

Ginsenoside Rb1을 전환시키는 β -glucosidase 효소생성 균주의 분리 및 동정

이연진, 성락금, 이준원, 김호빈, 양덕춘*
경희대학교 생명과학대학, 한방재료가공학과

Isolation and Identification of β -Glucosidase-Producing Bacteria Converting Ginsenoside Rb1

Youn-Jin Lee, Le-Qin Cheng, Ho-Bin Kim, Jun-Won Lee, Deok-Chun Yang*
College of Life Science & Center for Oriental Medicinal Materials and
Processing, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea.

ABSTRACT

인삼은 주요활성성분이 인삼사포닌 계열과, polyacetylene, polyphenol, 산성다당체 등이 보고되어 있다. 특히 인삼 saponin은 현재 38종이 보고되어 있으며, 각각 고유의 약리적 기능을 가지고 있다. 인삼사포닌 즉 ginsenoside는 Rb1과 Rg1이 주류를 이루고 있지만 소량 혹은 극미량 함유되어있는 ginsenoside에서 약리적 활성이 더 강화된 보고가 많이 있다. 따라서 우수한 약리작용의 특성을 가진 소량의 ginsenoside의 함량 비율을 증가시킬 수 있는 방법이 요구되고 있다. 즉 ginsenoside Rb₁을 C-20 위치에 β -1,6 결합된 두 분자의 포도당 중 1분자의 포도당을 가수분해함으로써 ginsenoside Rd로 선택적으로 전환시킬 수 있는 것으로 알려져왔으며, 기존의 처리방법인 열처리 또는 산처리 등의 가공처리에 의해서 β -1,6 이 분해되는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 이러한 방법은 일부 사포닌 및 당류, 폴리페놀 등의 약리적 기능성이 열 및 산에 의해 분해되어 일부의 약리작용을 상실하게 되어 목적으로하는 약리작용에 변화를 줄 수 있는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험은 사포닌 또는 다당체등에 영향을 미치지 아니하며, ginsenoside Rb1만을 선택적으로 분해작용하는 효소를 생성하는 균주를 인삼밭으로부터 Esculin Agar법을 이용하여 β -glucosidase를 생산하는 균주를 분리하였다. 실험에 사용된 인삼밭 시료는 polyethylene vinyl bag에 넣은 후 실험실로 운반하였다. 시료는 4°C에서 보존하면서 6시간 이내에 실험하였다. 정제된 Ginsenoside Rb1을 증류수에 100mM 농도로 녹인후 0.2 μ m filter 로 걸러 멸균하여 준비하였다. 선발된 균주는 균주 성장속도에 따라 1일~5일 배양 후, 배양액 200 μ l와 Rb1용액 200 μ l를 혼합하여 30°C Shaking incubator에서 최소 48h동안 현탁 배양하였다. 반응 48h후 수포화 부탄올을 이용하여 반응액을 2회 세척하여 Ginsenoside를 추출 농축하여 다시 MeOH로 용해후 TLC로 분석하였다. TLC 분석결과 주목할 만한 처리구만 따로 HPLC를 이용하여 분석하였다.