



## 산삼 부정배양근의 진세노사이드 함량 증진과 성분 변환

김철중<sup>1</sup> · 최재후<sup>2</sup> · 오영선<sup>3</sup> · 성은수<sup>4</sup> · 임정대<sup>5</sup> · 유창연<sup>6</sup> · 이재근<sup>7†</sup>

### Enhancement and Conversion of Ginsenoside Contents in Cultured Wild Ginseng Adventitious Root

Chul Joong Kim<sup>1</sup>, Jae Hoo Choi<sup>2</sup>, Yeong Seon Oh<sup>3</sup>, Eun Soo Seong<sup>4</sup>, Jung Dae Lim<sup>5</sup>, Chang Yeon Yu<sup>6</sup> and Jae Geun Lee<sup>7†</sup>

#### ABSTRACT

Received: 2020 September 16  
1st Revised: 2020 November 4  
2nd Revised: 2020 November 24  
3rd Revised: 2020 December 1  
Accepted: 2020 December 1

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Background:** Culturing wild ginseng adventitious root using plant factory technology provides genetic safety and high productivity. This production technology is drawing attention in the fields of functional raw materials and product development. The cultivation method using elicitors is key technology for controlling biomass and increasing secondary metabolites.

**Methods and Results:** Elicitor treatments using methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sistosterol were performed to amplify total ginsenosides (Rb1, Rc, Rb2, Rb3, and Rd) of cultured wild ginseng adventitious root. Thereafter, fermentation and steaming processes were performed to convert total ginsenosides into minor molecular ginsenosides (Rg3, Rk1, and Rg5). The result indicated that methyl jasmonate minimizes the reduction in fresh weight of cultured wild ginseng adventitious root and maximizes total ginsenosides (sum of Rb1, Rc, Rb2, Rb3, and Rd). Ginsenoside conversion results showed a maximum degree of conversion of 131 mg/g.

**Conclusions:** In this study, we demonstrated that the optimal elicitor treatment method increased the content of total ginsenosides, while the steaming and fermentation processing method increased the content of minor ginsenosides.

**Key Words:** *Panax ginseng* C. A. Meyer, Cultured Wild Ginseng Adventitious Root, Elicitor, Ginsenoside, Lactic Acid Bacteria, Methyl Jasmonate

## 서 언

산삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)의 유효성분 진세노사이드는 triterpenoid 화합물로 dammarane과 oleanane으로 구분된다. 이중 dammarane은 탄소 3, 20 번에 수산기 (hydroxyl group)가 결합된 protopanaxadiol (PPD)과 탄소 3, 6, 20 번에 수산기가 결합된 portpanaxatriol (PPT) 계열로 나뉘며, 현재까지 30 여종 이상의 주요 진세노사이드가 보고되었다 (Lee *et al.*, 2013b; Park, 2019).

진세노사이드 약리작용은 항암, 면역 활성화 증강, 혈압강하, 항염증 및 항산화 (Seo *et al.*, 2019), 인지능력 및 기억력개선 (Yeo *et al.*, 2012; An *et al.*, 2019), 치매예방 (Kim *et al.*, 2018), 혈당감소 (Zhou *et al.*, 2019), 주름개선 (Shin *et al.*, 2017), 발기부전 (Liu *et al.*, 2015) 등이 보고되고 있다.

식품공전에 수록된 *Panax ginseng* C. A. Meyer은 수삼 (水蔘), 백삼 (白蔘), 홍삼 (紅蔘), 흑삼, 야산삼 (野山蔘), 별직삼 (別直蔘), 산양삼 (山養蔘), 태극삼 (太極蔘), ginseng, Korean ginseng으로 구분되고 있으며, 식품·건강기능식품·생약의 주원

†Corresponding author: (Phone) +82-33-258-6801 (E-mail) leejeakun@hanmail.net

<sup>1</sup>취화진바이오코스메틱 과장 / Manager, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

<sup>2</sup>취화진바이오코스메틱 주임 / Assistant manager, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

<sup>3</sup>취화진바이오코스메틱 과장 / Manager, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

<sup>4</sup>수원여자대학교 약용식물과 교수 / Professor, Department of Medicinal Plant, Suwon Women's University, Suwon 16632, Korea.

<sup>5</sup>강원대학교 바이오헬스융합학과 교수 / Professor, Department of Bio-Health Convergence, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

<sup>6</sup>강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

<sup>7</sup>취화진바이오코스메틱 소장 / Director, Research Institute of Biotechnology, HwajinBioCosmetic, Chuncheon 24232, Korea.

료 인삼은 육종연한이 길고, 연작이 불가능하며, 고온피해 방지를 위한 해가림막 설치 등의 경제성을 고려해야 되고, 병충해 예방을 위한 농약살포와 토양에 잔류하는 중금속의 위해성 문제를 야기하고 있다 (Park *et al.*, 2012; Jang *et al.*, 2019).

토양재배 문제점과 유용성 물질 생산성을 개선하기 위한 방법으로 약용식물을 기내에서 대량 배양하는 조직배양 분야가 발전하였고, 희귀약용식물의 보급을 위한 기내도입과 순화를 통한 육묘배양 (Cho *et al.*, 2012), LED 및 생장조절제 처리를 통한 식물의 특정부위 및 컬러스 배양 기술이 실용화 되었다 (Thomas, 2019). 이중 산삼의 모세포를 기내도입한 후, 부정근 배양을 이용한 산삼 부정배양근 진세노사이드 생산기술은 인삼 모상근 배양에 비하여 유전적 안정성과 높은 유용성 물질 생산성을 가지고 있어 기능성 식품 개발에 활용되고 있다 (Song *et al.*, 2005; Liang *et al.*, 2019).

Elicitor는 식물의 방어기능을 자극하여 2차 대사산물의 생산을 향상시킬 수 있는 가장 효과적인 방법 중 하나로 알려져 있고, 식물의 병원균 대응 방어기작 phytoalexin, phytoncide와 타식물 대응 방어기작 allelopathy, allelopathic으로 구분 된다 (Ramirez-Estrada *et al.*, 2016). 대부분의 생물학적인 elicitor는 세포막에 결합된 특정 수용체에 의해 인식되며, 유전적 특성과 생리학적 상태에 의해서 조절되고 (Mcdowell and Woffenden, 2003; Bacete *et al.*, 2018), 외부요인에 대한 식물의 방어 메커니즘을 바탕으로 한 식물호르몬 처리에 연구적 초점을 두고 있다 (Santner and Estelle, 2009).

20세기 초에 발견된 옥신 (auxin), 앱시스산 (abscisic acid), 사이토키닌 (cytokinin), 지베렐린 (gibberellin)과 에틸렌 (ethylene)을 포함하여 브라시노스테로이드 (brassinosteroid), 자스모네이트 (jasmonate), 살리실산 (salicylic acid), 스트리고락톤 (strigolactone) 등이 발견되었고 (Chappell, 1995; Uggla *et al.*, 1996), 옥신의 Aux/IAA-ARF 신호 전달경로를 통한 안토시아닌 생합성 조절효과 등 식물 호르몬을 활용한 방어물질 관련 메커니즘 관련 연구의 중요성이 입증되고 있다 (Wang *et al.*, 2018).

병원균 대응을 위해 식물호르몬이 2차 대사산물을 이용하는 대표적인 경우가 사포닌 화합물이며, Pollier 등 (2013)은 콩과 식물인 *Medicago truncatula*에서 자스모네이트가 ERAD (Endoplasmic reticulum associated degradation) 시스템과 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA 환원효소에 대한 작용을 통하여 terpene의 전구체 isopentenyl diphosphate의 공급에 속도 조절을 확인하였고, Han 등 (2012)은 식물 생장조건에서 인위적으로 Cytochrome P450 CYP716A53v2 효소를 조절하여 진세노사이드 전구물질인 protopanaxadiol의 합성에 따른 진세노사이드 함량증진 연구결과를 보고하였다.

일반적인 진세노사이드는 고분자 형태로 947.15 - 1109.29 (Molecular Weight, M. W.)의 분자량을 갖고 있고, 3 개 이

상의 단당류 (glucose, arabinose, xylose, rhamnose)들이 강한 이중결합으로 붙어 있다. 고분자 진세노사이드에 결합된 당을 분해하기 위해서는 산처리, 열처리 (증숙), 발효와 같은 물리·화학·생물학적인 공정을 거쳐야 되며 (Xu *et al.*, 2018), 분해된 저분자 진세노사이드는 체내흡수와 약리적 효과가 증가되는 것으로 보고되고 있다. 대표적인 저분자 진세노사이드로는 Rg3, Rk1, Rg5, Compound K가 있으며, Rg3는 혈압저하 (Lee *et al.*, 2016), 항암 (Park *et al.*, 2014), Rg3, Rk1, Rg5는 치매예방 (Lee *et al.*, 2013a), 골다공증 예방 (Siddiqi *et al.*, 2014), Compound K는 항염 (Chen *et al.*, 2019), 간보호 (Chen *et al.*, 2017) 등의 약리작용이 보고되고 있다.

