

## 人蔘 Saponin이 *Rhodotorula glutinis*의 脂肪酸 組成에 미치는 영향

이시경\* · 주현규

건국대학교 농과대학 농화학과

\*두산연구소 발효연구실

(1985년 6월 8일 수리)

## Effect of ginseng Saponin on the fatty acid composition of the lipids of *Rhodotorula glutinis*.

Si Kyung Lee\*, Hyun Kyu Joo

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,  
Konkuk University, Seoul, 133, Korea

\*Doo San Research Laboratory, Fermentation Department.

(Received June 8, 1985)

This study was attempted to observe the effect of crude ginseng saponin on the cell growth, lipid contents of *Rhodotolula glutinis* cells and fatty acid composition of the lipids from the yeast. The results obtained were as follows; The weight of dry yeast cells was increased by the addition of ginseng saponin and was noticeably increased in the treatment containing 10<sup>-2</sup>% ginseng saponin. With the increase of ginseng saponin concentration, lipids contents in *Rhodotorula glutinis* were increased but it's contents were decreased at the concentration of 10<sup>-1</sup>% ginseng saponin. The crude lipids of *Rhodotorula glutinis* were identified to be composed of palmitic, stearic, oleic, linoleic acid. Unsaturated fatty acid contents were greater than those of saturated fatty acids. Fatty acid contents were increased in the order of oleic, linoleic, palmitic and stearic acid, but palmitic acid was increased more than linoleic acid in the lipids of cells obtained at the higher than 10<sup>-2</sup>% ginseng saponin.

As the ginseng saponin concentration was increased fatty acid contents were also increased, while they were considerably decreased in case of the addition of 10<sup>-1</sup>% ginseng saponin concentration.

微生物은 單細胞蛋白質, 抗生物質, 酵素 및 기타 有用物質의 生産等に 多樣하게 利用되고 있으며 世界 二次大戰 以後에는 細菌, 酵母 및 곰팡이등을 利用하여 菌體脂肪을 生産하는 많은 研究<sup>(1)</sup>가 進行되었다. 微生物이 生産하는 脂肪質의 構成은 一般的으로 同一하지 않으며 特히 菌種과 培養條件에 따라서 많은 差異가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>(2)</sup>

Steinberg等<sup>(3)</sup>과 朴<sup>(4)</sup>은 *Rhodotorula*屬에 關한 研究에서 pH, 溫度, 糖濃도에 따라 脂肪生成量이 다름을 밝혔으며, Hartman等<sup>(5)</sup>은 菌體脂肪酸 組成을 밝혔고, Ralph等<sup>(7)</sup>은 酸素量과 Glucose量이 酵

母의 脂肪組成에 미치는 效果를 報告하였다. 한편, Allen等<sup>(6)</sup>과 Rhee等<sup>(8)</sup>은 菌體脂肪生成에 미치는 要因中 pH, 炭素源, 窒素源等に 對하여 報告한 바 있다.

이와같이 培養條件에 따라 菌體脂肪生成 및 脂肪酸의 組成은 매우 다르므로 人蔘成分의 添加에도 菌體脂肪生成이 크게 影響을 받을 것으로 기대되는바 이에 關한 研究은 아직 이루어져 있지 않다. 따라서 本 研究에서는 毒成이 없고 菌體內에 油脂含量이 比較的 많은 것으로 알려진 *Rhodotorula glutinis*의 배지중에 人蔘 Saponin을 添加하였을 때 菌體脂肪

生合成 및 脂肪酸 組成에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

材料

1) 供試人蔘 및 菌株

供試人蔘은 錦山産 五年根이었고 供試菌株는 韓國種菌協會(K. F. C. C.)에서 分讓받은 *Rhodotorula glutinis* I. F. O 0667, K. F. C. C. 32391이었다.

2) 試藥

脂肪酸 標準試藥은 東京化成(Tokyo Kasel Japan) 特級試藥이었으며 脂肪酸의 methylation用 12.5% Boron trifluoride methanol용액은 PIERCE Co. 제품이고 그의 溶媒(ethyl alcohol, ethyl ether, acetone, benzene, chloroform)는 Merck製(Merck Co. Germany) 一級을 使用하였다.

