

열처리된 효모의 생육에 미치는 인삼 Saponin의 영향
—*Saccharomyces rouxii*가 생산한 Amylase의 열변성에 대한 보호작용—

오영숙 · 이갑랑

영남대학교 식품영양학과

Effect of Ginseng Saponin on The Growth of Heat-Stressed
Yeast *Saccharomyces rouxii*
—Protective Effect of Saponin on The Heat Denaturation of The
Amylase Produced by *Saccharomyces rouxii*—

Young-Sook Oh and Kap-Rang Lee

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

Abstract

A promoting effect of ginseng saponin on the growth recovery rate of *Saccharomyces rouxii* which was treated by heat was confirmed in previous report(22). In order to deduce the promoting effect on the growth recovery of the heat stressed yeast, the effect of ginseng saponin on the activity and the heat stability of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii* were observed. The amylase showed the highest activity at 0.01% of saponin. At this concentration, the activity increased about 23% compared to the control. Furthermore, the ginseng saponin showed a protective effect against thermal inactivation of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii*.

서 론

인삼의 약효성분인 saponin은 Shibata 등의 연구에 의해 10여 종의 terpene glycoside인 ginsenoside들로 구성되어 있다고 알려져 있다¹⁻³⁾. 인삼saponin의 약리작용은 항암⁴⁾, 혈당저하⁵⁾, 항피로⁶⁾, 항stress^{7,8)}, 학습효과증진⁹⁾, 단백질합성촉진¹⁰⁾등으로 밝혀져 있으며 미생물증식의 촉진¹¹⁻¹⁵⁾, 효소 활성도촉진¹⁶⁻¹⁹⁾등의 연구도 보고되어 있다. 또한 고온학대를 가한 실험동물의 정상회복에 인삼saponin이 좋은 효과를 미친다는 보고^{20,21)}를 미루어 본다면 미생물의 경우에도 고온처리된 미생물체의 정상회복효과에 인삼saponin이 기여할 것으로 추정해 볼 수 있을 것이다.

따라서 이를 확인하기 위해서 전보²²⁾에서는 고온처리로 heat stress를 받은 미생물의 증식회복 속도에 인삼saponin의 촉진 효과를 확인한 바 있는데, 본 연구에서는 인삼saponin이 가지는 heat stress 방어효과의 원인을 알아보기 위해 *Saccharomyces rouxii*가 생산한 amylase의 활성도나 열안정성에 미치는 인삼saponin의 촉진효과를 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 amylase조효소액 조제

본 연구에 사용한 시험균주는 내염성효모 *Saccharomyces rouxii*이었으며 amylase생산을 위해서

는 이 균주를 malt extract broth(Difco)에 접종하여 30°C에서 5일간 120rpm으로 진탕배양 하였다. Amylase의 조정제를 위해서는 시험균주의 배양여액을 ammonium sulfate로 완전포화시켜 원심분리하여 얻은 효소단백을 phosphate buffer (pH 6.0)로 3일간 dialysis시킨 후 불용침전을 제거시키고 조효소로 사용하였다.

Amylase 활성도의 측정

Amylase의 활성도는 기질인 soluble starch를 최종농도 0.5% 되도록 phosphate buffer(pH 6.5)와 각 농도의 인삼saponin 용액과 혼합하여¹⁸⁾ 40°C에서 10분간 효소반응 시킨 후 dinitrosalicylic acid (DNS) 발색법에 준하여²³⁾ 측정하였다.

인삼saponin의 정제 및 ginsenoside함량 조사
6년근 인삼을 70% ethyl alcohol로 추출한 후 전보의 방법²²⁾으로 정제하여 얻은 total saponin을 사용하였으며 그중에 함유된 ginsenoside함량의 조성비율은 전보에서 얻은 high performance liquid chromatography(HPLC)의 chromatogram을 미리 작성한 standard ginsenoside의 calibration curve로 환산하여 조사하였다.

