

인삼 Saponin이 고온처리된 효모의 생육에 미치는 영향 - 열처리된 효모의 증식회복속도에 미치는 촉진효과 -

오영숙 · 김용수* · 이갑랑

영남대학교 식품영양학과 · 응용미생물학과*

Effect of Ginseng Saponin on The Growth of Heat-Stressed Yeast *Saccharomyces rouxii* - Stimulation of Growth Recovery Rate of Heat-treated *S. rouxii* -

Young-Sook Oh, Yong-Su Kim* and Kap-Rang Lee

Dept. of Food and Nutrition, Dept of Applied Microbiology*, Yeungnam University,
Gyongsan 713-749, Korea

Abstract

It was attempted in this experiment to observe the effect of ginseng saponin on the growth and recovery rate of *Saccharomyces rouxii* which was shocked by heat-stress. The growth of *S. rouxii* was found most active when the saponin concentration in the malt extract broth was $10^{-3}\%$. And, the growth rate of *S. rouxii* grown on medium containing $10^{-3}\%$ ginseng saponin was faster than that of the yeast grown on medium without saponin from the early log phase of the yeast. The growth recovery rate of *S. rouxii* which was heat-shocked by $80^{\circ}\text{C} - 30$ minutes, was accelerated in the medium added ginseng saponin.

서론

인삼은 옛부터 한방에서 널리 사용되어온 五加科의 다년생 초본인 *Panax ginseng* C. A. Meyer로써 그 약효성분은 많은 연구자들에 의해 saponin 성분이라는 사실이 밝혀져있다¹⁻³⁾. 1906년 朝比奈에 의해 인삼 saponin의 존재가 최초로 밝혀진 이래⁴⁾ 최근 Shibata연구진의 일련의 연구에 의해 14종의 dammaren계 terpene glycoside인 ginsenoside들로 구성되어 있다고 보고되었다⁵⁻⁷⁾. 현재는 이들의 각 ginsenoside별로 그 효능들이 자세히 확인되어지고 있으나⁸⁾ total saponin수준으로 혈당저하¹²⁾, 항암¹³⁾, 단백질합성촉진¹⁴⁾ 등 수많은 연구결과들이 보고되어있으며 미생물의

생육에 미치는 영향에 대해서도 많은 보고들이 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 그러나 인삼 saponin이 미생물에 미치는 영향조사로는 그 증식속도나 발효력증가에 관한 연구를 뿐이고 고등동물을 대상으로 한 고온학대 방어효과연구^{9,10)}처럼 항stress에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 미생물의 경우에도 인삼saponin이 고온stress 방어에 상당한 효과가 있을것으로 추측되어진다.

따라서 본연구에서는 미생물중 내염성효모로 알려진 *Saccharomyces rouxii*를 시험 균주로 해서 고온의 stress를 일정시간 가한 후 그 증식회복에 인삼saponin이 어떠한 영향을 미치는가를 조사하여 인삼saponin의 항stress효과를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 균주의 측정

본 연구에 사용한 균주는 내염성효모 *Saccharomyces rouxii*를 사용하였으며 증식된 효모의 균수를 측정하기 위해서는 Difco계 malt extract broth를 이용하여 30°C에서 120rpm으로 진탕배양하면서 시간별로 취하여 Thoma's haematometer로 현미경 하에서 그 균수를 계수하였다.

인삼saponin의 정제 및 ginsenoside조성 조사

본 연구에 사용한 인삼saponin은 6년간 건조된 삼을 70% ethyl alcohol로 추출한 후 Shibata의 방법¹⁸⁾을 변형하여 Fig. 1과 같이 정제하여 total saponin 수준으로 사용하였으며 정제된 total sa-

ponin의 각 ginsenoside조성비율은 Table 1의 조건으로 high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석하였다.

Table 1. The condition of HPLC* for analysis of ginseng saponin

Model	: Waters Associate Model 244
Column	: μ Bondapak carbohydrate analysis (4mm \times 30cm)
Solvent	: Acetonitril : H ₂ O : BuOH(80 : 20 : 15)
Detector	: Differential Refractometer(R401)
Sensitivity	: 8X
Flow rate	: 1.5ml/min
Chart speed	: 1cm/min
Injection vol.	: 25 μ l

*High Performance Liquid Chromatography.

