseng extracts by *Lactobacillus plantarum*

Ginseng extracts		Content ($\mu\text{g/g}$)					
		Rg1	Re	Rb1	Rc	Rb2	Rd
Fine root	NFG ¹⁾	74.14	136.85	627.50	413.91	252.90	261.91
	FG ²⁾	86.01	148.81	514.82	188.33	213.24	311.84
Leaf	NFG	150.0	324.5	614.4	569.2	485.6	267.1
	FG	224.7	243.3	319.2	100.9	83.1	198.5

¹⁾ NFG, Non Fermented Ginseng.

²⁾ FG, Fermented Ginseng (Fermented for 48 hr by *L. plantarum*)

요 약

인삼의 효과적인 이용을 위해 부산물로 취급되어 대부분 폐기되는 세근과 잎을 발효공학적인 기법으로 항균성 물질을 증대하기 위한 연구이다.

이를 위해서 발효에 적합한 균주의 선별과 발효에 사용될 인삼 세근과 잎 분말의 농도를 선별하여 발효 시킨 후 항균성 물질을 탐색하였다. 그 결과 8종의 유용 미생물 중 *L. plantarum*이 가장 적절한 균주로 선정되었으며, 영양원인 인삼 세근과 잎 분말의 농도는 5%로 밝혀졌다.

세근과 잎 추출물을 이용하여 항균 및 virucidal activity를 조사한 결과, 세근은 발효추출물에서 항균활성은 있으나 항바이러스 활성은 미약한 것으로 나타났고, 잎은 비발효 추출물에서 항균과 항바이러스 활성이 모두 우수한 것으로 밝혀졌다. 이들 추출물이 가지는 항균성 물질은 Gram Positive균주에서 활성이 더 좋은 것으로 분석되었다. 또한, FCV에 대해 virucidal activity를 나타낸 잎의 비발효 추출물은 5 mg/ml의 농도에서 6시간 만에 FCV를 불활성화 시켰으며, 12시간 반응 후에는 가장 낮은 1.25 mg/ml 농도에서도 바이러스의 감염이 일어나지 않아 우수한 virucidal activity가 있음을 알 수 있었다.

발효에 의한 항균 및 항바이러스 활성 물질의 성분 변화를 알아 보기 위해서 HPLC 분석법을 사용하여 물질을 분리한 결과, 세근과 잎의 발효추출물에서 각각 ginsenoside Rg1, Re, Rd 성분의 증가와 ginsenoside Re, Rd, Rb1, Rc, Rb2 성분의 감소가 확인되었다. 따라서, 세근 발효 추출물의 항균 활성에 관여하는 물질은 ginsenoside Rg1, Re, Rd 성분이며, 잎 비발효 추출물의 항균 활성은 세근 발효 추출물과 비교하였을 때 ginsenoside Re, Rd 성분, virucidal activity에 관여하는 물질

은 ginsenoside Rb1, Rc, Rb2 성분인 것으로 추정되었다.

따라서 인삼의 세근과 잎을 부산물로 취급하여 폐기하거나, 겨울철 낙엽으로 치부하기 보다는 본 연구를 통해 얻어진 인삼 잎 자체 추출물과 세근의 발효 추출물의 우수한 항균 및 항바이러스 활성 결과를 토대로 세근과 잎에 함유된 사포닌의 새로운 이용방법 및 상품적 가치를 증대하기 위한 다양한 활용 방안이 모색될 수 있을 것으로 기대된다.



감사의 글

어느덧 짧고도 긴 시간이 지나 2 년간의 결실인 한편의 논문이 완성되었습니다. ‘과연 해낼 수 있을까...’ 라는 생각을 하기도 했었고, 힘들다고만 생각했던 시간이었는데, 막상 생각해보니 배운 것이 더 많은 소중한 시간들이었습니다. 이 소중한 경험들이 제가 앞으로 인생을 살아가는데 있어 많은 도움과 힘이 될 것이라고 생각합니다. 이 논문이 완성되기까지 힘이 되어주신 분들과 도움을 주신 분들께 감사의 마음을 전합니다.

부족하고 못한 제자를 언제나 변함없는 사랑으로 가르침과 격려를 주시고, 학문과 인생의 길에서 많은 것을 보고 배우고 느낄 수 있게 해주신 이명숙 교수님께 진심으로 감사드리며, 그 고마움을 평생토록 간직하려 합니다. 물가에 내 놓은 자식처럼 걱정하고 신경 써주시며 용기를 주신 정숙현 교수님, 항상 웃으시며 조언과 격려를 아끼지 않으신 김영목 교수님과 바쁘신 일정 속에서도 논문수정을 위해 많은 도움을 주신 김군도 교수님, 여러 가지 좋은 말씀과 함께 논문 심사를 맡아주신 김경호 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 많은 가르침을 주셨던 최태진 교수님, 김영태 교수님, 이훈구 교수님, 송영환 교수님께도 감사의 마음을 전하고자 합니다.