결과 및 고찰

인삼saponin의 ginsenoside 조성비율

정제한 인삼saponin중 각 ginsenoside의 조성비율은 다음 Table 1과 같이 ginsenoside Rb₁이 36.4%로 가장 많았고 ginsenoside Rg₂가 1.3%로 가장 적게 나타났다. 이 결과는 홍삼의 saponin중 ginsenoside Rb₁함량이 33.2%로 타 ginsenoside에 비해 가장 많이 함유되어 있다는 홍 등의 보고²⁴⁾와 아주 유사하였으며 ginsenoside Rb₁의 함량이 김 등의 보고²⁵⁾와는 그 조성비율에 약간의 차이는 있으나 함량순으로는 ginsenoside Rb₁, -Rc, -Rd, -Re등의 순으로 거의 일치하였다. 이들로 미루어 보아 본 연구를 위해 정제된 total saponin은 정상적인 ginsenoside조성을 가지는 saponin으로 정제되었다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 1. Composition ratio of ginsenosides in the total saponin purified from ginseng root (%)

Ginsenosides	Molecular formula	Composition (%)
Ro	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	3.2
Ra	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	1.5
Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	36.4
Rb ₂	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	11.1
Rc	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	14.2
Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	12.2
Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	11.2
Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	1.8
Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	7.6
Rg ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	1.3

*Composition was determined by calibration curve of standard ginsenosides HPLC chromatogram.

S. rouxii가 생산한 amylase활성의 최적조건

고온처리된 효모의 정상증식 회복속도가 인삼saponin에 의해 촉진된다는 사실을 전보²²⁾에서 확인한 바가 있다. 그 원인을 부분적으로나마 추정해 보기 위해 시험효모 S. rouxii가 생산하는 효소중 amylase를 사용하여 인삼saponin에 의한 활성도의 증가와 효소단백질의 열변성에 대한 보호효과를 조사하였다. S. rouxii가 생산한 amylase의 반응에 미치는 pH나 반응온도의 영향을 조사해 본 결과 그 최적활성 pH는 Fig. 1과 같이

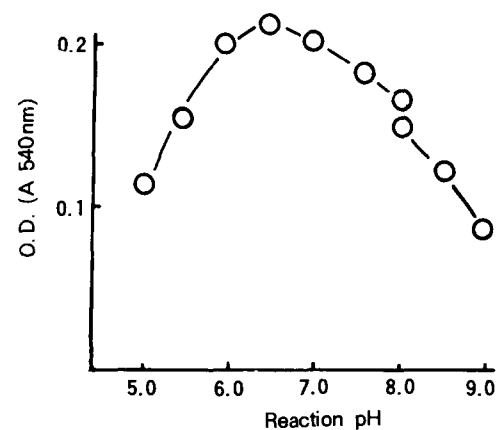


Fig. 1. Effect of pH on the activity of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii*.

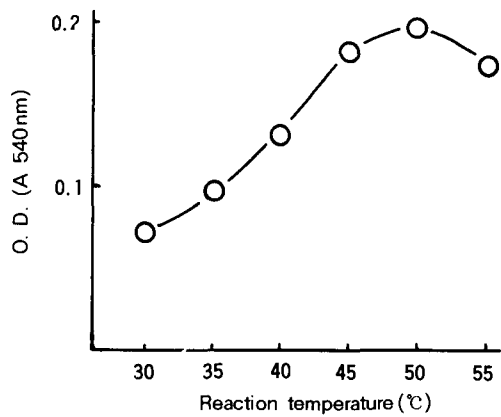


Fig. 2. Effect of temperature on the activity of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii*.

pH 6.5부근에서 가장 활성도가 크게 나타났으며, 그 최적활성온도는 pH 6.5의 조건에서 Fig. 2의 결과와 같이 50°C에서 가장 큰 활성도를 나타내었다. 따라서 amylase의 활성도는 pH 6.5, 50°C에서 측정하였다.

