

반합성 배지에서 *Aspergillus parasiticus*의 Aflatoxin생성에 미치는 인삼 Saponin과 그 관련물질의 영향

전홍기·박건영*·조영배

부산대학교 자연과학대학 미생물학과·* 부산대학교 가정대학 식품영양학과

Effects of Ginseng Saponin and Its Related Materials on Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in Semi-Synthetic Media

Jun, Hong-Ki, Kun-Young Park* and Young-Bae Jo

Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Pusan National
University, Pusan 607, Korea

*Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Pusan National
University, Pusan 607, Korea

Abstract: The effects of ginseng saponin and its related materials on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in yeast extract sucrose (YES) medium were studied. Maximal production of aflatoxins by the mold in the medium occurred after 9 days at 28 °C. When various concentrations of ginseng saponin were added to the medium aflatoxin productions were significantly reduced ($p < 0.05$) compared to the control after 9 days at 28 °C. 0.05% of saponin in the medium greatly decreased aflatoxin synthesis, and no aflatoxins were synthesized by the mold in the medium contained 5.0% of saponin. When various concentrations of saponin diol and triol were added to the medium both inhibitory and stimulatory effects on aflatoxin production were resulted. Saponin fraction numbers of 1, 2, 4, 5 and 6 decreased aflatoxin production, however, the numbers of 3 and 7 stimulated the toxin production. 0.05% of adenosine, guanosine, caffeine and xanthosine in the media inhibited aflatoxin production ($p < 0.05$), but adenine and cytosine increased the production. When 5.0% of saponin was added to the medium aflatoxins were not synthesized at all, but total lipid synthesis and mold growth were highly stimulated. Both the synthesis of total lipid and mold growth were reduced in case of aflatoxin synthesis stimulated.

Key words: Ginseng Saponin, aflatoxin production, *Aspergillus parasiticus* NRRL2999.

1960년 영국에서 *Aspergillus flavus*가 생성하는 Aflatoxin(AF)에 의해 칠면조가 대량으로 중독사한 사건을 계기로 곰팡이 독소에 대해 많은 연구가 계속되어 왔다.

AF은 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus*에 의해 2차 대사산물로서 생성되

며 곰팡이 독소중 가장 독성이 강한 발암물질로 알려져 있다(Heathcote등, 1978). 계피, 겨자, 마늘이 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus*의 생육과 AF생성을 저해하고(Azzouz, 1981), 우엉, 생강, 감초가 *Aspergillus parasiticus*의 생육은 촉진하나 AF 축적은

저해하며 특히 감초에 의해 균체내의 AF이 크게 감소되었다는 보고(Bahk등, 1983)가 있으며, 생약성분을 비롯한 여러가지 herbs가 균체 증식에 영향을 미치는 인자들에 대해 많은 연구 보고가 있다.

생약제중 우리의 생활과 밀접한 관계를 가지고 있으며 보신, 보약제로 많이 사용되고 있는 인삼은 특히 그 유효 성분대에 대해 많은 분석과 연구(Shibata등, 1963; Sanda등, 1974; Shibata등, 1966; Shibata, 1974)가 진행되어져 왔다. 인삼의 유효 성분이 AF생성에 미치는 영향에 대해 몇몇 연구자들이 연구 검토하였으며 특히 백삼 saponin이 균체 발육은 촉진하나 A-F생성 억제 효과는 뛰어나지 못하였고 홍삼 saponin 및 우방자 saponin이 균체 증식과 AF생성을 억제하였다는 보고(Bahk등, 1983; Bahk등, 1985)와 인삼 saponin첨가의 경우 control에 비해 모든 첨가균은 첨가 농도에 따라 AF의 생성량이 증가하였으나 고농도 첨가시 저농도 첨가보다 오히려 AF이 감소하였다(서등, 1981)는 엇갈린 보고가 있었다.

따라서 본 연구는 인삼 saponin이 AF생성에 미치는 영향을 좀 더 명확히 검토하기 위해 *Aspergillus parasiticus*의 생육과 AF생성에 미치는 인삼 saponin의 영향에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 균주는 미국 USDA Northern Regional Research Laboratory에서 공급받은 *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 로써 Potato Dextrose Agar (PDA) slant에서 28°C, 7일간 배양한 후 4°C에서 보관하였다.