方法

1) 人蔘 Saponin의 抽出

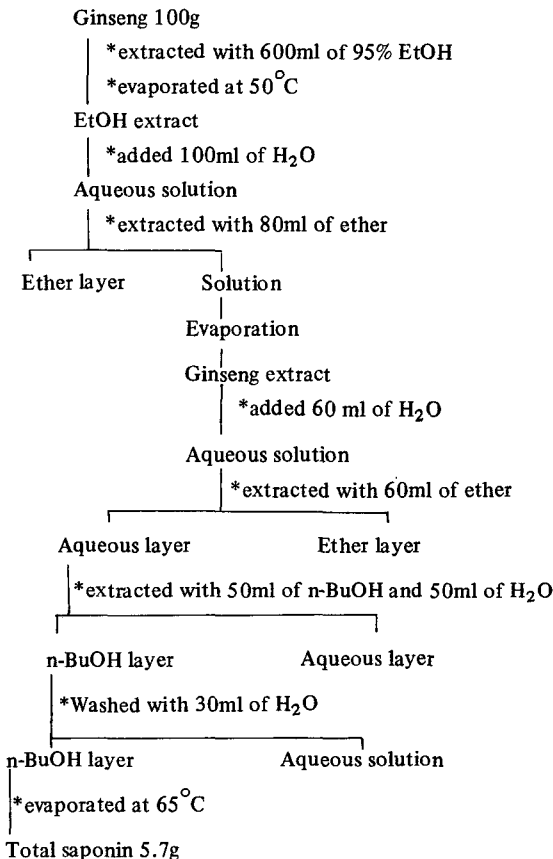


Fig. 1 Extraction procedure of total saponin from ginseng.

Table 1. Composition of culture media

|                                       |         |
|---------------------------------------|---------|
| Glucose                               | 40g     |
| Malt extract                          | 10g     |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 2g      |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O | 0.2g    |
| Distilled Water                       | 1,000ml |
| pH                                    | 6.0     |

Shibata等<sup>(10)</sup>의 Saponin추출방법에 準하여 Fig. 1과 같이 추출, 減壓濃縮하여 Total Saponin(5.7g)을 얻었다.

2) 各 試驗區의 배지조제 및 배양

Table 1과 같이 조제된 기본배지에 인삼 Saponin을 各各 0, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-1</sup>%되게 첨가하여, S<sub>0</sub>區(대조구), S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> 및 S<sub>4</sub>區의 處理區로 하였다. 各 처리구의 배지 50ml씩을 취하여 300ml용 삼각플라스크에 넣고 1.5kg/cm<sup>2</sup>에서 15분간 가압살균한 다음 菌株 1백균이를 접종하여 30°C에서 8일간 진탕배양(120r.p.m. 振幅 5cm)하였다.

3) 乾燥 菌体量 測定

8日間 培養을 끝낸 各 처리구의 培養液 50ml를 3,000r.p.m으로 20분간 遠心分離하여 上澄液을 버리고 菌体殘渣를 生理食鹽水로 2回, 無菌水로 1回 세척 濾過하고 105°C에서 2시간 건조한 後 秤量하여 乾燥菌体量으로 하였다.

4) *Rhodotorula glutinis*의 生育度 測定

各 處理區의 배양액 10ml를 遠心分離(3,000r.p.m 20min.)한 後 증류수로 1回 세척한 다음 증류수 10ml에 懸濁시켜 660nm에서의 흡광도를 측정하였다.

5) 菌体の 精製 및 回收

배양액을 20분간 원심분리(3,000 r.p.m)하여 菌체를 분리한 후 Fig. 2의 방법에 따라 精製하였다. 이를 동결건조기에서 건조(-50°C)시켜 脂肪抽出用 시료로 使用하였다.

6) 脂質의 抽出

乾燥菌体 1g을 motar로 磨碎한 後 Soxhlet장치를 利用하여 ether로 15時間 抽出하였다. 一次 抽出한 菌体시료를 50ml의 1N-HCl 용액으로 100°C에서 2시간 加水分解시켜 건조한 후 위와 같은 방법으로 二次抽出하여 조지방으로 하였다.

7) 油脂의 精製

조지방 100mg을 취해 Folch等<sup>(11)</sup>의 方法에 따라

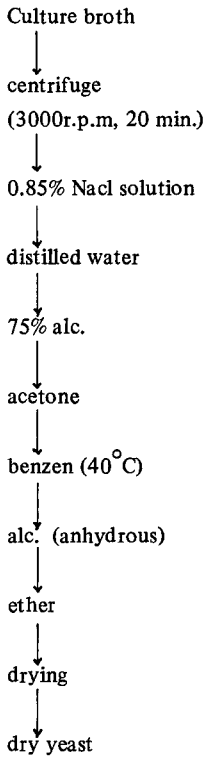


Fig. 2. Purifying process of yeast cells

정제하여 지방산 분석시료로 하였다.