한 가족 같은 우리 일반 미생물 실험실의 귀염둥이 꼬꼬마 옥금이, 덩치는 크지만 마음은 여린 형화, 여자들 기에 놀려 지내는 한성이, 애정이 많이 가는 현철이, 서로 기대고 의지하며 힘이 되어준 내 동생 유리 모두들 부족한 언니 때문에 힘든 일도 많았을 텐데 불평 없이 많이 도와주고 잘 따라주어서 항상 미안하고 고맙습니다. 바쁜 일정 속에서도 항상 실험실 걱정해주시는 박사 과정 정하연니, 태희연니 그리고 산업 대학원 정승주쌤, 재순이 언니, 지치고 힘들 때 정신적 지주가 되어 주셨던 구효영 선생님, 경란이 언니 감사드립니다.

타 학교에서 들어와 서먹해 하고 있는 저에게 적대하지 않으시고 친근히 챙겨주신 태혁선배, 진수선배, 든든한 버팀목이 되어주셨던 용배선배 감사드립니다

다. 그리고 함께 의지할 수 있었던 대학원 동기인 현일선배, 상보선배, 현수선배, 항상 웃으며 이것저것 많이 도와준 학과 사무실에 지원이 언니 정말 고맙습니다.

같은 프로젝트를 진행하며 많은 도움을 준 식품공학과 대웅선배, 재홍선배, 명철선배, 지일이 이하 식미방 식구들 따뜻하게 대해 주셔서 감사드립니다. 아무것도 모르고 무작정 찾아가서 물어보는데도 친절하게 가르쳐주시고 도움주신 엄성환 선배 진심 진심으로 감사드립니다. 또한 물질 분리하는데 있어 많은 도움이 되었던 동의분석센터 식구들 특히 오상민쌤, 강민수쌤, 차인숙쌤 감사드립니다. 그리고, 현재 부경푸드바이오센터의 양지영 센터장님, 박성민 이사님, 정병천 실장님, 송호수 부장님, 미생물 대들보 조정숙쌤, 이화학 사부 김수정쌤, 장소라쌤 논문으로 인한 많은 부재에도 예쁘게 봐주셔서 감사합니다.

힘들 때마다 변함없이 옆을 지켜준 평생지기 친구 쪼매 소명이, 속풀이 친구 미리, 보물 같은 동생 베이비 미연, 철부지 언니 양양 재연쌤, 귀여운 아줌마 쥬주영쌤, 개인 재테크 상담사 사랑스런 은령이 언니, 자주보지 못하지만 곧 얘기엄마 되는 효정이 언니 이하 작은 공간에 다 열거하지 못한 그 밖의 소중한 인연을 맺은 분들 모두에게 고마움을 전합니다. 그리고 빠질 수 없는 한사람, 늘 곁에서 묵묵히 바라봐주며 지치고 힘들 때 한없이 넓은 어깨를 빌려준 김용민님 고맙고 사랑합니다.

마지막으로 저를 아껴주시고 걱정해주신 모든 분들께 감사드리며, 때론 친구처럼 고민 상담을 해주시고 때론 인생 선배로서 현명한 선택에 길잡이가 되어주시는 세상에 단 하나뿐인 사랑하는 우리 엄마 정영숙 여사님.. 항상 무한한 믿음과 신뢰로 묵묵히 지켜봐주셔서 진심으로 감사하고, 미안하고 또 사랑합니다. 2년간의 조그마한 결실을 사랑하는 정 여사님께 바칩니다.

참고문헌

- Bellamy, K., 1995. A review of the test methods used to establish virucidal activity. *J. Hosp. Infect.* 30, 389-396.
- Benishin, G.C. 1992. Actions of ginsenoside Rb1 on choline uptake in central cholinergic nerve endings. *Neurochem. Int.* 21,1-5.
- Bidawid, S., N. Malik, O. Adegbunrin, S.A. Sattar and J.M. Farber. 2003. A feline kidney cell line-based plaque assay for feline calicivirus, a surrogate for Norwalk virus. *J. Virol. Methods.* 107, 163-167.
- Chang, H.K. 2000. Changes in chemical composition of panax ginseng leaves by different harvesting months. *Korean J. Food & Nutr.* 13,6-12.
- Chang, H.K. 2003. Effect of processing methods on the saponin contents of Panax ginseng leaf-tea. *Korean J. Food & Nutr.* 16,46-53.
- Choi, J.E., Han, Y.H., Lee, K.T. 2009. Changes of Saponin Contents of Leaves, Stems and Flower-buds of Panax ginseng C.A. Meyer by Harvesting Days. *Korean J. Crop. Sci.* 17,251-256.