사용배지

본 실험에 사용한 배지는 AF생성이 가장 좋다고 보고(Davis등, 1966)된 2% yeast extract, 15% sucrose의 Yeast Extract Sucrose (YES) 배지였다.

인삼성분 및 핵산 관련 물질

인삼 saponin과 saponin diol 및 triol은 한국 인삼연구소에서 공급받았으며 saponin

분획은 Shibata등(1974)의 방법에 의해 인삼 saponin을 silica gel column에서 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{-OH}:\text{H}_2\text{O}$ (65:35:10, v/v/v)의 하층 용액으로 용출시켜 분획한 후 Thin layer chromatography (TLC)의 상승법에 의한 1차 전개로서 분리하였다. TLC의 전개 용매로는 column chromatography와 동일한 용출액을 사용하였으며 15cm 정도로 전개시킨 후 1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/10\% \text{H}_2\text{SO}_4$ 의 발색 시약을 사용하여 110°C에서 10분간 가온 발색시켜서 나타난 saponin과 각 분획 물질의 TLC pattern을 비교, 확인하였다(전등, 1982).

Adenine, Adenosine, Guanosine, Caffeine, Cytosine 및 Xanthosine은 Sigma 제품 특급 시약을 사용하였다.

포자 현탁액 제조

4°C에서 보관중이던 *Aspergillus parasiticus*를 PAD slant에 1백금이 접종하여 28°C에서 7일동안 2회 계대 배양한 후 포자 현탁액 제조에 이용하였다. 포자 현탁액은 slant에 멸균수 10ml를 넣고 백금으로 포자를 모은 후 4겹의 cheese cloth에 여과하여 멸균수 100ml를 가해 희석시켰다. 포자수는 Haemocytometer로 계산하여 약 3×10^6 conidia/ml 되도록 조정하였다.

배지 멸균 및 접종

20ml의 YES 배지를 100ml 삼각 flask에 넣고 상법에 따라 멸균하였으며, 인삼성분과 핵산 관련 물질 첨가는 오염을 최소화하기 위해 배지의 멸균이 끝난 후 즉시 첨가하였다(Azzouz, 1981). 균을 접종한 후 3×10^6 conidia/ml의 포자 현탁액을 1.0ml 접종하였다.

배양조건 및 pH 측정

균을 접종한 100ml 삼각 flask를 28°C, incubator의 암소내에서 정치배양하였다. 균체를 제거하고 난 배양액의 pH는 Perkin-Elmer Metrion III pH meter (Coleman)로 측정하였다.

건조 균체량 측정

배양 후 포자를 사멸시키기 위해 121°C에서 30초동안 가압 증기 멸균하였으며 80°C dry oven에서 8시간 동안 건조시켜 미리 무게를 달아둔 filter paper (Toyo, No. 2)로 균체와 배

양액을 분리하였다. 균체에 잔존한 배양액을 제거하기 위해 멸균수로 3회 세척한 후 80°C, dry oven에서 8시간 동안 건조시켜 균체량을 측정하였다.

AF 추출 및 분석 방법

AF 추출 방법은 Marth등(1971)의 방법에 따랐다. Vial에 추출된 AF을 일정량의 CHCl₃로 용해시켜 두께 0.25mm의 silica gel (Merk 60 G)을 입힌 20×20cm의 유리판에 spotting 하여 전기용매 toluene: acetic acid:90% formic acid (60:30:10, v/v/v)로 상승법에 의해 전개한 후 U.V. (ATTO-紫外線 檢出器, 日本) 하에서 AF 표준품과 비교, 확인하였다. TLC 에서 분리한 AF은 Dual Wavelength TLC Scanner (Shimadzu CS-930)를 이용하여 정량하였다.

Total lipid 및 잔당의 정량

Total lipid의 정량은 Marth등(1974)의 방법에 의하여 실시하였으며 잔당은 배양액 중의 sucrose를 conc-HCl로 가수분해한 후 Anthrone test로 정량하였다(田村善藏등, 1984).

통계 분석

각 처리군에서 AF 생성량을 비교하기 위해 ANOVA를 구한 후 Ducan's multiple range test를 하였으며, 균체량의 비교를 위해 Student's test를 사용하여 통계, 분석하였다.