8) 菌体脂質의 脂肪酸分析

精製된 油脂를 5 ml의 알코올性 0.5N-NaOH 溶液 (Alcoholic sodium hydroxide)으로 鹼化시킨 後 N<sub>2</sub> 기체로 알코올을 除去하였다. 그 후 殘渣를 蒸溜水 8 ml에 溶解시킨 다음 0.1N-HCl 溶液으로 pH 2가 되게 調節하고 遊離된 脂肪酸을 ether로 抽出하였다. 이를 N<sub>2</sub>기체하에서 蒸發濃縮시켜 ether를 除去

Table 2. Operating conditions for Gas Chromatography

|                           |  |
|---------------------------|--|
| Instrument                | Hewlette parkard 5840A G.C<br>Model 5840A G.C Terminal     |
| Detector                  | Flame Ionization Detector                                  |
| Column                    | 10% Silar 10c 100/200 WHP<br>(1.8m 6mm O.D, 2mm I.D glass) |
| Injector temp.            | 230°C  |
| Detector temp.            | 250°C  |
| Column oven temp.         | 150 - 230°C  |
| Programmed rate           | 8°C/min  |
| Carrier gas and flow rate | N <sub>2</sub> gas, 30ml/min                               |

하였다. 이렇게 하여 抽出한 脂肪酸에 12.5% Bo-ron trifluoride methanol 2 ml를 넣고 끓는 water bath 上에서 45분간 methylation 시킨다음 iso-octane 4 ml를 가하여 Table 2와 같은 조건하에서 지방산 조성을 Gas chromatography로 분석하였다. 이때 injection volume은 3 μl 이었다.

結果 및 考察

人蔘 Saponin이 菌体量增殖에 미치는 影響

人蔘 Saponin의 添加量을 달리한 培地에서 培養한 *Rhodotorula glutinis*의 菌体量은 Fig. 3과 같다.

S<sub>1</sub> (10<sup>-4</sup>%)区的 菌체량은 대조구에 비하여 1.2배, S<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup>%)区는 1.6배나 증가하였으며 특히 S<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>%)区는 2.1배로 현저한 菌체증식 효과를 보였다. 그러나 S<sub>4</sub> (10<sup>-1</sup>%)区에서는 S<sub>2</sub>区 및 S<sub>3</sub>区보다 현저하게 감소되어 대조구와 거의 같은 수준이었다.

또한, 人蔘 Saponin 함량변화에 따른 菌체량 증가경향은 흡광도와 일치하고 있어 人蔘 Saponin의 농도가 10<sup>-3</sup>~10<sup>-2</sup>% 일때 *Rhod. glutinis*의 菌체증가량이 가장 많았고 10<sup>-1</sup>% 이상의 농도에서는 오히려 억제되는 경향을 보였다.

朴等<sup>(12)</sup>은 *Saccharomyces uvarum*를 이용한 실험에서 人蔘 extract 5% 첨가구가 대조구에 비해 乾燥酵母重量이 약 3배나 되었으나 10<sup>-1</sup>% 이상의 人蔘 Saponin 첨가구에서는 효모의 菌체증가가 없었다고 보고하였다. 또한 하<sup>(13)</sup>는 人蔘 Saponin을 Brain Heart Infusion (B. H. I) broth에 첨가했을때 *E. coli*의 증식은 Saponin 농도 10<sup>-3</sup>%와 10<sup>-2</sup>%에서

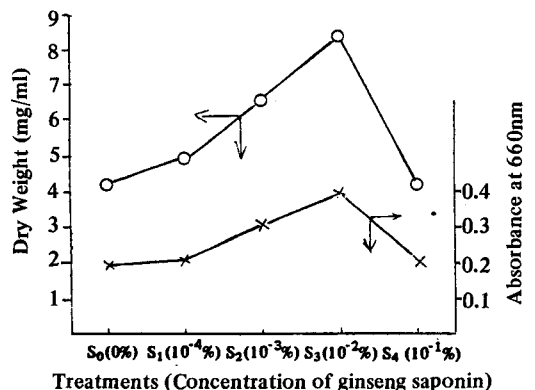


Fig. 3 Effect of ginseng saponin on the growth of *Rhod. glutinis*.