- Chung, D.O., I.D. Park and H.O. Jung. 2001. Evaluation of functional properties of onion, rosemary, and thyme extracts in Onion Kimchi. *Kor. J. Soc. Food Cookery Sci.* 17, 24-29.
- Doosan. Co., Ltd. 2008. Fermented ginseng containing bio-converted ginsenoside metabolites increased by co-fermentation of fungi and lactic acid bacteria. KR-A 10-2008-0103299.
- Doultree, J.C., J.D. Druce, C.J. Birch, D.S. Bowden and J.A. Marshall. 1999. Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J. Hosp. Infect.* 41, 51-57.
- Eom, S.H., Seo, S.H., Gimery, A.K., Jin, C.W., Kang, E.Y., Kang, W.S., Chung, I.M., Cho, D.H. 2008. Changes of protopanaxadiol ginsenosides in ginseng leaves by far infrared and steaming heat treatments. *Korean J. Med Crop. Sic.* 16, 332-336
- Gehrke, C., J. Steinmann and P. Goroncy-Bermes. 2004. Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus(formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J. Hosp. Infect.* 56, 49-55.
- Han, J.H., Park, S.J., Ahn, C.N, Wee, J.J, Kim, K.Y, and Park, S.H. 2004. Nutritional Composition, Ginsenoside Content and

- Fundermental Safety Evaluation with Leaf and Stem Extract of Panax ginseng. *Korean J. Food & Nutr.* 33,778-784.
- Huo, Y., Chen, Y. 1998. The effect of Panax ginseng extract on insulin and corticosteroid receptors. *J. Traditional Chinese Medicine.* 8,293-295.
- Im, K.S., Chung, H.Y., Park, S.H., Je, N.K. 1995. Anticancer Effect of the Hydrolyzed Monogluco-Ginsenoside of Total Saponin from Ginseng Leaf. *J. Ginseng Res.* 19, 291-294.
- Jo, J.S., Mok, S.G, Weon, J.Y. 1998. Culture of latest ginseng. *Seon jin munawsa*, Seoul.pp34.
- Jun, H.K., Kim, S.H., Jong, K.L. 1982. Studies of ginseng the components on the growth of bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 10,101-108.
- Kampf, G., d. Grotheer, and J. Steinmnn. 2005. Efficacy of three ethanolbased hand rubs against feline calicivirus, a surrogate virus for norovirus. *J. Hosp. Infect.* 60,144-149.
- Kang, S.Y., Kim, N.D. 1992. The antihypertensive effect of red ginseng saponin and the endothelium-derived vascular relaxation.

Korean J. Ginseng Sic. 18,175-182.

Kikuchi, Y., Sasa, H., Kita, T., Hirata, J., Tode, T. 1991. Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation in vitro by ginsenoid-Rb2 and adjuvant effects of cisplatin in vivo. *Anticancer Drugs (England)*.2,63-67.

Kim, H.G., Kim, K.Y., Cha, C.J. 2007. Screening for ginseng-fermenting microorganisms capable of biotransforming ginsenosides. *Kor. J. Microbiol.* 43,142-146.

Kim J.B., Hasegawa H. 2003. Red ginseng containing deglycosylated ginsenosides and its manufacturing method. KR-A 2003-0041323.

Kim, M.W., Ko, S.R., Choi, K.J. and Kim, S.C. 1987. Distribution of Saponin in Various Sections of Panax ginseng root and Changes of its Contents According to Root Age. *J. Ginseng Res.* 11,10-16.

Kwak, Y.K., Hwang, M.H., Kim, S.C., Do J.H., Park, C.K. 2006. A growth inhibition effect of saponin from red ginseng on some pathogenic microorganisms. *J. Ginseng Res.* 30,128-131.

Lee, K.S., Seong, B.J., Kim, G.H., Kim, S.I., Han, S.H., Kim, H.H., Baik N.D. 2010. Ginsenoside, phenolic acid composition and physiological significances of fermented ginseng leaf. *Korean J. Food & Nutr.* 39, 1194-1200.

Lee, S.D. 1985. A study on the change of cholesterol contents by supplement or the panax ginseng by products in the dietary protein level in rat's heart and testis. *Korean J. Chemistry.* 2, 55-61.

Park, S.J., Kim, D.H., Peak, N.S. 2006. Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J. Ginseng Res.* 30, 88-94.