실험결과 및 고찰

배양시간에 따른 균의 증식과 AF 생성

*Aspergillus parasiticus*가 AF을 생성하는데 가장 좋은 28°C, YES배지에서 생육할때 Fig. 1에서 보는 바와 같이 배양 3일째에 이미 대수기 후기에 도달하였으며 AF 생성은 이때 최고치를 나타내다가 감소한 후 7일부터 다시 증가하여 배양 9일째에 가장 높았다. 그 후 다시 감소하여 배양 12일째는 상당량의 AF이 감소하였다. 전 배양 기간을 통해 AF B₁이 AF G₁보다 훨씬 많이 생성되었으며 배양 기간이 길어질수록 그 비율이 높아 AF G₁이 AF B₁보다 빠른 속도로 분해됨을 보여주었다. AF은 주로 균체내에 많은량이 존재하였으며 14일째는 균체내의 AF B₁이 대부분이었다.

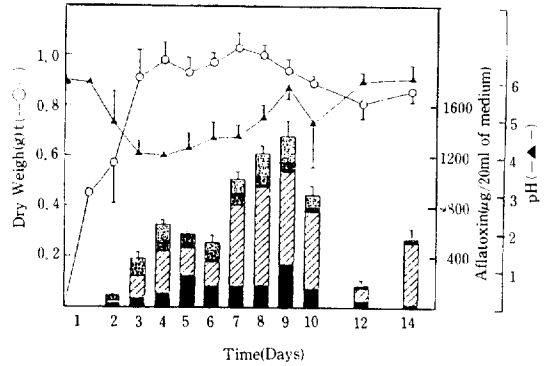


Fig. 1. Relationship of dry weight, changes in pH and aflatoxin production [B₁ (Broth), Mycelium) G₁ (Broth), Mycelium)] during incubation of *Aspergillus parasiticus* in YES medium at 28°C. The vertical bars represent on standard deviation.

인삼 saponin 농도별 첨가시 AF 생성

AF 생성량이 가장 많았던 9일을 배양 기간으로 설정하여 (28°C에서) saponin 첨가 효과를 보았다. 대조군과 비교했을때 Fig. 2에서 보는 바와 같이 균체량은 비록 통계적인 차이 (p < 0.05)는 없었지만 saponin 5% 첨가시 가장 균체량이 많았으며 0.05%인 경우 균체량이 대조군에 비해 적었다. 인삼 saponin 첨가시 AF

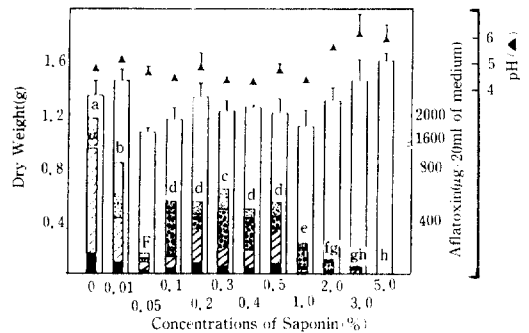


Fig. 2. Growth and aflatoxin production [B₁ (Broth), Mycelium) G₁ (Broth), Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in YES medium containing various concentrations of saponin (%) after 9 days at 28°C. Data are means ±SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test (p < 0.05).

생성이 증가하거나(서등, 1981) 비슷하다고(B-ahk 등, 1983; 1985) 알려져 있었으나 이 실험 결과에 의하면 모든 농도의 첨가균은 대조균과 비교할 때 통계적인 유의차 ($p < 0.05$)를 보이면서 감소하는 경향을 나타내었다. saponin 0.05% 첨가균은 AF 생성을 상당히 저해하여 대조균에 비해 1/10 정도의 AF을 생성하였다. 그러나 0.1% 농도에서는 AF 생성량이 증가하였으며 첨가농도가 증가함에 따라 AF 생성량이 떨어져 saponin 5.0% 첨가시 AF 생성은 완전히 생성되지 않았다.