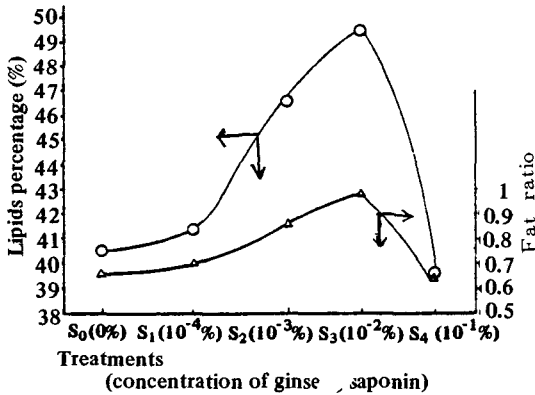


Fig. 4 Lipid percentage and fat ratio of the yeast cells grown in the various treatments containing different ginseng saponin concentrations.

급증했으며, 10<sup>-1</sup>%에서는 증식이 오히려 억제되었다고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과와 매우 유사하였다.

以上の 결과로 人蔘 Saponin의 少量은 효모의 증식을 촉진하나 어느 일정농도 이상에서는 효모의 증식이 억제되는 경향이 현저하였다.

人蔘 Saponin이 脂肪生成에 미치는 影響

各 处理区別로 培養한 *Rhodotorula glutinis*의 粗脂肪含量은 Fig. 4와 같다. 菌體의 粗脂肪含量은 对照区에서 40.5%를 나타내고, 人蔘 Saponin含量이 增加됨에 따라 S<sub>1</sub>区에서 41.2%, S<sub>2</sub>区에서 46.7%, S<sub>3</sub>区에서 49.8%로 增加하는 傾向을 보였으나, S<sub>4</sub>区에서는 39.8%로 減少되어 菌體中 粗脂肪含量의 순위는 S<sub>3</sub> > S<sub>2</sub> > S<sub>1</sub> > S<sub>0</sub> > S<sub>4</sub>이었다. 이와같은 결과를 菌體의 Fat ratio (지방/非脂肪)로 표시했을 경우 S<sub>3</sub>区가 0.99로 가장 높았다. 各 처리구의 粗脂肪含量은 S<sub>4</sub>区를 제외하고 대조구보다 많았으며, 人蔘 Saponin 처리구중 S<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>%)区는 대조구의 1.2배로 가장 많은 증가를 보였다. Joo等<sup>(14)</sup>과 하<sup>(15)</sup>는 기본 배지에 人蔘 Saponin을 첨가했을때 *E. coli*의 菌體脂肪生成은 人蔘 Saponin 농도가 增加함에 따라 促進되었으며, 특히 10<sup>-2</sup>% 添加区에서 가장 높은 脂質含量을 보였고, 10<sup>-1</sup>% 添加区에서는 脂肪生成이 阻害되었다고 報告하였는데 이는 本 實驗의 結果와 類似한 傾向이었다.

以上の 結果로써 菌體粗脂肪含量의 增加는 *Rhod. glutinis*의 乾燥菌體量增加와 類似한 傾向을 보였으며, 人蔘 Saponin의 濃도가 10<sup>-2</sup>%까지 增加함에 따라 菌體중의 粗脂肪含量도 增加하였으나 10<sup>-1</sup>%

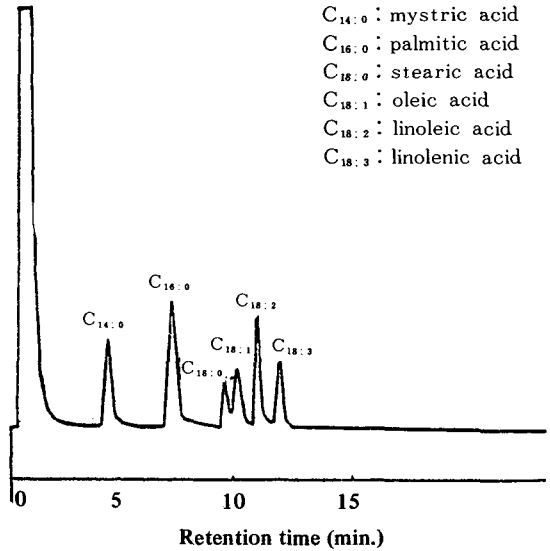


Fig. 5 Gas chromatogram of methyl esters of standard fatty acids.