본 연구에서는 산삼 부정배양근의 진세노사이드를 증가시키기 위해 배양기간 중 식물의 방어기작을 자극을 하는 elicitor 물질 (methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sitosterol)을 처리하는 배양시험과 고분자 진세노사이드를 저분자로 변환하는 증숙, 발효시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 시약

식물재료 기원은 강원도 양구군에서 채취한 35년 근 야생 산삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)으로써 무균상태로 기내도입한 후, 재분화 조건을 확립한 산삼 부정배양근 (cultured wild ginseng adventitious root), 발효균주 기원은 김치에서 유래된 유산균으로써 *Pediococcus pentosaceus* HLJG0702 (KACC 81017BP, Korean Agricultural Cutrue Collection, NIAS, RDA)를 (주)화진바이오코스메틱에서 공급받아 사용하였다.

식물배양배지 조성물 중 Schenk & Hildebrandt (SH) 배지는 Duchefa Biochemie (Haarlem, Netherlands), sucrose는 Q1 (Samyang Co., Seoul, Korea), indole-3-butyric acid (IBA)와 De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) 배지는 기산 바이오텍 (Seoul, Korea), methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sitosterol과 진세노사이드 표준품은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), water, acetonitrile, MeOH은 Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) 제품을 구입하여 사용하였다.

### 2. 진세노사이드 함량증진

#### 2.1. Elicitor 처리 및 물질선별

산삼 부정배양근 (cultured wild ginseng adventitious root)에 이차대사산물 진세노사이드 증진시험을 수행하기 위해 triterpenoid 생합성 경로에서 상호작용을 하는 elicitor 물질 (methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sitosterol)을 선별한 후, 처리하였다

배양배지 조성물 SH 배지 64.5 g/15 l, sucrose 450 g/15 l, IBA 30 mg/15 l 를 증류수에 혼합한 후, methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sitosterol을 62.5, 125.0, 250.0  $\mu$ mol 농도로 각각 첨가하였다. 이후 pH 5.75  $\pm$  0.10로 보정하여, 18 l 생물반응기에 배양배지를 넣고, 고온·고압 (121°C, 60 min, 0.12 mPa) 습윤 멸균한 후, 냉각된 배양배지에 계대배양 중인 산삼 모세포를 접종하고, 총 배양기간을 8 주로 하여 생체중량과 진세노사이드 함량을 비교하였다.

**2.2. Methyl jasmonate 조건배양**

배양배지 조성물 SH 배지 64.5 g/15 l, sucrose 450 g/15 l, IBA 30 mg/15 l 를 증류수에 혼합한 후, pH 5.75  $\pm$  0.10로 보정하여, 18 l 생물반응기에 배양배지를 넣고, 고온·고압 (121.0°C, 60 min, 0.12 mPa) 습윤 멸균하였다. 이후, 배양배지에 계대배양 중인 산삼 모세포를 접종하였고, 선별된 elicitor인 methyl jasmonate를 62.5  $\mu$ mol - 250.0  $\mu$ mol 농도로 하여, 1 주 - 7 주까지 주차별로 처리한 후, 총 배양기간을 8 주로 하여 생체중량과 진세노사이드 함량을 비교하였다.

**3. 생체중량 측정**

8 주간 배양된 산삼 부정배양근을 수확한 후, 생체표면에 묻은 수분을 드라이오븐에서 건조 (45°C, 10 min)하여 제거한 후, 대조군과 실험군의 생체중량을 측정하였다.

**4. 진세노사이드 분석**

산삼 부정배양근 생체는 70% EtOH로 추출 및 동결건조, 추출물은 동결건조 하여, 수분을 완전하게 제거한 후, 100% MeOH에 용해, 필터링하여 분석 시료로 사용하였다. 진세노사이드 분석은 HPLC-UVD UltiMate 3000 HPLC Systems (Thermo Fisher Scientific Inc., San Jose, CA, USA)을 사용하였고, 컬럼은 Capcell pak C18 (5  $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm, Shiseido Ltd., Tokyo, Japan), 이동상 acetonitrile과 water를 사용하여 측정하였다 (Table 1). 정량방법은 측정된 면적 값을 진세노사이드 표준품 검량선 식에 대입하였고, 단위의 환산은 아래와 같은 식에 대입하여 산출하였다.

$$\text{진세노사이드 함량 (mg/g)} = C \times (a \times b) / S \times 1/1,000$$

- C: 시험용액 중 개별 진세노사이드 농도 ( $\mu$ g/ml)
- a: 시험용액의 전량 (ml)      S: 시료 채취량 (g)
- b: 희석배수                      1/1,000: 단위 환산 계수

**5. 진세노사이드 함량변환**

**5.1. 증속 조건선별**

증속시험은 추출물 증속 방법으로 실시하였고, 산삼 부정배양근을 70% EtOH 추출 및 동결건조 한 후, 건조분말 50 g

**Table 1.** HPLC conditions of ginsenoside analysis in cultured wild ginseng adventitious root.

Instrument	UltiMate 3000 HPLC Systems		
Column	Capcell pak C18 (5 $\mu$ m, 250 $\times$ 4.6 mm)		
Wavelength	203 nm		
Injection volume	10 $\mu$ l		
Flow rate	1.0 ml/min		
Column temperature	30°C		
Mobile phase	Solvent A; Water, Solvent B; Acetonitrile		
Gradient conditions	Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
	0	80	20
	5	80	20
	20	77	23
	25	70	30
	30	60	40
	35	50	50
	60	15	85
	65	15	85
	75	80	20

을 증류수 10 l 에 희석한 (5,000 ppm) 산삼 부정배양근 추출물을 시료로 사용하였고, 온도 (100°C - 120°C), 시간 (60 min - 270 min) 증속 조건별 저분자 진세노사이드 (Rg3, Rk1, Rg5) 함량변환을 비교하였다.

**5.2. 발효 조건선별**

발효시험은 증속시험 중 최적 합한 실험군 조건에 유산균을 농도별로 접종한 후, 처리하는 방법으로 실시하였다. 유산균 접종조건은 생균 50.00, 25.00, 12.50, 10.00, 8.33, 7.14, 6.25, 5.55 g을 증류수 2 l 에 희석한 유산균 희석액을 시료로 사용하였으며, 유산균 희석액 20% (v/v)와 산삼 부정배양근 추출물 80% (v/v) 비율로 혼합한 후, pH value를 측정하였다. 이후, 120°C, 210 min에서 반응시키고, 저분자 진세노사이드 함량변환을 비교하였다 (Table 2).

**6. 통계처리**

배양시험은 9 회, 이외의 실험은 3 회 반복으로 진행하였으며, 평균  $\pm$  표준편차를 나타내었다. 시험결과와 관련된 통계처리는 SPSS program (Statistical Package for Social Science, Version 24, IBM Co., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석 (ANOVA)으로 5% 수준에서 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)에 의하여 대조군, 실험군 간 유의차를 검증하였다 ( $p < 0.05$ ).

**Table 2.** The bioconversion conditions of cultured wild ginseng adventitious root extract according to lactic acid bacteria treatment.

Lactic acid bacteria (g)	Water (ℓ)	Concentration (ppm)
50.00	2.00	25,000
25.00	2.00	12,500
12.50	2.00	6,250
10.00	2.00	5,000
8.33	2.00	4,166
7.14	2.00	3,571
6.25	2.00	3,125
5.55	2.00	2,777

## 결과 및 고찰

### 1. 진세노사이드 함량증진

#### 1.1. Elicitor 처리, 물질선별

Triterpenoid 계열은  $\beta$ -hydroxy  $\beta$ -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA)가  $\beta$ -hydroxy  $\beta$ -methylglutaryl-CoA reductase (HMGR)에 의해 환원되며, mevalonate 대사를 거쳐 terpene의 전구체인 isopropene diphosphate isomerase (IPP)의 형성을 기반으로 한다. 이후 isoprenoid pathway를 거쳐, 2,3-oxidosqualene 형성까지 모든 진세노사이드에서 동일하게 이루어지며, 이후 cyclization 단계에서 나누어지게 된다 (Yang *et al.*, 2018).