AF 생성 종류별로 보면 대조균의 경우는 AF B₁이 AF G₁보다 훨씬 많이 생성되었지만 saponin 첨가시 오히려 AF G₁ 생성량이 많거나 그 비율이 비슷한 경향을 보여 saponin은 AF B₁ 생성을 억제하는 어떤 효과가 있다고 생각된다. 이와같은 실험결과에는 AF B₁이 일반적으로 다른 종류의 AF보다 독성, 발암성, 돌연변이성이 아주 강하다는 점을 고려할 때 인삼 성분의 첨가로 AF의 독성을 다소 감소시킬 수 있을 것으로 사료되었다.

농도별 인삼 saponin diol 및 triol의 영향

인삼 saponin은 dammarane계 triterpene glycoside로서 panaxadiol계 saponin인 Rb₁, Rb₂, Rc, Rd의 혼합물과 panaxatriol계 saponin인 Rf, Re, Rg₁, Rg₂, Rh의 혼합물과 Ro의 oleanolic acid를 aglycone으로 가진 saponin으로 구성되어 있다. diol 0.05, 0.1% 첨가시 Fig. 3에서와 같이 균체 증식은 대조균과 비교하여 크게 저해를 받았으며 ($p < 0.05$) 0.05% 첨가시 AF 생성이 대조균에 비해 상당량 감소되었고 0.1%에서는 오히려 많은량 ($p < 0.05$)의 AF이 생성되었다. diol 0.01, 0.1, 0.5% 첨가시 대조균보다 AF 생성이 증가되었지만 0.05 및 1.0% 첨가시는 감소되었다. 대조균의 경우 대부분의 AF이 균체에 존재했지만 diol 첨가시는 균체외에서도 AF이 상당량 검출되었다. triol의 경우 성장은 대조균에 비해 차이가 없었으며 0.05% 첨가시에는 오히려 AF 생성량이 증가되었고 0.1, 0.05, 1.0%에서는 AF 생성이 저해되었다.

결국 diol, triol 첨가시 엇갈린 현상이 일어

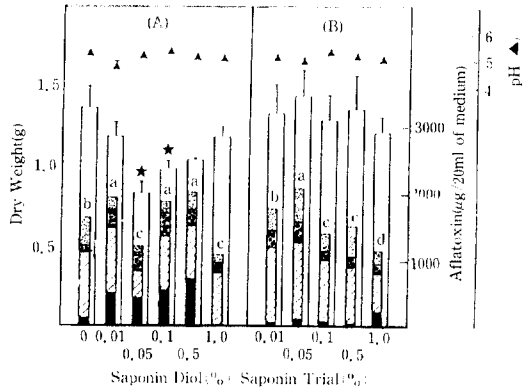


Fig. 3. Growth (□) and aflatoxin production [B₁ (■) (Broth), G₁ (▨) (Mycelium) G₂ (▩) (Broth), B₂ (▧) (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in YES medium containing various concentrations of saponin diol (%), (A) and triol (%), (B) after 9 days at 28°C. Data are means ±SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). * indicates that the bars for growth are significantly different from the control by Student's t test ($p < 0.05$).

났는데 이들은 배지중에 있는 미지의 AF stimulator와 작용하여 AF 생성을 증가시킬 수도 있고 또한 감소시킬 수도 있다. 그러나 saponin의 여러 농도(Fig. 2)에서는 모두 AF이 감소되었기 때문에 diol과 triol이 동시에 작용할 때 더 효과적이라 할 수 있다. 따라서 배지의 종류 또는 인삼 성분에 따라 혹은 농도에 따라 AF 생성을 증가시킬 수 있다는(서등, 1981) 가능성도 역시 배제할 수 없다.

인삼 saponin fraction의 영향

Saponin fraction을 0.05% 첨가하였을 때 균체 생성은 통계적인 차이가 없었으나 AF 생성량은 차이를 나타내었다 ($p < 0.05$). 즉 Fig. 4에서 보는 바와같이 사용된 7개의 fraction 중 Rf가 주성분인 fraction 3과 Rb₂가 주성분인 fraction 7은 오히려 AF 생성을 자극하였지만 fraction 1, 2, 4, 5, 6은 감소시키는 효과를 나타내었다. 그 중 Rb₂가 주성분이며 Rg₁ 성분이 혼적량 들어있는 fraction 1이 가장 효과적이었으며 fraction 2, 4, 6도 상당한