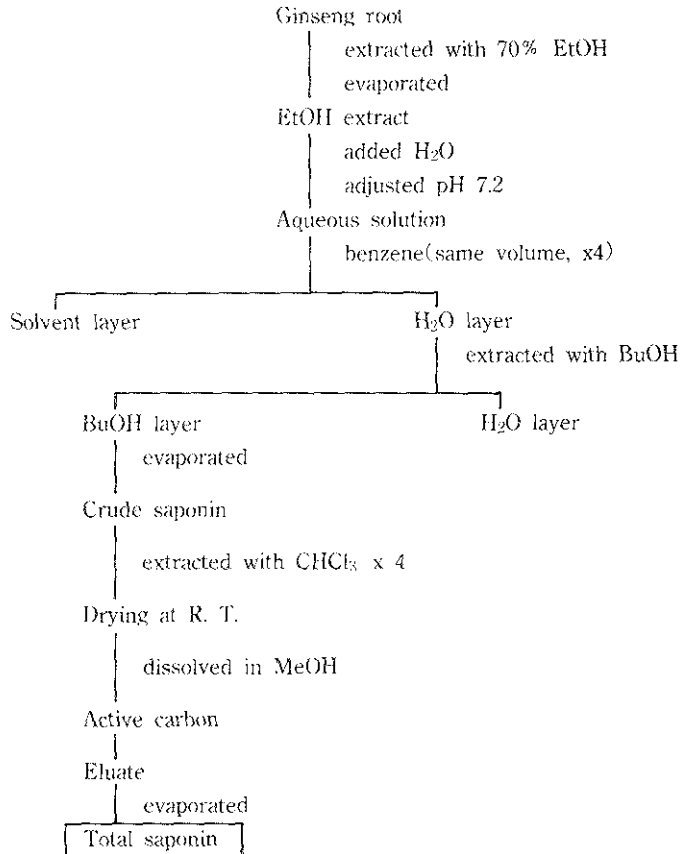


Fig. 1. Purification scheme of total saponin from ginseng root.

효모의 고온처리

시험균주 *S. rouxii*의 배양중 대수증식기인 6시간과 8시간 배양된 효모균체를 80°C에서 30분간 가열처리한 후 다시 30°C에서 계속 배양하면서 시간별로 그 균수를 계측하여 증식곡선을 조사하였다.

결과 및 고찰

인삼saponin의 정제 및 ginsenoside조성

인삼saponin을 Fig. 1의 방법으로 정제한 후 이 total saponin에 함유된 각 ginsenoside들의 함유 pattern을 HPLC로 조사하여 본 결과 Fig. 2와 같은 chromatogram을 얻었는데 이 결과는 홍등¹⁹⁾이 6년간 인삼에서 분리하여 분석한 total saponin의 ginsenoside pattern과 거의 일치하였으므로 서로 인삼에 함유되어있는 saponin이 정상적 조성비율로 정제된 것으로 추정되었다.

*S. rouxii*의 생육에 미치는 농도별 인삼 saponin의 영향

정제된 인삼saponin이 내염성효모 *S. rouxii*의 생육에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하기 위해 최종농도 10⁻⁵%에서 10⁻²%까지 되게 첨가한 malt extract broth에 일정량의 *S. rouxii*를 접종하여 30°C에서 18시간 진탕배양시키며 그 균수를 계수하여 본 결과 Fig. 3과 같이 인삼saponin을 10⁻³% 되게 첨가한 경우 무첨가구에 비해 약 55% 정도로 그 증식이 촉진되었다. 이 결과는 인

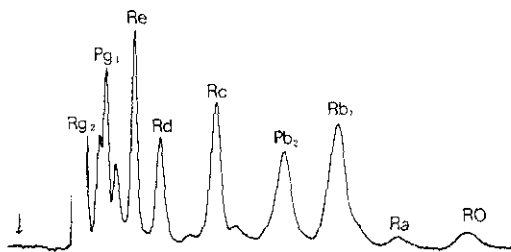


Fig. 2. HPLC* chromatogram of the total saponin purified from ginseng root.
*High Performance Liquid Chromatography

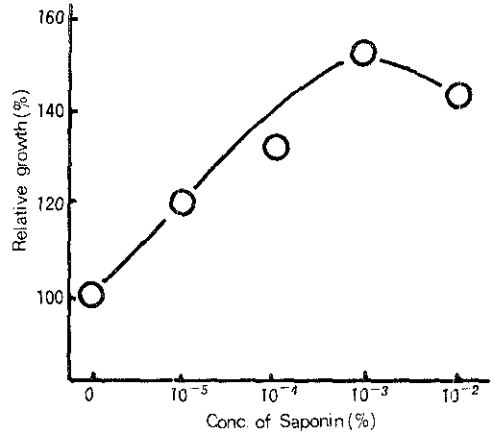


Fig. 3. Effect of ginseng saponin on the growth of *Saccharomyces rouxii*.