본 연구에서는 생합성 유도물질로 methyl jasmonate, pyruvic acid, squalene,  $\beta$ -sistosterol를 선별하여 사용하였다. Methyl jasmonate는 병원균에 allelopathy/allelopathic compounds 반응을 통해 식물에 함유된 triterpenoid 계열의 2차 대사물질을 증진시키는 것으로 알려져 있다 (Marsik *et al.*, 2014).

Isopentenyl diphosphate (IPP)와 dimethylallyl diphosphate (DMAPP)의 경우, mevalonate (MVA) pathway와 별개로 non-mevalonate pathway인 methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway 경로가 관여하는 것으로 알려져 있으며 (Banerjee and Sharkey, 2014), MEP pathway는 식물색소체에서 효소 반응을 통해 pyruvic acid로부터 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP)로의 합성과정에서 시작되는 것으로 보았을 때, 최초 전구체 물질인 pyruvic acid는 MEP pathway를 자극하여 진세노사이드 합성에 관여되어 선별하였다.

Squalene은 식물과 인간을 포함한 거의 모든 동물에서 생산되며 여러 방면에서 활용되며 (Boughton *et al.*, 1957), squalene epoxidase (SQE)에 의해 2,3-oxidosqualene으로 전환되는 물질이며,  $\beta$ -sitosterol은 phytosterol로 squalene이 squalene 2,3-oxide, chair-boat-chair-boat, cycloartenol을 거쳐

서 생산되는데, squalene의 생합성 경로에서 경쟁적 억제제 또는 상승제 역할을 하여 선별하였다 (Aboobucker and Suza, 2019).

Elicitor 물질 methyl jasmonate (MJ), pyruvic acid (PA), squalene (SA),  $\beta$ -sistosterol (BS)를 배양배지에 62.5  $\mu$ mol - 250.0  $\mu$ mol 농도별로 처리하여 배양한 결과, 생체중량은 PA 실험군, BS 실험군, SA 실험군, 대조군, MJ 실험군 순으로 감소하였고, PA 62.5 실험군이 602.5  $\pm$  40.1 g으로 가장 높게 측정되었다. 반면, BS 실험군과 SA 실험군의 생체중량에 차이를 나타내지 않았으며, MJ 실험군은 농도가 증가할수록 생체중량은 감소하였다 (Fig. 1).

총 진세노사이드 함량은 MJ 실험군, BS 실험군, SA 실험군, PA 실험군, 대조군 순으로 감소하였지만, 대조군 대비 모두 증가하였다. 이중, MJ 실험군은 농도가 증가할수록 총 함량이 증가하여, MJ 250 실험군에서 64.0  $\pm$  0.8 mg/g으로 가장 높은 값을 나타내었다 (Table 3).

#### 1.2. Methyl jasmonate 조건배양 (처리농도, 처리기간별)

Methyl jasmonate를 62.5  $\mu$ mol - 250.0  $\mu$ mol 농도로 하여, 1주 - 7주까지 주차별로 처리한 후, 생체중량과 총 진세노사이드 함량의 상관관계를 비교하였다.

생체중량은 MJ 62.5-1에서 MJ 62.5-7까지, MJ 125-5에서 MJ 125-7의 실험군에서는 유의적으로 증가되거나 감소되지 않은 반면에, MJ 125-1에서 MJ 125-4까지, MJ 250-1에서 MJ 250-7까지의 실험군에서는 methyl jasmonate 농도증가와 처리기간이 길어질수록 생체중량이 감소하였고, MJ 250-1 실험군에서 150.0  $\pm$  37.9 g까지 감소하였다 (Fig. 2).

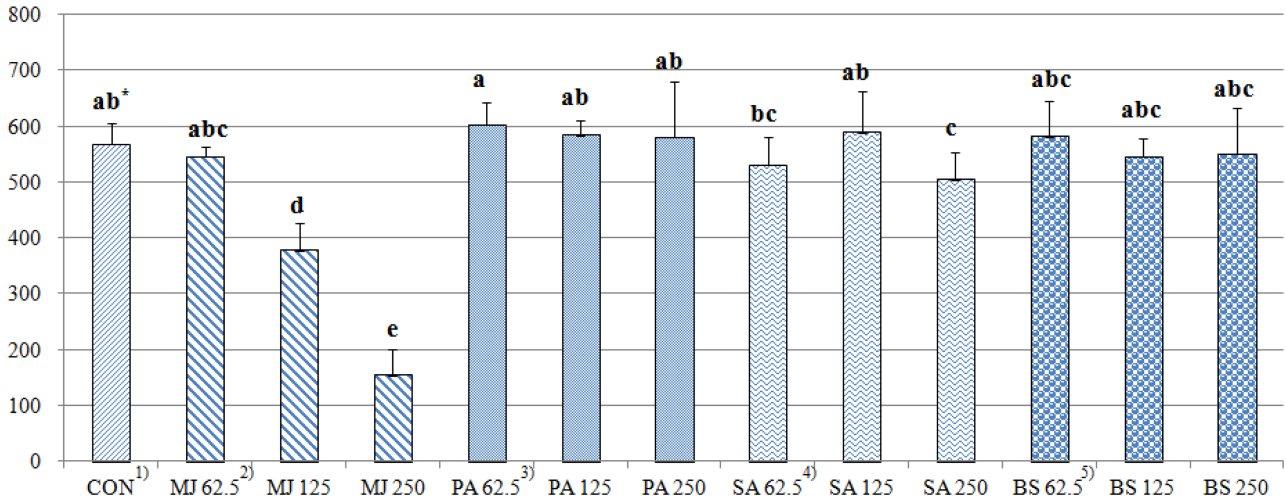
총 진세노사이드는 함량은 대조군 대비 모두 증가하였고, MJ 62.5-1에서 MJ 62.5-4까지의 실험군, MJ 125-1에서 MJ 125-4까지, MJ 250-1에서 MJ 250-4까지의 실험군, MJ 62.5-5 실험군, MJ 125-5 실험군 순으로 증가하였다. 특히, MJ 250-5 실험군에서 188.1  $\pm$  4.9 mg/g으로 가장 높은 값을 나타내었다 (Table 4).

Wu 등 (2020)은 고려 인삼 모상근 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)을 30일간 배양한 후, methyl jasmonate를 처리하고 8일이 경과되었을 때, 진세노사이드 함량이 최대 13 mg/g까지 증가하였고, Wang 등 (2016) 북미 인삼 모상근 (*Panax Quinquefolium* L.)을 28일간 배양한 후, methyl jasmonate 5 mg/ℓ 을 처리하고 12일이 경과되었을 때, 43.66 mg/g (대조군 8.32 mg/g)까지 증가하였으며, 배양기간 중 부정근이 유기된 후, 영양생장을 한 상태에서 elicitor 처리방법이 효과적이라는 연구결과를 보고하였다.

식물세포의 세포생장 곡선은 일반적으로 S 모형을 나타내고, 이차대사산물은 생장곡선이 증가하지 않는 단계에 이르러 생산되는 것으로 알려져 있다. 이는 탄소와 같은 물질들이 세

산삼 부정배양근의 진세노사이드 성분 변환

Unit : g



**Fig. 1. The comparison of bio-mass according to elicitor treatment** in cultured wild ginseng adventitious roots. Each value is means  $\pm$  SD of nine replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT,  $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>CON; Control (non-treatment culture), <sup>2)</sup>MJ 62.5 - MJ 250; methyl jasmonate 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>3)</sup>PA 62.5 - PA 250; pyruvic acid 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>4)</sup>SA 62.5 - SA 250; squalene 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>5)</sup>BS 62.5 - BS 250;  $\beta$ -sistosterol 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture.

**Table 3. The comparison of total ginsenoside according to elicitor treatment** in cultured wild ginseng adventitious roots.