에서는 菌體量의 減少와 함께 菌體의 粗脂肪含量도 비례해서 減少되었다.

人蔘 Saponin이 菌體 지방산 組成에 미치는 영향 菌體 지방산의 methyl ester를 Gas Chromatography로 분석하기 위한 표준지방산의 Chromatogram은 Fig. 5와 같고, 같은 조건으로 기본배지 (대조구)에서 배양한 菌體의 지방산 Chromatogram은 Fig. 6과 같다.

Fig. 6에서와 같이 对照区(S<sub>0</sub>)에서는 總 5種의 peak가 檢出되었으며 各 peak는 palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acid로 確認되었다. 各 脂肪

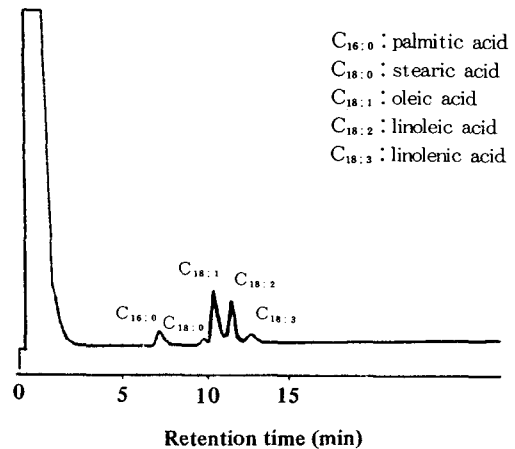


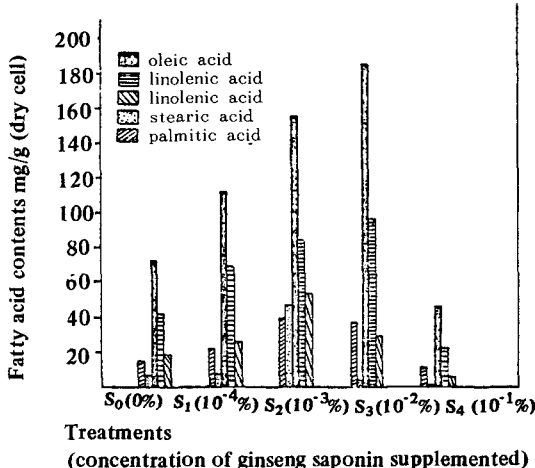
Fig. 6 Gas chromatogram of methyl esters of fatty acids from crude lipids in *Rhod. giutinis*.

**Table 3. Fatty acid composition of crude lipids in *Rhod. glutinis*.**

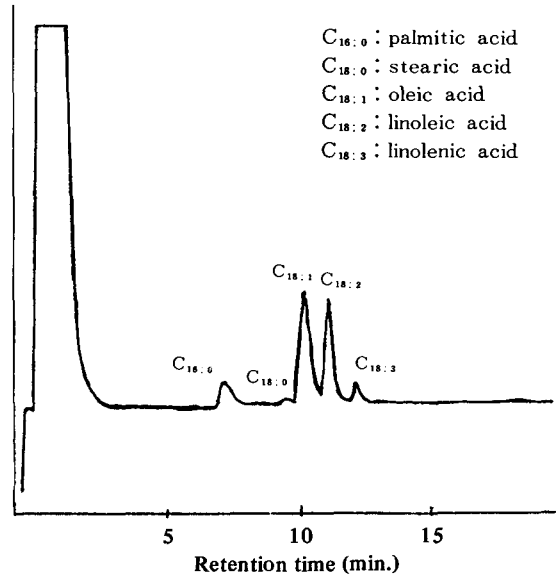
|                               | (mg/g dry cell) |
|-------------------------------|-----------------|
| Palmitic                      | 18.2            |
| Stearic                       | 8.7             |
| Total saturated fatty acids   | 26.9            |
| Oleic                         | 74.1            |
| Linoleic                      | 40.9            |
| Linolenic                     | 18.6            |
| Total unsaturated fatty acids | 133.6           |

酸的 含量을 chromatogram의 peak area값으로 測定한 結果 Table 3 과 같이 이들 脂肪酸의 含量은 oleic > linoleic > linolenic > palmitic > stearic acid 의 順으로 많았으며, 特히 不飽和脂肪酸인 oleic acid 가 74.1mg/g으로 다른 지방산보다 33.2~65.4mg/g가 많았고 飽和脂肪酸인 stearic acid는 8.7mg/g으로써 가장 적었다.