삼saponin을 10⁻³~10⁻²% 되게 첨가할 경우 *E. coli*의 증식이 가장 크게 촉진되었고 10⁻¹% 첨가구에서는 오히려 약간 저해된다는 Joo등의 보고²⁰⁾와 유사하였으며 2×10⁻³% 첨가에서 *Micrococcus flavus*, *Aerobacter aerogenes*의 생육이 촉진되고 2×10⁻²%에서는 그 생육이 억제된다는 전 등의 보고²¹⁾와는 거의 일치하였다. 이외에도 주정효모 *S. cerevisiae*의 생육이 인삼saponin에 의해 촉진된다는 보고²²⁾등과도 아주 유사하였다. 이 결과들로 미루어보아 저농도의 인삼saponin이 본 연구의 시험균주인 *S. rouxii*의 생육도 크게 촉진한다는 사실을 확인할 수 있었다.

*S. rouxii*의 증식곡선에 미치는 인삼saponin의 영향

*Saccharomyces rouxii*의 시간별 증식속도를 말하는 증식곡선에 미치는 인삼saponin의 영향을 조사하기 위하여 total saponin을 malt extract broth에 10⁻³% 되게 첨가하고 시험효모균주를 접종한 후 30°C에서 진탕배양시키면서 시간별로 그 배양된 균수를 계수해 본 결과 Fig. 4와 같이 무첨가구에 비해 saponin첨가구의 경우 그 대수증식기(log phase)의 진입속도나 기울기가 훨씬 빨랐으며 12시간 경과 후에는 saponin첨가구의 증식균수가 6.2×10⁸/ml로 무첨가구의 1.2×10⁸/ml에 비해 훨씬 더 증가되었다. 이 결과는 인삼sapo-

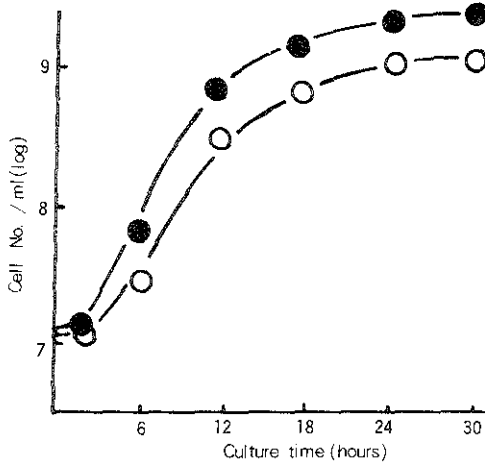


Fig. 4. Effect of ginseng saponin on the growth curve of *Saccharomyces rouxii*.
 ● : with saponin ($10^{-3}\%$)
 ○ : without saponin

nin이 효모의 균체량, 알콜발효력등을 촉진시킬 때 그 양적증가 뿐만아니라 증가속도도 훨씬 촉진된다는 양 등의 보고²³⁾에서도 미루어 볼 수 있듯이 *S. rouxii* 역시 인삼saponin에 의해 그 log phase의 진입시간이 훨씬 빨라진다는 사실을 알았다.

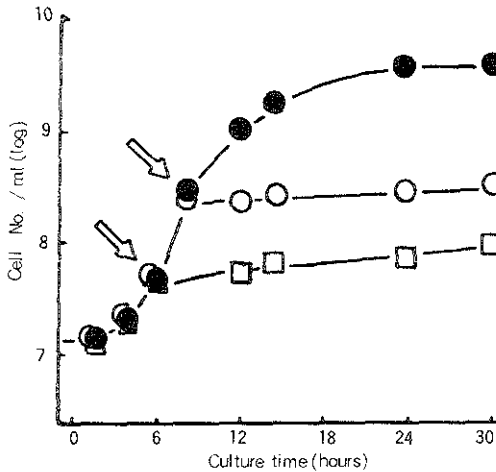


Fig. 5. Growth curve of *Saccharomyces rouxii* stressed by heat shock.
 ■ : heat treatment ($80^{\circ}\text{C} - 30\text{min}$)
 ● : non-treat
 □ : heat treat after 6hrs
 ○ : heat treat after 8hrs