Treatment group	Ginsenoside contents (mg/g)								
	Major					Minor			Total
	Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Rg3	Rk1	Rg5	
CON <sup>1)</sup>	11.0 $\pm$ 6.3 <sup>fr</sup>	6.8 $\pm$ 0.7 <sup>f</sup>	7.3 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup>	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	10.1 $\pm$ 0.0 <sup>fg</sup>	N.D.	N.D.	N.D. <sup>2)</sup>	33.6 $\pm$ 5.8 <sup>h</sup>
MJ 62.5 <sup>3)</sup>	12.3 $\pm$ 0.2 <sup>de</sup>	10.3 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	10.8 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	3.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	12.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.0 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>
MJ 125	14.9 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	10.9 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	10.5 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	3.1 $\pm$ 0. <sup>b</sup>	9.8 $\pm$ 0.2 <sup>g</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.5 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
MJ 250	16.4 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	13.1 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	14.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	3.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	16.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	64.0 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>
PA 62.5 <sup>4)</sup>	10.0 $\pm$ 0.4 <sup>g</sup>	6.7 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	6.6 $\pm$ 0.0 <sup>g</sup>	2.1 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	9.9 $\pm$ 0.1 <sup>fg</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	35.3 $\pm$ 0.3 <sup>i</sup>
PA 125	13.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	6.9 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup>	6.7 $\pm$ 0.3 <sup>g</sup>	2.3 $\pm$ 0.0 <sup>de</sup>	10.2 $\pm$ 0.2 <sup>efg</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	39.3 $\pm$ 0.5 <sup>g</sup>
PA 250	12.6 $\pm$ 0.2 <sup>cde</sup>	8.5 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	8.1 $\pm$ 0.0 <sup>e</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	10.6 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	42.1 $\pm$ 0.2 <sup>ef</sup>
SA 62.5 <sup>5)</sup>	12.1 $\pm$ 0.0 <sup>e</sup>	8.2 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	8.3 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	10.4 $\pm$ 0.3 <sup>def</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	41.3 $\pm$ 0.4 <sup>f</sup>
SA 125	12.5 $\pm$ 0.2 <sup>cde</sup>	8.1 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	8.2 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	2.5 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup>	10.4 $\pm$ 0.2 <sup>def</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	41.9 $\pm$ 0.6 <sup>f</sup>
SA 250	12.7 $\pm$ 0.2 <sup>cde</sup>	8.6 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	8.9 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>cd</sup>	10.9 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	43.8 $\pm$ 0.6 <sup>d</sup>
BS 62.5 <sup>6)</sup>	12.8 $\pm$ 0.5 <sup>cd</sup>	8.4 $\pm$ 0.2 <sup>de</sup>	8.0 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>cd</sup>	11.4 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	43.4 $\pm$ 0.8 <sup>de</sup>
BS 125	12.9 $\pm$ 0.4 <sup>cd</sup>	8.6 $\pm$ 0.1 <sup>de</sup>	8.4 $\pm$ 0.4 <sup>cde</sup>	2.6 $\pm$ 0.0 <sup>c</sup>	10.9 $\pm$ 0.5 <sup>d</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	43.6 $\pm$ 1.3 <sup>d</sup>
BS 250	13.0 $\pm$ 0.5 <sup>cd</sup>	8.8 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	8.7 $\pm$ 0.2 <sup>cd</sup>	2.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	11.6 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	45.2 $\pm$ 1.0 <sup>c</sup>

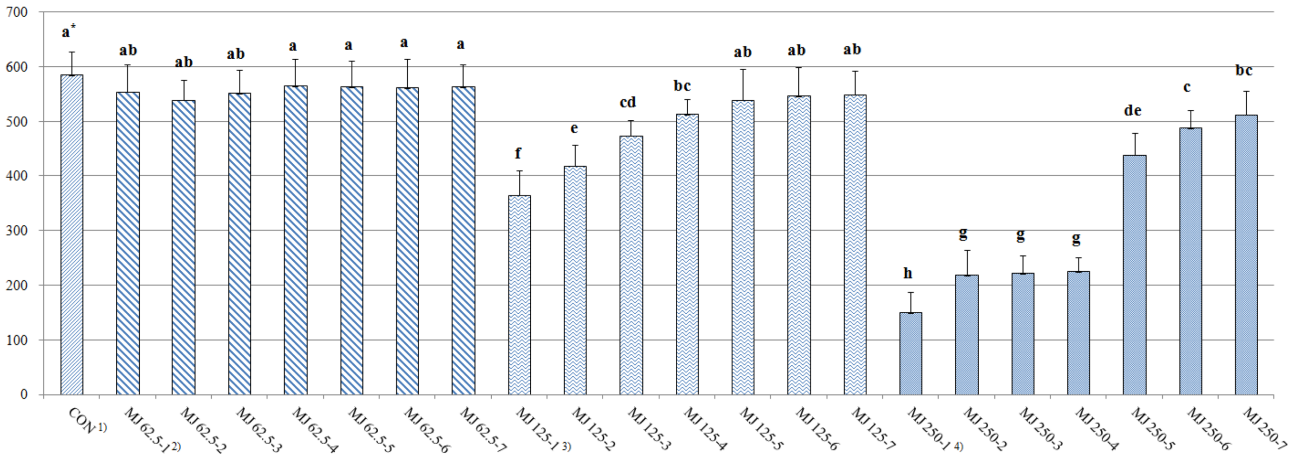
Each value is means  $\pm$  SD of nine replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT,  $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>CON; control (non-elicitor treatment culture), <sup>2)</sup>N.D.; not detected, <sup>3)</sup>MJ 62.5 - MJ 250; methyl jasmonate 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>4)</sup>PA 62.5 - PA 250; pyruvic acid 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>5)</sup>SA 62.5 - SA 250; squalene 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture, <sup>6)</sup>BS 62.5 - BS 250;  $\beta$ -sistosterol 62.5  $\mu$ mol - 250  $\mu$ mol treatment culture.

포구성물 생성 및 세포호흡과 같은 1차 대사에 사용되기 때문이며, 2차 대사산물의 합성은 세포생장 곡선 중 lag phase와 log phase에서 나타나지 않는 효소들의 활성화에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다 (Marisol *et al.*, 2016).

본 실험을 통하여 산삼 부정배양근 생체중량과 총 진세노사

이드 함량의 상관관계를 비교하였을 때, methyl jasmonate를 250  $\mu$ mol 농도에서 5주차에 처리하였을 때, 가장 적합한 실험 군인 것으로 확인되었다. 선행연구와 결과를 비교하였을 때, methyl jasmonate를 저농도 (53 mg/l)로 처리하고, 배양기간을 증가시켰을 때 (16 일), 최대 4.3 배 (w/w) 이상 높은 함

Unit: g



**Fig. 2.** The comparison of bio-mass according to methyl jasmonate treatment (concentration, duration) in cultured wild ginseng adventitious roots. Each value is means  $\pm$  SD of nine replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT,  $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>CON; control (non-elicitor treatment culture), <sup>2)</sup>MJ 62.5-1 - MJ 62.5-7; methyl jasmonate 62.5  $\mu\text{mol}$  1 week - 7 week injection. <sup>3)</sup>MJ 125-1 - MJ 125-7; methyl jasmonate 125  $\mu\text{mol}$  1 week - 7 week injection. <sup>4)</sup>MJ 250-1 - MJ 250-7; methyl jasmonate 250  $\mu\text{mol}$  11 week - 7 week injection.

**Table 4.** The comparison of total ginsenoside according to methyl jasmonate treatment (concentration, duration) in cultured wild ginseng adventitious roots.