Amylase활성에 미치는 인삼saponin의 영향

시험균주 *S. rouxii*가 생산한 amylase의 활성에 인삼saponin이 어떠한 영향을 미치는가를 조사하기 위하여 정제된 인삼saponin을 최종농도가 0.04% 까지 되도록 농도별로 첨가하여 amylase의 활성도를 조사하여 본 결과, Fig. 3과 같이 0.005%에서 0.01%까지의 비교적 낮은 농도에서 그 활성도가 가장 크게 촉진되었다. 그러나 0.02%부터는 saponin의 농도가 증가 될수록 그 활성의 촉진율이 저하되는 경향을 나타내었다. 이 결과는 세균성 amylase의 활성도가 인삼saponin 0.01% 첨가 경우에 가장 크게 촉진되었다는 주 등의 보고¹⁶⁾와 아주 유사하였으며 succinate dehydrogenase의 경우 $8.3 \times 10^{-2}\%$ 첨가때 가장 활성도가 높았다는 주 등의 보고¹⁹⁾와도 거의 유사하였으나, glutamate dehydrogenase의 경우 $10^{-5}\%$ 에서 $10^{-6}\%$ 첨가시 최고활성을 보였으며 $10^{-4}\%$ 부터는 서서히 감소한다는 주 등의 보고¹⁶⁾와는 조금 상이한 결과이었다. 이들 결과들로 미루어 보면 효소의 종류에 따라 약간씩 그 정도의 차이는

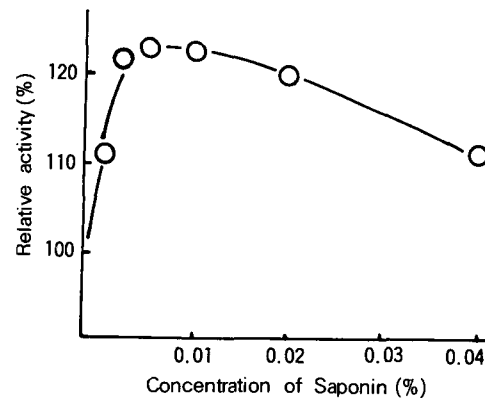


Fig. 3. Effect of ginseng saponin on the activity of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii*.

있으나 0.01%정도의 비교적 낮은 농도의 인삼saponin은 각종 효소들의 활성도를 촉진한다는 사실을 다시 확인할 수 있었다. 따라서 전보²²⁾의 결과와 연관하여 보면 인삼saponin에 의한 각종 효소활성의 촉진작용이 heat stress를 받은 미생물의 증식회복속도를 촉진하는 원인중의 하나로 사료되었다.

Amylase의 열안정성에 미치는 인삼saponin의 영향

인삼saponin이 각종 효소의 활성도에 촉진작용을 한다는 사실은 본 연구이외에도 여러 연구자들에 의해 확인되어 있으나 고온처리된 효모의 증식회복에 미치는 인삼saponin의 촉진효과는 효소활성촉진효과이외에도 효소의 열변성에 대한 보호작용도 기인할 것으로 추측되어 *S. rouxii*가 생산한 amylase의 열변성에 인삼saponin이 어떤 영향을 미치는가를 조사하기로 하였다. 이를 위해 인삼saponin을 최종농도 0.01% 되게 첨가한 phosphate buffer(pH 7.0)에서 70°C에서 10분간 가열처리시킨 후 그 효소의 잔존활성도를 조사해본 결과 Fig. 4와 같았다. 가열처리시 인삼saponin을 첨가한 효소의 경우에 2분간 처리시 약 28%의 열보호작용이 있는것으로 나타났다. 이 결과는 인삼saponin에 의한 효소자체의 활성도증가를 감소하더라도 약 10%정도의 진정한 열보호작용이