以上の 결과로써 *Rhodo. glutinis*의 菌体脂肪酸에 는 oleic acid, linoleic acid 등의 불포화지방산이 포 화지방산에 비해 많이 함유되었고, 필수 지방산인 linoleic acid와 linolenic acid는 각각 40.9 mg/g, 18.6mg/g이 함유된 것으로 나타났다. Thrope等<sup>(1)</sup>은 *Candida sp.*를 사용한 실험에서 균체지방산 함 량은 oleic acid가 가장 많았으며 linoleic > linolenic > palmitic > stearic acid의 순으로 많았다고 보고하 였는데 이는 본 실험의 지방산 조성과 유사한 순위 였다. 그러나 Noble等<sup>(2)</sup>은 *Saccharomyces fragilis*의 지방산함량이 oleic > linoleic > palmitic > linolenic



**Fig. 7 Effect of crude saponin on the fatty acid composition of the crude lipids in *Rhod. glutinis*.**



**Fig. 8 Gas chromatogram of methyl esters of the fatty acids of crude lipids in *Rhod. glutinis* grown in the medium containing 10<sup>-4</sup>% of ginseng saponin.**

>stearic acid 順이라고 보고하였는데 이는 본 실험의 결과와 약간의 차이가 있었다. 또한, 朴<sup>(3)</sup>은 효 모의 세포내 지질의 主脂肪酸은 oleic acid라고 주장하였고 minor fatty acid로서 myristic acid와 palmitoleic acid가 검출되었다고 하였는데 본 실험에서는 oleic acid의 경우는 같은 결과이나 myristic acid와 palmitoleic acid는 검출되지 않았다.

한편, 人蔘 Saponin의 농도에 따른 각 처리구별 菌体脂肪酸 分割은 Fig. 8, 9와 같으며 지방산함 량을 측정된 결과는 Fig. 7 과 같다. 모든 처리구에 서 불포화지방산인 oleic acid의 함량이 가장 높았 으며 人蔘 Saponin 농도가 증가함에 따라 oleic acid의 함량도 증가하였으나 人蔘 Saponin 농도 10<sup>-1</sup> %에서는 감소하는 경향이 현저하였다. S<sub>2</sub> (10<sup>-3</sup>%)区 까지의 지방산함량은 人蔘 Saponin 농도에 관계없 이 oleic > linoleic > linolenic > palmitic > stearic acid 의 順으로 많았으며 이는 대조구의 脂肪酸 組成과 도 유사하였다. 그러나 S<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>%) 및 S<sub>4</sub> (10<sup>-1</sup>%) 区에서는 palmitic acid의 含量이 linolenic acid의 함 량보다 증가하는 경향을 보였다.

한편, 人蔘 Saponin의 濃度가 增加함에 따라 脂 肪酸含量이 증가하고 있으나 S<sub>4</sub> (10<sup>-1</sup>%) 区에서는 減少하는 傾向을 보였다. 그러나 stearic acid와 li- nolenic acid는 S<sub>3</sub> (10<sup>-2</sup>%)区에서부터 減少하였는데

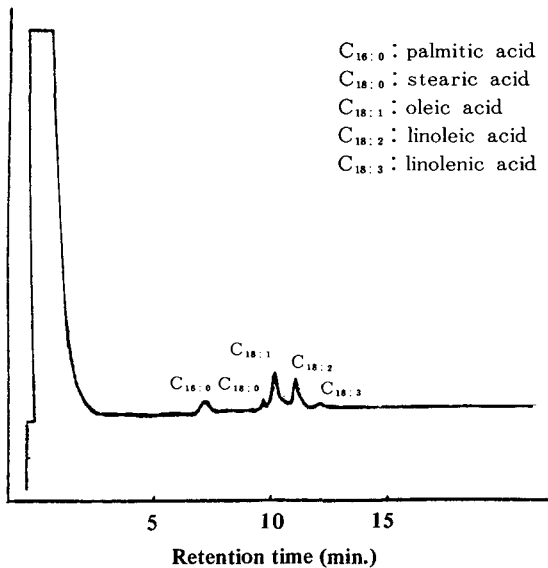


Fig. 9 Gas chromatogram of methyl esters of the fatty acids of crude lipids in *Rhod. glutinis* grown in the medium containing 10% of ginseng saponin.