Treatment group	Ginsenoside contents (mg/g)								Total
	Major				Minor				
	Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Rg3	Rk1	Rg5	
CON <sup>1)</sup>	11.3 $\pm$ 0.2 <sup>hi*</sup>	8.0 $\pm$ 0.4 <sup>i</sup>	7.7 $\pm$ 0.3 <sup>o</sup>	2.0 $\pm$ 0.2 <sup>hi</sup>	10.0 $\pm$ 0.3 <sup>klm</sup>	N.D.	N.D.	N.D. <sup>2)</sup>	39.2 $\pm$ 1.0 <sup>j</sup>
MJ 62.5-1 <sup>3)</sup>	12.7 $\pm$ 0.2 <sup>igh</sup>	10.3 $\pm$ 0.2 <sup>fg</sup>	11.1 $\pm$ 0.1 <sup>hi</sup>	2.8 $\pm$ 0.0 <sup>efg</sup>	12.5 $\pm$ 0.1 <sup>hij</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.6 $\pm$ 0.4 <sup>f</sup>
MJ 62.5-2	13.2 $\pm$ 1.0 <sup>gh</sup>	8.8 $\pm$ 0.2 <sup>hij</sup>	9.5 $\pm$ 1.1 <sup>lmn</sup>	2.4 $\pm$ 0.1 <sup>fghi</sup>	11.5 $\pm$ 0.1 <sup>ijk</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	45.6 $\pm$ 2.1 <sup>gh</sup>
MJ 62.5-3	14.5 $\pm$ 0.0 <sup>fgh</sup>	9.7 $\pm$ 0.2 <sup>gh</sup>	10.3 $\pm$ 0.2 <sup>klm</sup>	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>ghi</sup>	12.3 $\pm$ 0.1 <sup>hij</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.2 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>
MJ 62.5-4	14.4 $\pm$ 0.2 <sup>gh</sup>	9.6 $\pm$ 0.3 <sup>gh</sup>	11.4 $\pm$ 0.2 <sup>hij</sup>	2.3 $\pm$ 0.2 <sup>ghi</sup>	11.7 $\pm$ 0.3 <sup>ji</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.5 $\pm$ 0.9 <sup>f</sup>
MJ 62.5-5	31.5 $\pm$ 0.5 <sup>d</sup>	19.0 $\pm$ 0.7 <sup>c</sup>	19.3 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	4.8 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	18.3 $\pm$ 0.2 <sup>de</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	93.2 $\pm$ 2.0 <sup>c</sup>
MJ 62.5-6	26.1 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	17.2 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>	17.9 $\pm$ 0.7 <sup>e</sup>	5.1 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	17.4 $\pm$ 1.1 <sup>e</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	83.8 $\pm$ 2.6 <sup>d</sup>
MJ 62.5-7	12.3 $\pm$ 0.5 <sup>ghi</sup>	7.7 $\pm$ 0.3 <sup>j</sup>	9.0 $\pm$ 0.3 <sup>mn</sup>	2.2 $\pm$ 0.1 <sup>ghi</sup>	11.2 $\pm$ 0.6 <sup>kl</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	42.6 $\pm$ 1.2 <sup>ghi</sup>
MJ 125-1 <sup>4)</sup>	14.8 $\pm$ 0.6 <sup>g</sup>	10.4 $\pm$ 0.2 <sup>fg</sup>	11.0 $\pm$ 0.3 <sup>hi</sup>	3.0 $\pm$ 0.2 <sup>ef</sup>	9.2 $\pm$ 0.9 <sup>m</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	48.5 $\pm$ 2.1 <sup>fg</sup>
MJ 125-2	9.2 $\pm$ 7.3 <sup>i</sup>	11.1 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	12.1 $\pm$ 0.1 <sup>ghi</sup>	3.0 $\pm$ 0.0 <sup>ef</sup>	13.5 $\pm$ 0.1 <sup>gh</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	49.1 $\pm$ 7.6 <sup>f</sup>
MJ 125-3	11.9 $\pm$ 0.6 <sup>ghi</sup>	10.4 $\pm$ 0.5 <sup>fg</sup>	10.9 $\pm$ 0.7 <sup>hij</sup>	2.7 $\pm$ 0.3 <sup>efgh</sup>	12.8 $\pm$ 0.7 <sup>hi</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	48.9 $\pm$ 1.3 <sup>fg</sup>
MJ 125-4	12.0 $\pm$ 0.5 <sup>ghi</sup>	10.4 $\pm$ 0.5 <sup>fg</sup>	10.7 $\pm$ 0.7 <sup>ijk</sup>	2.3 $\pm$ 0.2 <sup>fghi</sup>	12.3 $\pm$ 0.7 <sup>hij</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	47.9 $\pm$ 1.2 <sup>fg</sup>
MJ 125-5	39.9 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	31.1 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	29.4 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>	8.8 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	34.0 $\pm$ 1.7 <sup>c</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	143.4 $\pm$ 6.1 <sup>b</sup>
MJ 125-6	23.3 $\pm$ 1.3 <sup>e</sup>	19.9 $\pm$ 0.9 <sup>c</sup>	19.1 $\pm$ 0.5 <sup>de</sup>	5.1 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>	19.2 $\pm$ 0.9 <sup>e</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	86.7 $\pm$ 4.5 <sup>d</sup>
MJ 125-7	13.6 $\pm$ 0.6 <sup>fgh</sup>	9.5 $\pm$ 0.5 <sup>ghi</sup>	9.7 $\pm$ 0.3 <sup>klmn</sup>	3.3 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	9.8 $\pm$ 0.4 <sup>lm</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	46.1 $\pm$ 2.2 <sup>fgh</sup>
MJ 250-1 <sup>5)</sup>	16.0 $\pm$ 0.8 <sup>f</sup>	13.0 $\pm$ 0.8 <sup>e</sup>	13.7 $\pm$ 0.5 <sup>f</sup>	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	15.2 $\pm$ 0.9 <sup>f</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	61.5 $\pm$ 3.4 <sup>e</sup>
MJ 250-2	16.0 $\pm$ 0.3 <sup>f</sup>	13.0 $\pm$ 0.6 <sup>e</sup>	12.4 $\pm$ 0.7 <sup>fgh</sup>	3.0 $\pm$ 0.1 <sup>ef</sup>	15.0 $\pm$ 0.8 <sup>fg</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	59.6 $\pm$ 2.6 <sup>e</sup>
MJ 250-3	15.0 $\pm$ 0.9 <sup>g</sup>	12.6 $\pm$ 0.4 <sup>e</sup>	13.0 $\pm$ 0.8 <sup>fg</sup>	2.8 $\pm$ 0.1 <sup>efg</sup>	15.3 $\pm$ 1.1 <sup>f</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	58.9 $\pm$ 2.5 <sup>e</sup>
MJ 250-4	15.0 $\pm$ 0.9 <sup>g</sup>	12.4 $\pm$ 0.7 <sup>e</sup>	13.7 $\pm$ 0.4 <sup>f</sup>	1.9 $\pm$ 0.1 <sup>i</sup>	15.0 $\pm$ 0.8 <sup>fg</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	58.2 $\pm$ 3.0 <sup>e</sup>
MJ 250-5	51.5 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	38.1 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	34.3 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	8.0 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	55.9 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	188.1 $\pm$ 4.9 <sup>a</sup>
MJ 250-6	36.3 $\pm$ 1.3 <sup>c</sup>	30.9 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	28.2 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>	6.2 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	39.1 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	140.9 $\pm$ 6.3 <sup>b</sup>
MJ 250-7	14.2 $\pm$ 0.3 <sup>fgh</sup>	8.3 $\pm$ 0.7 <sup>ji</sup>	8.7 $\pm$ 0.6 <sup>ji</sup>	2.6 $\pm$ 0.0 <sup>fghi</sup>	7.0 $\pm$ 0.9 <sup>n</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	40.9 $\pm$ 2.7 <sup>hi</sup>

Each value is mean  $\pm$  standard deviation of nine replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT,  $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>CON; control (non-elicitor treatment culture), <sup>2)</sup>N.D.; not detected, <sup>3)</sup>MJ 62.5-1 - MJ 62.5-7; methyl jasmonate 62.5  $\mu\text{mol}$  1 week - 7 week injection. <sup>4)</sup>MJ 125-1 - MJ 125-7; methyl jasmonate 125  $\mu\text{mol}$  1 week - 7 week injection. <sup>5)</sup>MJ 250-1 - MJ 250-7; methyl jasmonate 250  $\mu\text{mol}$  1 week - 7 week injection.

량이 검출되었다. 따라서, 본 실험군의 시료를 이용하여 진세노사이드 함량변환 (증숙, 발효) 시험을 실시하였다.

2. 진세노사이드 함량변환

2.1. 증숙 조건선별 (온도, 시간별)

산삼 부정배양근 추출물의 온도 (100°C - 120°C), 시간 (60 min - 270 min)별 증숙 실시한 결과, 온도와 시간이 증가될수록 고분자 진세노사이드 Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd는 감소하는 반면, 저분자 진세노사이드 Rg3, Rk1, Rg5는 증가하였고, 120°C -210 h 실험군에서 Rg3 54.2±0.3 mg/g, Rk1 18.7±0.4 mg/g, Rg5 28.9±0.7 mg/g으로 가장 많은 함량변환을 나타내었다 (Table 5).

Lee 등 (2018)은 산삼 부정배양근을 온도 (60°C - 120°C)와 시간 (30 min - 120 min) 조건으로 나누어 증숙한 결과, 120°C를 처리하였을 때, 저분자 진세노사이드 Rh4, Rg3, Rk1, Rg5, Rh2, Rh3가 증가되었으며, Xu 등 (2018)은 인삼을 증숙시킬 때, Rg3 비율은 100°C에서 0.030%, 120°C에서 0.338%로 약 11 배 이상이 증가되었다. Kim 등 (2000)도 120°C로 증숙하였을 때, Rg3와 Rg5가 새롭게 생성되어 전체 함량의 36%, 19%를 차지하였고, Yu 등 (2019)은 인삼을 80°C - 110°C, 48 시간 동안 증숙 하였을 때, 100°C, 12 시간 실험군에서 총 진세노사이드 함량이 최대로 증가되는 것을 보고하여, 증숙에 의한 고분자 진세노사이드 감소와 저분자 진세노사이드 증가는 선행 연구와 유의적인 결과가 확인되었다.