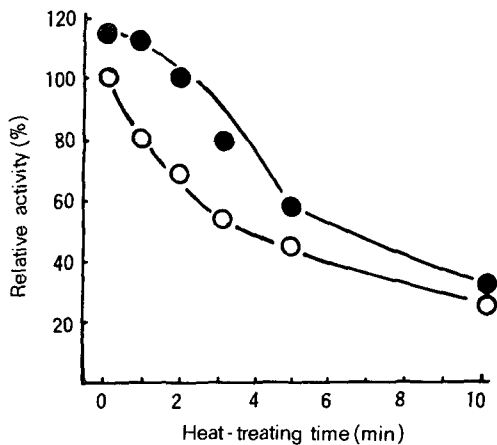


Fig. 4. Protective effect of saponin on the heat denaturation of the amylase produced by *Saccharomyces rouxii*.

○ : without saponin
● : with saponin

있었다는 것을 의미한다. 이 결과는 Kim 등이 β -galactosidase의 열처리 경우 인삼추출물 첨가로 그 변성속도를 상당히 지연시킬 수 있었다는 효소동력학적 연구결과²¹⁾와도 유사하였으며 세균성 amylase의 열변성에도 인삼saponin이 보호작용을 한다는 도 등의 보고¹⁸⁾와도 아주 비슷하였다.

이상의 결과와 전보의 결과²²⁾들로 미루어 모아 인삼saponin은 heat shock를 받은 효모의 생육회복속도를 크게 증가시킬 수 있었으며 그 원인은 각종 효소의 활성도를 촉진하거나 효소단백의 고열변성을 보호해주는 작용때문인 것으로 판단되었다.

요 약

인삼saponin이 *Saccharomyces rouxii*의 생육속도나 고온충격으로부터의 정상회복속도를 크게 증가시킨다는 사실을 확인한 바 있다. 이러한 촉진효과의 원인을 추정하기위해 인삼saponin이 *S. rouxii*가 생산한 amylase의 활성에 미치는 영향이나 그 효소의 열변성에 미치는 보호효과를 조사해 본 결과는 다음과 같다. *S. rouxii*가 생산한 amylase의 활성은 pH 6.5에서 50°C로 반응시킴

으로써 가장 크게 나타났다. 인삼saponin을 0.01% 첨가한 경우 amylase의 활성이 무첨가구에 비해 23% 정도 촉진되었으며, 인삼saponin 0.01%를 첨가한 경우 70°C로 가열처리시켜도 amylase의 활성이 무첨가 처리구에 비해 그 잔존활성 기준으로 28%나 열변성으로부터 보호될 수 있었다. 이 결과로 미루어 보아 heat stress 받은 효모의 정상회복은 인삼saponin이 효소의 활성이나 효소의 열안정성에 기여하기 때문인 것으로 판단되었다.

문 헌

1. Shibata, S., Fujita, M. and Itokawa, H. : The structure of panaxadiol. A saponin of ginseng. *Tetrahedron lett.*, **10**, 419(1962)
2. Tanaka, O., Nagai, M., and Shibata, S. : Stereochemistry of protopanaxadiol, a genuine saponin of ginseng *Tetrahedron lett.*, **33**, 2291 (1964)
3. Nagai, N., Ando, T., Tanaka, N., Tanaka, O. and Shibata, S. : Chemical studies on the oriental plant drugs.(XX VIII) Saponins and saponinogens of ginseng. *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1212(1972)
4. Yun, T. K., Yun, Y. S. and 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)
5. Okuda, H. and Yoshida, R. : Studies on the effect of ginseng components on diabetes mellitus. *Proc. 3rd Int. Ginseng Symp.*, **53**(1980)
6. Saito, H., Yoshida, Y. and Takaki, K. : Effect of *Panax ginseng* root on exhaustive exercise in mice. *Japan J. Pharmacol.*, **24**, 119(1974)
7. Kim, N. D., Hahn, B. H., Lee, E. B., Hong, J. Y., Kim, M. H. and Jin, C. B. : Studies of Ginseng on the Antistress effect. *Korean J. Pharmacol.*, **10**, 61(1979)
8. Kita, T., Hata, T., Kawashima, Y., Kaku, T. and Itoh, E. : Pharmacological action of Ginseng saponin in stress mice. *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 381 (1981)
9. Kaku, T., Migata, T., Uruno, T., Sako, I. and Kinoshita, A. : Chemico-pharmacological studies on saponin of *Panax*. *Arzneimittel Forschung Drug Research*, **25**, 539(1975)