이러한 결과는 인蔘 Saponin이 일정농도까지는菌體의粗脂肪을構成하고 있는 각각의脂肪酸含量을增加시키지만 어느脂肪酸만을特定的으로增加시키지는 않는 것으로 思料된다.

### 摘 要

人蔘 Saponin의添加가 효모균체 증식과 균체 지방함량 및 지방산 조성에 미치는 영향을 究明하기 위하여 기본배지에 人蔘의 crude saponin을 각각 0% (control) 10<sup>-4</sup>%, 10<sup>-3</sup>%, 10<sup>-2</sup>%, 10<sup>-1</sup>% 되게 넣고 *Rhodotorula glutinis*를 接種하여 8日間 培養한後 효모의 収率 및 脂肪酸組成을 比較調査하였다.

1) 菌體収率は 人蔘 Saponin添加로 增加하였으며 10<sup>-2</sup>% 添加區가 8.45mg/ml로 가장 높았다.

2) 人蔘 Saponin濃도가 增加함에 따라 人蔘 Saponin處理區의 菌體脂質含量은 10<sup>-1</sup>% 添加區를 除外한 모든 處理區에서 对照區보다 增加하였으며 그중 10<sup>-2</sup>% 添加區에서 49.8%로 가장 많았다.

3) *Rhodotorula glutinis*의 菌體脂肪酸는 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid 등이었으며, 不飽和脂肪酸含量이 飽和脂肪酸

含量보다 많았다.

4) 人蔘 Saponin濃도에 관계없이 各處理區의 脂肪酸含量은 oleic > linoleic > linolenic > palmitic > stearic acid 順으로 많았으며, Saponin濃도 10<sup>-2</sup>% 이상의 濃度에서는 palmitic acid가 linolenic acid 보다 增加하였다.

5) 人蔘 Saponin濃도가 增加함에 따라 各處理區 菌體脂肪酸含量은 增加하였으며, 그중 10<sup>-2</sup>% 및 10<sup>-3</sup>% 添加區에서 가장 많았으나 10<sup>-1</sup>% 添加區에서는 顯著하게 減少하였다.

### 참고문헌

1. Ratledge, C. and R.K. Saxton : Analytical Biochemistry 26, 288-294 (1968)
2. Kessell, R.H. : Bact. 31, 220-231 (1968)
3. 유진영, 이형춘, 신동화, 서기봉 ; 산업미생물학회지, 10(2), 87-93 (1982)
4. Steinberg, M.p. and Z.J. Ordal; Hgri. and Food Chem. 2 (17) 873-877 (1954)
5. 朴性五 ; 韓國農化學會誌, 17 (2), 93-116 (1974)
6. Hartman, L, J.C. Hawke, F.B. Shorland and M.E. Menna; Archives of biochemistry and biophysics 81, 346-352 (1959)
7. Babij, J.F.J. Moss and B.J. Ralph; Biotechnology and Bioengineering XI, 593-603 (1963)
8. Allen, L.A., N.H. Barnad, M. Fleming and B. Hollis; J. Appl. Bact. 27 (1), 27-40 (1964)
9. Yoon, S.H., J.W. Rhim, S.Y. Choi, D.Y. Ryu and J.S. Rhee; J. Ferment. Technol. 60 (3), 243-246 (1982)
10. Shibata, S.O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima, and T. Oshawa; Chem. Pharm. Bull. 14 (6) 595-600 (1966)
11. Folch, J, M. Lees and G.H. Stanley; J. Biol. Chem. 226, 497-509 (1957)
12. 朴世浩, 劉太鍾, 李錫健 ; 高麗人蔘學會誌, 5 (2), 139-147 (1981)
13. 하종철 ; 대학화학과 학위논문 (1977)
14. Joo, C.N, Y.D. Cho and H.Y. Kwon; Kor. Biochem J. 11 (2), 113-125 (1970)
15. Thrope, R.F. and C. Ratledge; J. General Microbiology 72, 151-163 (1972)
16. Noble, A.C. and Duitschaever, C.L.; Lipids 8 (11) 655-657 (1973)