2.1. 발효 조건선별 (유산균 농도별)

증숙 조건에서 전환되는 저분자 진세노사이드를 증가시키기 위해 유산균을 농도별로 접종한 후, 120°C, 210 min에서 반응을 실시한 결과, 유산균 농도가 증가할수록 저분자 진세노사이드 함량이 감소하다가 3,125 ppm을 혼합하였을 때, 진세노사이드 Rg3 70.8±1.6 mg/g, Rk1 25.4±0.4 mg/g, Rg5 36.9±0.9 mg/g으로 가장 많은 함량변환을 나타내었다 (Table 6).

유산균 농도에 따른 진세노사이드 Rg3, Rk1, Rg5 변환과 pH value 상관관계를 비교하였을 때, 진세노사이드 함량이 최대로 증가되는 실험군과의 유의성은 확인되지 않았다.

Choi 등 (2014)은 인삼을 고온으로 증숙하였을 때 Rg2 2.13 mg/g, Rg3 2.04 mg/g, Rh2 1.33 mg/g, Compound K 1.14 mg/g이 검출되었고, 고온과 발효균을 복합적으로 처리하였을 때 Rg2 3.23 mg/g, Rg3 7.58 mg/g, Rh2 1.95 mg/g, Compound K 2.47 mg/g으로 저분자 진세노사이드 함량이 2.1 배 증가된다고 보고하였다. 진세노사이드의 저분자화는 고분자 진세노사이드와 결합된 배당체의 β-glucoside 결합을 끊을 수 있는 물리, 화학, 생물학적인 반응을 거쳐야 하며, 이중 발효공정은 β-glucosidase 효소 활성이 우수한 유산균을 선발하여 대량 배양한 후, 효소를 정제하여 사용하거나, 유산균 자체를 직접 활용하여 변환하는 것으로 알려져 있다 (Han and Moon, 2019). 발효 시험에서 진세노사이드 Rg3, Rk1, Rg5 함량이 증가된 것은 미생물에 의해 고분자 진세노사이드가 저분자로 변환하는 것으로 사료되어진다.

본 연구에서는 산삼 부정배양근 생체중량 감소율을 최소화

Table 5. The comparison of total ginsenoside according to steam (temperature, time) treatment in cultured wild ginseng adventitious roots of methyl jasmonate treatments.

Treatment group	Ginsenoside contents (mg/g)								
	Major					Minor			Total
	Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Rg3	Rk1	Rg5	
CON <sup>1)</sup>	53.7±1.5 <sup>a*</sup>	39.9±0.3 <sup>a</sup>	37.9±0.4 <sup>b</sup>	7.4±0.1 <sup>d</sup>	56.6±1.4 <sup>a</sup>	N.D.	N.D.	N.D. <sup>2)</sup>	195.7±3.0 <sup>bcd</sup>
100°C - 60 m	51.6±1.0 <sup>ab</sup>	40.3±0.5 <sup>a</sup>	37.6±1.3 <sup>b</sup>	10.1±0.4 <sup>a</sup>	55.6±1.6 <sup>a</sup>	4.2±0.3 <sup>k</sup>	1.1±0.1 <sup>l</sup>	1.5±0.2 <sup>j</sup>	202.4±2.3 <sup>a</sup>
100°C - 150 m	52.6±0.8 <sup>ab</sup>	34.6±1.1 <sup>b</sup>	38.4±1.3 <sup>ab</sup>	9.7±0.6 <sup>ab</sup>	44.2±2.4 <sup>c</sup>	7.9±1.7 <sup>j</sup>	2.3±0.4 <sup>h</sup>	2.8±0.2 <sup>i</sup>	192.9±4.2 <sup>cde</sup>
100°C - 210 m	50.7±0.8 <sup>bc</sup>	32.5±2.4 <sup>c</sup>	40.5±1.4 <sup>a</sup>	9.8±0.6 <sup>ab</sup>	39.9±0.7 <sup>de</sup>	13.9±0.7 <sup>i</sup>	3.7±0.2 <sup>g</sup>	6.3±0.2 <sup>h</sup>	197.6±3.0 <sup>abc</sup>
100°C - 270 m	48.5±1.0 <sup>d</sup>	27.2±0.4 <sup>e</sup>	39.2±1.4 <sup>ab</sup>	10.4±0.8 <sup>a</sup>	38.2±3.1 <sup>ef</sup>	18.2±1.6 <sup>h</sup>	7.1±0.9 <sup>f</sup>	8.7±0.5 <sup>g</sup>	197.7±3.9 <sup>abc</sup>
110°C - 60 m	48.7±1.2 <sup>cd</sup>	29.5±0.6 <sup>d</sup>	39.7±0.7 <sup>ab</sup>	9.9±0.5 <sup>ab</sup>	50.8±0.2 <sup>b</sup>	12.5±0.4 <sup>i</sup>	3.1±0.2 <sup>gh</sup>	6.3±0.7 <sup>h</sup>	200.8±3.3 <sup>ab</sup>
110°C - 150 m	38.0±1.1 <sup>f</sup>	25.8±1.7 <sup>e</sup>	32.1±1.5 <sup>c</sup>	10.1±0.3 <sup>a</sup>	41.7±1.5 <sup>cd</sup>	24.6±1.1 <sup>f</sup>	9.7±0.3 <sup>d</sup>	12.3±0.4 <sup>e</sup>	194.6±5.4 <sup>bcde</sup>
110°C - 210 m	32.9±0.3 <sup>g</sup>	23.6±0.8 <sup>f</sup>	31.4±2.5 <sup>c</sup>	9.0±0.4 <sup>bc</sup>	35.5±2.2 <sup>f</sup>	36.6±1.0 <sup>d</sup>	10.5±1.0 <sup>cd</sup>	14.1±1.0 <sup>d</sup>	193.8±5.0 <sup>cde</sup>
110°C - 270 m	25.1±1.0 <sup>j</sup>	20.0±0.2 <sup>g</sup>	26.8±0.6 <sup>de</sup>	6.5±0.3 <sup>e</sup>	26.1±0.6 <sup>h</sup>	47.7±0.7 <sup>b</sup>	14.0±0.4 <sup>b</sup>	18.9±0.8 <sup>b</sup>	185.4±1.5 <sup>f</sup>
120°C - 60 m	40.2±2.1 <sup>e</sup>	27.2±0.4 <sup>e</sup>	28.5±1.4 <sup>d</sup>	9.1±0.3 <sup>bc</sup>	43.0±2.1 <sup>cd</sup>	22.6±1.6 <sup>g</sup>	8.4±0.7 <sup>e</sup>	10.8±0.3 <sup>f</sup>	190.2±2.8 <sup>def</sup>
120°C - 150 m	28.9±2.2 <sup>h</sup>	26.3±1.9 <sup>e</sup>	25.5±1.2 <sup>e</sup>	8.7±0.7 <sup>c</sup>	30.6±2.3 <sup>g</sup>	41.6±0.8 <sup>c</sup>	11.4±0.7 <sup>c</sup>	17.4±0.6 <sup>c</sup>	190.7±2.0 <sup>def</sup>
120°C - 210 m	24.7±0.5 <sup>i</sup>	14.6±0.4 <sup>i</sup>	13.7±0.6 <sup>f</sup>	3.1±0.0 <sup>f</sup>	30.2±0.8 <sup>g</sup>	54.2±0.3 <sup>a</sup>	18.7±0.4 <sup>a</sup>	28.9±0.7 <sup>a</sup>	188.4±2.8 <sup>ef</sup>
120°C - 270 m	14.9±0.9 <sup>j</sup>	17.5±1.2 <sup>h</sup>	14.3±0.5 <sup>f</sup>	2.7±0.3 <sup>f</sup>	16.3±1.4 <sup>i</sup>	27.7±0.5 <sup>e</sup>	7.2±0.3 <sup>f</sup>	11.6±0.4 <sup>ef</sup>	112.7±2.2 <sup>g</sup>

Each value is mean ± standard deviation of nine replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT, p < 0.05). <sup>1)</sup>CON; control (non-steam treatment), <sup>2)</sup>N.D.; not detected.