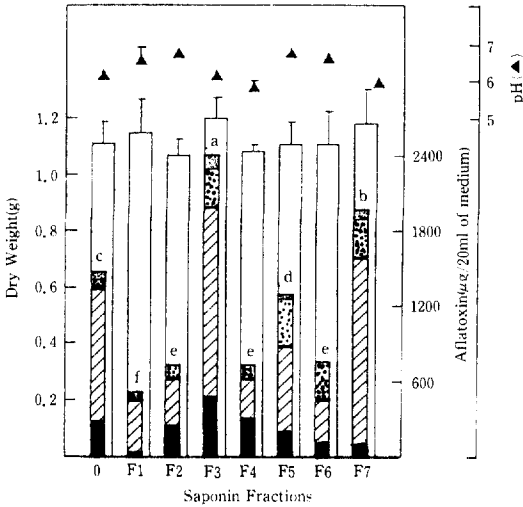


Fig. 4. Growth (□) and aflatoxin production [B_1 : ■ (Broth), ▨ (Mycelium); G_1 : ▤ (Broth), ▩ (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in YES medium containing 0.05% of saponin fraction (F) after 9 days at 28°C.

Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

저해 효과를 나타내었다. diol, triol에서와 같이 saponin의 어떤 fraction은 AF을 증가시킬 수도 있지만 결국 복합적으로 작용할 때 AF 생성을 저해 (Fig. 2) 한다고 볼 수 있었으며 배지의 조성 따라 저해 효과의 차이가 있을 것으로 사료되었다. fraction 첨가시 대조군과 비슷하게 균체내에 AF이 많았으며 또한 AF B_1 이 AF G_1 보다 많았지만 saponin 첨가시와 비슷하게 AF G_1 량이 대조군에 비해 많이 검출되었다. 결국 YES배지에서 AF생성에 미치는 saponin의 효과는 saponin구성성분들의 복합작용에 의한 것으로 생각된다.

각종 핵산 관련 물질의 영향

Okuda 등 (1980)은 인삼에서 청색 형광성 물질을 분리하고 그 화학적 구조를 결정하여 이것이 adenosine임을 밝혔으며 caffeine과 다수의 관련된 methylxanthine들이 *Aspergillus parasiticus*의 성장과 AF생성을 저해 (Buchanan 등, 1983) 한다고 알려져 있다. 핵산 관련

물질을 0.05% 첨가했을 때 Fig. 5에서와 같이 대부분의 AF이 균체내에 존재하는 특성을 나타내었다. adenine첨가시 대조군보다 약 5배 정도의 AF이 주로 균체내에 생성되었으며 이는 adenine이 AF생성에 작용하는 enzyme들을 자극하였거나 다른 어떤 생리적인 활성을 일으킨 것 같다. 반면 adenosine, guanosine, caffeine, xanthosine은 AF생성을 저해하였으며, 주로 AF B_1 이 균체내에 존재했다. caffeine 0.05%를 첨가했을 때 AF생성의 저해 현상은 Buchanan 등 (1984)의 실험 결과와 대체로 일치하는 것으로 나타났다.

Buchanan 등 (1984)은 caffeine 2mg/ml를 첨가했을 때 *Aspergillus parasiticus*에 의한 AF생성이 완전히 저해되는 것은 AF의 합성에 필요한 탄소원의 이용을 caffeine이 제한하는 것으로 보고하고 있다. 그러나 caffeine 0.05%

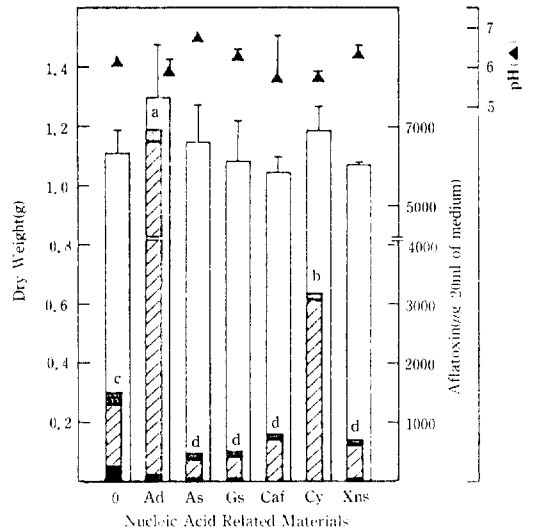


Fig. 5. Growth (□) and aflatoxin production [B_1 : ■ (Broth), ▨ (Mycelium); G_1 : ▤ (Broth), ▩ (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in YES medium containing 0.05% of nucleic related materials (Ad: adenine, As: adenosine, Gs: guanosine, Caf: caffeine, Cy: cytosine, Xns: xanthosine) after 9 days at 28°C.

Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple test ($p < 0.05$).

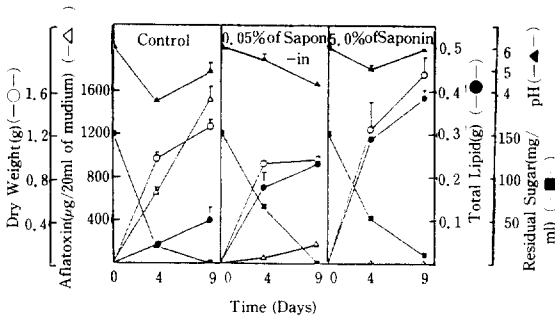


Fig. 6. Relationship of dry weight, sucrose uptake, changes in pH, and synthesis of aflatoxin total lipid during incubation of *Aspergillus parasiticus* in YES medium at 28°C. The vertical bars represent one standard deviation.

를 첨가했을 때에는 AF이 오직 균체내에만 존재하는 것으로 나타났다. 이와같은 실험결과는 caffeine이 AF의 생성에 필요한 탄소원의 이용을 저해하는 것외에 세포내의 AF 분비기구에도 작용하는 것으로 생각할 수 있다.

한편, 이들 핵산 관련 물질이 첨가될 때 균체 성장은 통계적인 유의차 ($p < 0.05$)를 나타내지 못했다.

인삼 saponin 첨가시 total lipid 및 잔당의 변화

대조군인 경우 Fig. 6에서와 같이 균체 증식

과 더불어 AF 생성량과 total lipid가 증가되었으며 탄소원은 AF 생성과 함께 상당량 이용되었다. pH는 배양 4 일째에 상당히 떨어졌다가 다시 증가하였다. saponin 5.0% 첨가시 균체 증식과 total lipid 생성이 대조군에 비해 월등하였으며 AF 생성은 완전히 저해되어 생성되지 않았다. 그러나 탄소원은 서서히 이용되어 대조군보다 상당량이 배양 4 일 후에도 검출되었다. 결국 lipid 생성과 균체 증식때보다 AF 생성시에 당의 이용률이 훨씬 높았음을 알 수 있었다. saponin 0.05% 첨가시 pH는 서서히 감소하였으며 균체량은 대조군보다 떨어졌으나 total lipid 생성량은 대조군에 비해 약 2 배 정도 생성된 반면 AF 생성량은 약 1/10 정도로 줄어들었다.

이상에서 본 바와 같이 saponin 첨가시 AF 생성이 저해됨에 따라 균체량과 total lipid의 양이 증가되는 점으로 미루어 보아 AF 생합성의 전구체인 acetate에서부터 AF 생합성 주경로인 polyketide pathway로 들어가는 어떤 부위가 saponin에 의해 차단되어 중간 축쇄 경로인 fatty acid 합성과 TCA 회로로 대사가 진행되는 것으로 생각되었으며 이에 관련된 연구가 더 필요하다고 본다.