고온처리가 *S. rouxii*의 증식에 미치는 영향
 고열 stress가 *Saccharomyces rouxii*의 증식곡선에 어느 정도의 저해영향을 미치는가와 어느 시점에서 인삼saponin의 효과를 조사하는 것이 효과적인가를 조사하기 위해 효모 접종후 6시간과 8시간 배양시점에서 80°C 에서 30분간 열처리시킨 후 다시 30°C 에서 계속 배양시키면서 그 증식된 균수를 계수한 결과 Fig. 5와 같이 8시간 배양한 효모에 열처리한 경우가 6시간후 열처리보다 그 회복속도가 더 느렸다. 따라서 이 결과를 감안하여 다음의 실험은 8시간 배양된 효모에 열처리하기로 하였다.

고온처리된 *S. rouxii*의 증식회복에 미치는 인삼saponin의 영향

*Saccharomyces rouxii*를 접종한 후 8시간 배양된 효모균체에 가열처리를 하면 그 증식회복속도가 아주 느리다는 사실을 알았는데 이때 인삼saponin을 첨가할 경우 그 증식회복속도가 어떤 영향을 받겠는가를 조사하였다. 일정량의 효모수를

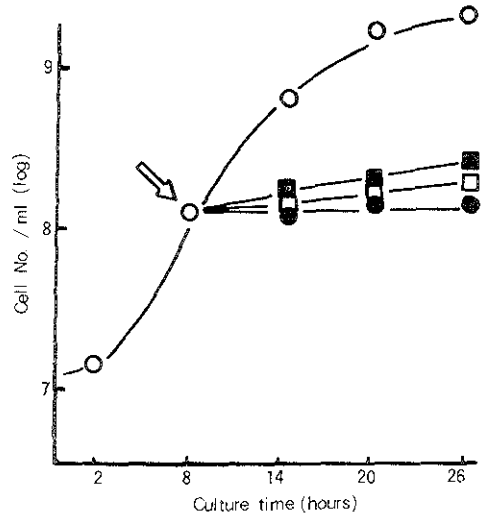


Fig. 6. Effect of saponin on the growth of *Saccharomyces rouxii* treated by heat shock.
 ○ : non-treat
 ● : heat treat ($80^{\circ}\text{C} - 30\text{min}$)
 ■ : add saponin ($10^{-3}\%$) after heat treat
 □ : add saponin ($10^{-4}\%$) after heat treat

접종하여 30℃에서 배양하다가 8시간 경과 후 80℃에서 30분간 열처리 시킨 후 즉시 인삼saponin을 10⁻³%, 10⁻⁴% 되게 첨가하고 계속 배양시키면서 시간별로 증식된 균수를 계수하여 본 결과 다음 Fig. 6과 같이 인삼saponin을 10⁻³% 되게 첨가한 구는 무첨가구에 비해 26시간 배양 경우 2.8×10⁸/ml로 약 70%정도 그 회복속도가 빨랐다. 이 결과는 동물을 이용한 인삼의 고온 stress회복효과^{9, 10)}와는 직접 연관지어 설명하기는 어려우나 인삼의 saponin성분이 미생물의 경우에도 고온 stress를 방어하고 고온 shock로 부터의 회복속도를 촉진한다는 사실을 확인할 수 있었다.

요 약

인삼의 약효성분인 saponin이 내염성효모 *Saccharomyces rouxii*의 생육에 미치는 영향 및 고온 처리로 stress를 준 효모의 증식회복속도에 미치는 영향을 조사하여 본 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다. 인삼saponin을 10⁻³% 되게 첨가했을 경우 무첨가구에 비해 *S. rouxii*의 생육을 55% 정도로 가장 크게 촉진시킬 수 있었으며 또한 인삼saponin 첨가 경우 *S. rouxii*의 증식곡선은 무첨가구에 비해 그 log phase의 진입속도가 훨씬 빨랐으며, 가열처리된 *S. rouxii*의 증식회복속도도 인삼saponin 10⁻³% 첨가했을 경우 70% 정도나 빨랐다. 이로 미루어보아 인삼saponin은 heat shock받은 효모의 생육회복속도를 크게 증가시킬 수 있는 항stress효과가 있음을 확인할 수 있었다.