**Table 6.** The comparison of ginsenoside contents and pH value to lactic acid bacteria (concentration) treatment in cultured wild ginseng adventitious roots of methyl jasmonate treatments.

Treatment group	pH value	Ginsenoside contents (mg/g)									
		Major					Minor			Total	
		Rb1	Rc	Rb2	Rb3	Rd	Rg3	Rk1	Rg5		
CON <sup>1)</sup>	5.68±0.05 <sup>ab*</sup>	48.9±0.7 <sup>a</sup>	36.5±0.2 <sup>a</sup>	39±0.6 <sup>a</sup>	9.8±0.6 <sup>a</sup>	55.6±0.5 <sup>a</sup>	N.D.	N.D.	N.D. <sup>2)</sup>	189.9±2.5 <sup>a</sup>	
Steam treatment	5.71±0.04 <sup>a</sup>	25.0±0.5 <sup>b</sup>	15.7±0.3 <sup>b</sup>	18.5±0.9 <sup>b</sup>	4.6±2.1 <sup>b</sup>	32.1±0.7 <sup>b</sup>	49.4±0.7 <sup>c</sup>	17.0±0.3 <sup>d</sup>	24.4±0.2 <sup>cd</sup>	187.2±5.2 <sup>a</sup>	
Steam + lactic acid bacteria (ppm)	25,000 <sup>3)</sup>	5.10±0.01 <sup>g</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	15.9±1.8 <sup>e</sup>	4.9±0.1 <sup>g</sup>	7.8±0.2 <sup>f</sup>	28.7±2.1 <sup>e</sup>
	12,500	5.37±0.00 <sup>f</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	25.5±0.1 <sup>d</sup>	9.3±0.1 <sup>f</sup>	13.8±0.4 <sup>e</sup>	48.7±0.6 <sup>d</sup>
	6,250	5.51±0.03 <sup>e</sup>	1.5±0.0 <sup>e</sup>	0.9±0.0 <sup>f</sup>	1.0±0.0 <sup>f</sup>	0.5±0.0 <sup>cd</sup>	2.7±0.1 <sup>h</sup>	27.2±0.6 <sup>d</sup>	9.8±0.1 <sup>f</sup>	14.2±0.3 <sup>e</sup>	58.0±1.5 <sup>c</sup>
	5,000	5.54±0.01 <sup>de</sup>	6.6±0.3 <sup>d</sup>	4.0±0.1 <sup>ae</sup>	4.6±0.1 <sup>e</sup>	2.1±0.0 <sup>d</sup>	11.1±0.2 <sup>g</sup>	53.4±0.7 <sup>b</sup>	18.8±0.1 <sup>b</sup>	27.4±0.4 <sup>b</sup>	128.3±0.5 <sup>b</sup>
	4,166	5.57±0.02 <sup>cd</sup>	8.1±0.1 <sup>d</sup>	5.1±0.1 <sup>de</sup>	6.3±0.5 <sup>d</sup>	1.2±0.7 <sup>cd</sup>	12.6±0.3 <sup>f</sup>	51.5±1.2 <sup>bc</sup>	18.0±0.3 <sup>c</sup>	26.1±0.5 <sup>bc</sup>	129.3±2.5 <sup>b</sup>
	3,571	5.57±0.00 <sup>cd</sup>	9.3±0.3 <sup>d</sup>	5.8±0.3 <sup>d</sup>	6.7±0.2 <sup>d</sup>	0.4±0 <sup>cd</sup>	14.1±0.3 <sup>e</sup>	51.2±0.2 <sup>c</sup>	17.9±0 <sup>c</sup>	25.7±0.1 <sup>bc</sup>	131.5±1.7 <sup>b</sup>
	3,125	5.59±0.00 <sup>c</sup>	13.9±0.4 <sup>c</sup>	7.8±0.6 <sup>c</sup>	10.1±0.6 <sup>c</sup>	4.5±0.5 <sup>b</sup>	18.0±0.9 <sup>d</sup>	70.8±1.6 <sup>a</sup>	25.4±0.4 <sup>a</sup>	36.9±0.9 <sup>a</sup>	187.8±5.3 <sup>a</sup>
2,777	5.66±0.00 <sup>b</sup>	27.6±6.8 <sup>b</sup>	15.2±3.0 <sup>b</sup>	19.3±2.3 <sup>b</sup>	5.7±1.9 <sup>b</sup>	27.3±1.3 <sup>c</sup>	49.6±2.1 <sup>c</sup>	16.3±1.1 <sup>e</sup>	23.1±2.7 <sup>d</sup>	184.4±3.0 <sup>a</sup>	

\*Each value is means ± standard deviation of three replicate tests. \*Means within a column followed by the same letter are not significantly different based on the Duncan's Multiple Range Test (DMRT,  $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>CON; control (non-steam treatment), <sup>2)</sup>N.D.; not detected. <sup>3)</sup>Lactic acid bacteria concentrations.

하고, 총 진세노사이드 (Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd의 합)를 최대 증진시킬 수 있는 elicitor 물질 methyl jasmonate의 처리조건을 확인하였다. 이후, 저분자 진세노사이드 (Rg3, Rk1, Rg5의 합)를 변환시킬 수 있는 조건시험 (증숙, 발효)을 통해 최대 131 mg/g의 함량을 나타내는 진세노사이드 변환공정 연구결과를 도출하였다.

## REFERENCES

**Aboobucker SI and Suza WP.** (2019). Why do plants convert sitosterol to stigmasterol?. *Frontiers in Plant Science*. 10:354. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00354/full> (cited by 2020 Aug 11).

**An KS, Choi YO, Lee SM, Ryu HY, Kang SJ, Yeon Y, Kim YR, Lee JG, Kim CJ, Lee YJ, Kang BJ, Choi JE and Song KS.** (2019). Ginsenosides Rg5 and Rk1 enriched cultured wild ginseng root extract bioconversion of *pediococcus pentosaceus* HLJG0702: Effect on scopolamine-induced memory dysfunction in mice. *Nutrients*. 11:1120. <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/5/1120/htm> (cited by 2020 July 4).

**Bacete L, Mélida H, Miedes E and Molina A.** (2018). Plant cell wall-mediated immunity: Cell wall changes trigger disease resistance responses. *Plant Journal*. 93:614-636.

**Banerjee A and Sharkey TD.** (2014). Methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway metabolic regulation. *Natural Product Reports*. 31:1043-1098.

**Boughton B, MacKenna RMB, Wheatley VR and Wormall A.** (1957). Studies of sebum. 8. observations on the squalene and cholesterol content and the possible functions of squalene in human sebum. *Biochemical Journal*. 66:32-38.

**Chappell J.** (1995). *Biochemistry and molecular biology of the*

*isoprenoid biosynthetic pathway in plants.* *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 46:521-547.

**Chen J, Si M, Wang Y, Liu L, Zhang Y, Zhou A and Wei W.** (2019). Ginsenoside metabolite compound K exerts anti-inflammatory and analgesic effects via downregulating COX<sub>2</sub>. *Inflammopharmacology*. 27:157-166.

**Chen XJ, Liu WJ, Wen ML, Liang H, Wu SM, Zhu YZ, Zhao JY, Dong XQ, Li MG, Bian L, Zou CG and Ma LQ.** (2017). Ameliorative effects of compound K and ginsenoside Rh1 on non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Scientific Reports*. 7:41144. <https://www.nature.com/articles/srep41144> (cited by 2020 June 23).

**Cho MS, Ku BS and Park SG.** (2012). Effect of light emitting diodes and cytokinin on *in vitro* growth and development of gerbera hybrida. *Flower Research Journal*. 20:7-15.

**Choi WY, Lim HW, Choi GP and Lee HY.** (2014). Enhancement of ginsenosides conversion yield by steaming and fermentation process in low quality fresh ginseng. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 22:223-230.

**Efferth T.** (2019). Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*. 5:50-59.

**Han JY, Hwang HS, Choi SW, Kim HJ and Choi YE.** (2012). Cytochrome P450 CYP716A53v2 catalyzes the formation of protopanaxatriol from protopanaxadiol during ginsenoside biosynthesis in *Panax ginseng*. *Plant and Cell Physiology*. 53:1535-1545.

**Han MH and Moon GS.** (2019). Bioconversion of ginseng using microorganisms. *Journal of Biotechnology and Bioindustry*. 7:5-11.

**Jang IB, Moon JW, Yu J, Jang IB, Suh SJ and Chun CH.** (2019). Analysis of microclimate responses and high-temperature injury in ginseng as affected by shading. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:278-283.