요 약

반합성 배지인 yeast extract sucrose (YES) 배지에서 인삼 saponin 및 그 관련 물질이 *Aspergillus parasiticus*의 AF 생성에 미치는 영향에 대해 검토하였다. 배양 시간에 따른 AF 생성에 대해 검토한 결과 AF 생성은 배양 9 일째에 최고치를 나타내었으며 전 배양 기간을 통해 AF B1이 AF G1보다 많이 생성되었다. 배지내에 여러 농도의 인삼 saponin을 첨가했을 때 모든 농도의 첨가군은 대조군보다 AF 생성이 감소하는 경향을 나타내었으며 saponin 0.05% 첨가시 균체량과 AF 생성량이 매우 감소하였고 saponin 5.0% 첨가시 균체량은 대조군에 비해 증가하였으나 AF은 전혀 생성되지 않았다. 배지내에 saponin diol 및 triol을 농도별로 첨가한 경우 diol 0.05, 1.0% 및 triol 0.1, 0.5, 1.0% 첨가군에서 AF 생성이 감소되었다. 배지내에 saponin fraction을 첨가한 경우 fraction 1, 2, 4, 5, 6은 AF 생성을 상당히 저해하였으나 fraction 3과 7은 AF 생성을 자극하였다. 0.05%의 adenosine, guanosine, caffeine 및 xanthosine을 배지에 첨가한 경우 AF 생성이 저해되었으나 0.05%의 adenosine 및 cytosine을 첨가한 경우에는 AF 생성을 증가시켰다. 5.0%의 saponine을 배지에 첨가한 경우 AF 생성은 전혀 일어나지 않은 반면 total lipid의 합성과 균체량은 대조군에 비해 매우 증가하였다.

REFERENCES

1. Azzouz, M. A., 1981. The inhibitory effects of herbs, spices, and other plant materials on mycotoxigenic molds. Ph. D. Thesis, Univer. of Nebraska, U.S.A.
2. Bahk, J.R. and E.H. March, 1983. Aflatoxin production is inhibited by

- selected herbal drugs. *Mycopathologia*, **83**, 129-134.
3. Bahk, J.R. and E.H. Marth, 1983. Growth and Synthesis of Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the Presence of Ginseng Products. *J. of Food Protection*, **46**, 210-215.
 4. Bahk, J.R., Im, K.S. and Lee, J.K., 1985. Effects of crude saponin on growth and Aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Kor. J. Microbiol.*, **23**, 259-264.
 5. Buchanan, R.L., Hoover, D.G. and Jones, S.B., 1983. Caffeine Inhibition of Aflatoxin Production: Mode of Action. *Appl. Environm. Microbiol.*, **46**, 1193-1200.
 6. Buchanan, R.L. and Lewis, D.F., 1984. Caffeine Inhibition of Aflatoxin Synthesis: Probable Site of Action. *Appl. Environm. Microbiol.*, **47**, 1216-1220.
 7. Davis, N.D., Diener, U.L. and Eldridge, D.W., 1966. Production of Aflatoxin B₁ and G₁ by *Aspergillus flavus* in a Semisynthetic Medium. *Appl. Environm. Microbiol.*, **14**, 378-380.
 8. Heathcote, J.C. and Hibbert, J.R., 1978. In "Aflatoxins: Chemical and Biological Aspects". Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
 9. Jun, H.K., Kim, S.H. and Lee, J.K., 1982. Studies of the Physiological Activity of Korean Ginseng: (Part 1) The Effects of Ginseng Components on the growth of Bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **10**, 101-108.
 10. Marth, E.H. and Shih, C.N., 1971. A procedure for rapid recovery of Aflatoxin from cheese and other foods. *J. of Milk and Food Technol.*, **34**, 119-123.
 11. Marth, E.H. and Shin, C.N., 1974. Aflatoxin formation, lipid synthesis, and glucose metabolism by *Aspergillus parasiticus* during incubation with and without agitation. *Biochemica et Biophysica*, 286-296.
 12. Okuda, H. and Yoshida, R., 1980. Proceeding of 3rd International Ginseng Symposium (Seoul). p.53.
 13. Sanda, S., S. Shibata, N. Kado, J. Shoji and O. Tanaka, 1974. Studies on the saponins of ginseng. *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 421-428.
 14. Shibata, S., M. Fujita, I. Itakawa, O. Tanaka and T. Ishii, 1963. Constituents of Japanese and Chinese crude drugs. *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 751-761.
 15. Shibata, S., T. Ando and O. Tanaka, 1966. Chemical studies on the oriental plant drugs. *Chem. Pharm. Bull.*, **14**, 1161-1197.
 16. Shibata, S., 1974. Proceeding of International Ginseng Symposium. p.69.
 17. Seo, M.J. and Kim, S.Y., 1981. Effects of Ginseng and pH on the Production of Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus*. 부산대학교 가정대학 연구보고 제7집 p95-105.
 18. 田村善藏, 由岐英剛, 1984. 生化学分析法, p. 198-200.

(Received Aug. 13, 1986)