문 헌

1. Petkov, W. : Pharmacological studies of the drug *Panax ginseng* C. A. Meyer, *Arzneim. Forsch.*, **9**, 305(1959)
2. Brekhman, I. I. : *Panax ginseng*, *Med. Sci. Service*, **26**, 17(1967)
3. Heu, I. : Introduction to Korean Ginseng, KGTRI, Seoul, 14(1983)
4. 朝比奈泰彦, 田口文太 : 人蔘の成分, *日本藥學雜誌*, **26**, 549(1906)
5. Shibata, S., Fujita, M., Itokawa, H. : The structure of panaxadiol. A sapogenin of ginseng,

- Tetrahedron lett.*, **10**, 419(1962)
6. Tanaka, O., Nagai, M., Shibata, S. : Stereochemistry of protopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng, *Tetrahedron lett.*, **33**, 2291(1964)
7. Nagai, N., Ando, T., Tanaka, N., Tanaka, O., Shibata, S. : Chemical studies on the oriental plant drugs. XX VIII. Saponins and sapogenine of ginseng, *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1212(1972)
8. Heu, I. : *Abstracts of Korean Ginseng Studies*, Vol. II, KGTRI, 145(1985)
9. Kim, N. D., Hanh, B. H., Lee, E. B., Hong, J. Y., Kim, M. H., Jin, C. B. : Studies of ginseng on the antistress effect, *Korean J. Pharmacol.*, **10**, 61(1979)
10. Kita, T., Hata, T., Kawashima, Y., Kaku, T., Itoh, E. : Pharmacological action of ginseng saponin in stress mice, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 381(1981)
11. Saito, H., Yoshida, Y., Takaki, K. : Effect of *Panax ginseng* root on exhaustive exercise in mice, *Japan J. Pharmacol.*, **24**, 119(1974)
12. Okuda, H., Yoshida, R. : Studies on the effect of ginseng components on diabetes mellitus, *Proc. 3rd Int. Ginseng Symp.*, 53(1980)
13. Yun, T. K., Yun, Y. S., Han, I. W. : Study of tumor inhibitory effect of red ginseng in mice and rats exposed to various chemical carcinogens, *Proc. 3rd Int. Ginseng Symp.*, 87(1980)
14. Nagasawa, T., Oura, H., Hitai, S., Nishiga, K. : Effect of ginseng extract on ribonucleic acid and protein synthesis in rat kidney, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 1665(1977)
15. 김태우 : 인삼 saponin이 미생물 세포에 미치는 영향, 연세대학교 석사학위논문, (1981)
16. Cho, Y. D., Kim, N. G., Kim, C. W. : A study on the effect of ginseng saponin fraction on the cell wall of *Bacillus subtilis*, *Korean Biochem. J.*, **14**, 295(1981)
17. Jung, N. P. : A bioassay of ginseng extracts on yeast growth determination, *Korean J. Ginseng Sci.*; **5**, 24(1981)
18. Fujita, M., Itokawa, H., Shibata, S. : Chemical studies on ginseng(I) Isolation of saponin and sapogenins from Radix Ginseng, *Yakugaku Zasshi*, **82**, 1634(1962)
19. 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운 : 고속액체 chromatography를 이용한 인삼saponin의 정량분석, *약학회지*, **23**, 181(1979)
20. Joo, C. N., Cho, Y. D., Kwon, H. Y. : The effect

- of ginseng saponin on bacterial growth, *Korean Biochem. J.*, 11, 113(1978)
21. 전흥기, 김선희, 이종근: 인삼의 생리활성에 관한 연구(제1보)세균의 생육에 미치는 인삼성분의 영향, 한국산업미생물학회지, 10, 101(1978)
22. 성현순, 남상열, 김기철: 홍삼성분이 주정효모의 생리에 미치는 영향, 한국농화학회지, 28, 228(1980)
23. 양희천, 이태규: 인삼에서 추출한 crude saponin이 미생물의 생리에 미치는 영향(제1보) *Saccharomyces cerevisiae*에 미치는 영향, 한국산업미생물학회지, 9, 123(1981)

(1990년 5월 21일 접수)