- Kim HJ, Jung SW, Kim SY, Cho IH, Kim HC, Rhim HW, Kim MH and Nah SY.** (2018). *Panax ginseng* as an adjuvant treatment for alzheimer's disease. *Journal of Ginseng Research*. 42:401-411.
- Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK, Kim CK and Park JH.** (2000). Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *Journal of Natural Products*. 12:1702-1704.
- Lee BB, Sur BJ, Park JH, Kim SH, Kwon SO, Yeom MJ, Shim IS, Lee HJ and Hahm DH.** (2013a). Ginsenoside Rg3 alleviates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairments by anti-inflammatory activity in rats. *Biomolecules and Therapeutics*. 21:381-390.
- Lee DY, Kim JK, Shrestha S, Seo KH, Lee YH, Noh HJ, Kim GS, Kim YB, Kim SY and Baek NI.** (2013b). Quality evaluation of *panax ginseng* roots using a rapid resolution LC-QTOF/MS-based metabolomics approach. *Molecules*. 18:14849-14861.
- Lee KH, Bae IY, Park SI, Park JD and Lee HG.** (2016). Antihypertensive effect of korean red ginseng by enrichment of ginsenoside Rg3 and arginine-fructose. *Journal of Ginseng Research*. 40:237-244.
- Lee YJ, Kim HK, Go EJ, Choi JH, Jo AR, Kim CJ, Lee JG, Lim JD, Choi SK and Yu CY.** (2018). Extraction of low molecular weight ginsenosides from adventitious roots culture of wild mountain ginseng by steam processing. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 26:148-156.
- Liang WX, Wang SH, Yao L, Wang J and Gao WY.** (2019). Quality evaluation of *Panax ginseng* adventitious roots based on ginsenoside constituents, functional genes, and ferric-reducing antioxidant power. *Journal of Food Biochemistry*. 43:e12901. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfbc.12901> (cited by 2020 July 2).
- Liu T, Peng Y, Jia C, Yang B, Tao X, Li J and Fang X.** (2015). Ginsenoside Rg3 improves erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of Sexual Medicine*. 12:611-620.
- Marsik P, Langhansova L, Dvorakova M, Cigler P, Hruby M and Vanek T.** (2014). Increased ginsenosides production by elicitation of *in vitro* cultivated *panax ginseng* adventitious roots. *Medicinal and Aromatic Plants*. 3:1. [https://www.researchgate.net/publication/298212525\\_Increased\\_Ginsenosides\\_Production\\_by\\_Elicitation\\_of\\_In\\_vitro\\_Cultivated\\_Panax\\_Ginseng\\_Adventitious\\_Roots](https://www.researchgate.net/publication/298212525_Increased_Ginsenosides_Production_by_Elicitation_of_In_vitro_Cultivated_Panax_Ginseng_Adventitious_Roots) (cited by 2020 June 23).
- McDowell JM and Woffenden BJ.** (2003). Plant disease resistance genes: Recent insights and potential applications. *Trends in Biotechnology*. 21:178-183.
- Ochoa-Villarreal M, Howat S, Hong SM, Jang MO, Jin YW, Lee EK and Loake GJ.** (2016). Plant cell culture strategies for the production of natural products. *BMB Reports*. 49:149-158.
- Park EH, Kim YJ, Yamabe N, Park SH, Kim HK, Jang HJ, Kim JH, Cheon GJ, Ham JY and Kang KS.** (2014). Stereospecific anticancer effects of ginsenoside Rg3 epimers isolated from heat-processed American ginseng on human gastric cancer cell. *Journal of Ginseng Research*. 38:22-27.
- Park H.** (2019). The role of gut microbiota in ginsenoside metabolism and biotransformation of ginsenoside by lactic acid bacteria. *Current Topics in Lactic Acid Bacteria and Probiotics*. 5:1-12. [https://www.elabp.org/archive/view\\_article?pid=labp-5-1-1](https://www.elabp.org/archive/view_article?pid=labp-5-1-1) (cited by 2020 May 21).
- Park SJ, Yoo SM and Kim YE.** (2012). Nutritional characteristics and screening of biological activity of cultured wild ginseng roots. *Korean Journal of Food and Nutrition*. 25:729-736.
- Pollier J, Moses T, González-Guzmán M, Geyter ND, Lippens S, Bossche RV, Marhavý P, Kremer A, Morreel K, Guérin CJ, Tava A, Oleszek W, Thevelein JM, Campos N, Goormachtig S and Goossens A.** (2013). The protein quality control system manages plant defence compound synthesis. *Nature*. 504:148-152.
- Ramirez-Estrada K, Vidal-Limon H, Hidalgo D, Moyano E, Goleniowski M, Cusidó RM and Palazon J.** (2016). Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories. *Molecules*. 21:182. <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/2/182> (cited by 2020 July 7).
- Santner A and Estelle M.** (2009). Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature*. 459:1071-1079.
- Seo BY, Choi MJ, Kim JS and Park EJ.** (2019). Comparative analysis of ginsenoside profiles: Antioxidant, antiproliferative, and antigenotoxic activities of ginseng extracts of fine and main roots. *Preventive Nutrition and Food Science*. 24:128-135.
- Shin SW, Lee JA, Son DH, Park DH and Jung ES.** (2017). Anti-skin-aging activity of a standardized extract from *Panax ginseng* leaves *in vitro* and in human volunteer. *Cosmetics*. 4:18. <https://www.mdpi.com/2079-9284/4/2/18> (cited by 2020 Sep 2).
- Siddiqi MH, Siddiqi MZ, Ahn SG, Kang SR, Kim YJ, Veerappan K, Yang DU and Yang DC.** (2014). Stimulative effect of ginsenosides Rg5:Rk1 on murine osteoblastic MC3T3-E1 cell. *Phytotherapy Research*. 28:1447-1455.
- Song SW, Yang DC and Chung SY.** (2005). Acute oral toxicity of adventitious roots extract derived from wild ginseng in beagle dogs. *Toxicological Research*. 21:51-55.
- Ugglä C, Moritz T, Sandberg G and Sundberg B.** (1996). Auxin as a positional signal in pattern formation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93:9282-9286.
- Wang J, Lil J, Li J, Liu S, Wu X, Lil J and Gao W.** (2016). Transcriptome profiling shows gene regulation patterns in ginsenoside pathway in response to methyl jasmonate in *Panax Quinquefolium* adventitious root. 6:37263. <https://www.nature.com/articles/srep37263> (cited by 2020 Sep 2).
- Wang Y, Wang N, Xu H, Jiang S, Fang H, Su M, Zhang Z, Zhang T and Chen X.** (2018). Auxin regulates anthocyanin biosynthesis through the Aux/IAA-ARF signaling pathway in apple. *Horticulture Research*. 5:59. <https://www.nature.com/articles/s41438-018-0068-4> (cited by 2020 Sep 2).
- Wu X, Fan M, Li X, Piao X, Gao R and Lian M.** (2020). Involvement of putrescine, nitric oxide, and hydrogen peroxide in methyl jasmonate-induced ginsenoside synthesis in adventitious root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Journal of Plant Growth Regulation*. 16:10-20.
- Xu X, Gao Y, Xu S, Liu H, Xue X, Zhang Y, Zhang H, Liu M, Xiong H, Lin R and Li X.** (2018). Remarkable impact of

- steam temperature on ginsenosides transformation from fresh ginseng to red ginseng. *Journal of Ginseng Research*. 42:277-287.
- Yang J, Hu Z, Zhang T, Gu A, Gong T and Zhu P.** (2018). Progress on the studies of the key enzymes of ginsenoside biosynthesis. *Molecules*. 23:589. <https://doi.org/10.3390/molecules23030589> (cited by 2020 Sep 2).
- Yeo HB, Yoon HK, Lee HJ, Kang SG, Jung KY and Kim L.** (2012). Effects of korean red ginseng on cognitive and motor function: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Ginseng Research*. 36:190-197.
- Yu J, Jang IB, Moon JW, Jang IB, Lee SW and Suh SJ.** (2019). Physicochemical characteristics of a 4-year-old ginseng based on steaming temperatures and times. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 27:86-95.
- Zhou P, Xie W, He S, Sun Y, Meng X, Sun G and Sun X.** (2019). Ginsenoside Rb1 as an anti-diabetic agent and its underlying mechanism analysis. *Cells*. 8:204. <https://www.mdpi.com/2073-4409/8/3/204> (cited by 2020 Sep 2).