10. Nagasawa, T., Oura, H., Hitai, S. and Nishiga, K. : Effect of ginseng extract on ribonucleic acid and protein synthesis in rat kidney. *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 1665(1977)
11. Joo, C. N., Cho, Y. D. and Kwon, H. Y. : The effect of ginseng saponin on bacterial growth. *Korean Biochem. J.*, **11**, 13(1978)
12. Cho, Y. D., Kim, N. G. and Kim, C. W. : A study on the effect of ginseng saponin fraction on the cell wall. *Korean Biochem. J.*, **14**, 295 (1981)
13. Jung, N. P. : A bioassay of ginseng extracts on yeast growth determination. *Korean J. Ginseng Sci* **5**, 24(1981)
14. 성현순, 남상열, 김기철 : 홍삼성분이 주정 효모의 생리에 미치는 영향. *한국농화학회지*, **28**, 228(1980)
15. 양희천, 이태규 : 인삼에서 추출한 crude saponin이 미생물의 생리에 미치는 영향(제1보) *Saccharomyces cerevisiae*에 미치는 영향. *한국산업미생물학회지*, **9**, 123(1981)
16. 주충노, 오종찬, 노수진 : 인삼사포닌의 생화학적 연구(VI). Glutamate dehydrogenase 및 glutamate transaminase에 미치는 영향. *한국생화학회지*, **9**, 53(1976)
17. Park, J. J., Koo J. H. and Joo C. N. : The effect of ginseng saponin on human serum glutamate-pyruvate transaminase *in vitro*. *Korean Biochem. J.*, **11**, 161(1978)
18. 도재호, 김상달, 주현규 : 인삼saponin이 세균성 α -amylase활성에 미치는 영향. *한국산업미생물학회지*, **13**, 7(1985)
19. 주충노, 한정호 : 인삼saponin의 생화학적 연구(V) 닭의 간 미토콘드리아의 succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase 및 α -ketoglutarate dehydrogenase에 미치는 영향. *한국생화학회지*, **9**, 43(1976)
20. Kim, N. D., Hahn, B. Y. Lee, E. B. Hong, J. Y. Kim, M. H. and Jin, C. B. : Studies of Ginseng on the Antistress Effect. *Korean J. Pharmacol.*, **10**, 61(1979)
21. Kim, D. H., Han, Y. H. and Hong, S. K. : Stabilization of β -D-galactosidase from heat and chemical inactivation with the extract of *Panax ginseng*. *Arch. Pharm. Res.*, **5**, 45(1982)
22. 오영숙, 김용수, 이갑랑 : 인삼saponin이 고온처리된 효모의 생육에 미치는 영향-열처리된 효모의 증식 회복속도에 미치는 촉진효과- *한국영양식량학회지*, 인쇄중(1990)
23. Miller, G. L. : Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, **31**, 426(1959)
24. 홍순근, 박은규, 이춘영, 김명운 : 고속액체 chromatography를 이용한 인삼saponin의 정량분석. *약학회지*, **23**, 181(1979)
25. 김만옥, 이정숙, 최강주 : 각국삼 성분비교 연구(1). Ginsenoside함량과 그 조성 및 free sugar함량에 대하여. *고려인삼학회지*, **6**, 196 (1982)

(1990년 9월 10일 접수)