

## *Lactobacillus* sp. 6105의 효소에 의한 인삼사포닌의 전환

김세화, 김호빈, 민진우, 전림호, 양덕춘\*

Transformation of Ginoside by microbial Enzyme of Strain *Lactobacillus* sp. 6105  
Se-Hwa Kim, Ho-Bin Kim, Jin-Woo Min, Lin-Hu Quan, and Deok-Chun Yang\*

Korean Ginseng Center for Most Valuable Products & Ginseng Genetic Resource  
Bank, Kyung Hee University

Seocheon-dong, Giheung-gu Yongin-si, Gyeonggi-do 449-701, South Korea

### 실험목적(Objectives)

암세포 전이 억제, 혈소판 응집 억제, 항산화 및 항염증 작용 등 뛰어난 약리활성을 가진 ginsenoside Rg<sub>3</sub>, Rh<sub>2</sub>, compound K 등의 minor saponin에 관심이 집중되어 있다. 이러한 minor saponin은 생체 내에 적은 양으로 존재하여 열처리, 산처리, 효소처리에 의해 변환된 것을 연구에 이용하고 있다. 따라서 김치에서 분리한 유산균 및 그 효소를 이용하여 Rg<sub>3</sub>를 포함한 minor saponin를 대량으로 생산할 수 있는 기술을 개발하는 것에 의의를 둔다.

### 재료 및 방법 (Materials and Methods)

- 실험재료
  - 배추김치에서 esculin agar 법을 이용해 분리한 균주 6105(*Lactobacillus pentosus*)를 이용하였다.
  - Ginsenoside Rb<sub>1</sub> : 멸균 증류수에 ginsenoside Rb<sub>1</sub>을 넣어 1mM 농도로 만든 후 0.2  $\mu$ m filter로 여과멸균하여 사용하였다.
- 실험방법
  - 배양 : MRS agar plate에 30°C에서 24시간 배양하여 유도한 single colony를 MRS broth를 이용하여 30°C에서 현탁배양(160 rpm) 후, 유도물질이 1% 함유된 배지에 1%(v/v) 접종하여 현탁배양한다.
  - 조효소 추출 : 현탁배양액으로부터 12000 rpm에서 원심분리하여 얻은 배양여액을 acetone 침전법으로 효소를 침전하여 20 mM sodium phosphate buffer에 용해시켰다.
  - 반응 : 조효소추출액과 1mM ginsenoside Rb<sub>1</sub>을 각각 1:1 혼합한 후 37°C shaking incubator에서 반응시킨 후, 수포화 BuOH를 이용하여 사포닌을 추출하였다.
  - 사포닌 전환 분석 : TLC (Thin Layer Chromatography)와 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 사포닌 전환 양상을 확인하였다.

## 실험결과 ( Results)

김치로부터 분리한  $\beta$ -glucosidase 활성균주는 16S rRNA 염기서열을 이용하여 동정한 후, genebank에서 분리된 균주와 가까운 type strain을 결정하여 유연관계를 분석한 결과, *Lactobacillus pentosus* JCM 1558T와 99.2% 상동성을 가진 것을 확인하였다.

조효소액의 최적활성조건은 37°C, pH 6.0 ~7.5이며 그 중 pH7에서 가장 활성이 뛰어난 것으로 확인되었다. 유도물질 무첨가 배지의 조효소액의 반응과 lactose 첨가배지의 조효소액의 반응 비교시 유도물질 미첨가시에는 ginsenoside Rg<sub>3</sub>로 전환되었으나 lactose와 cellobiose와 같이 기질과 유사한 결합을 가진 당류를 첨가시에는 F<sub>2</sub>와 compound K로 전환되는 것을 관찰할 수 있었다.

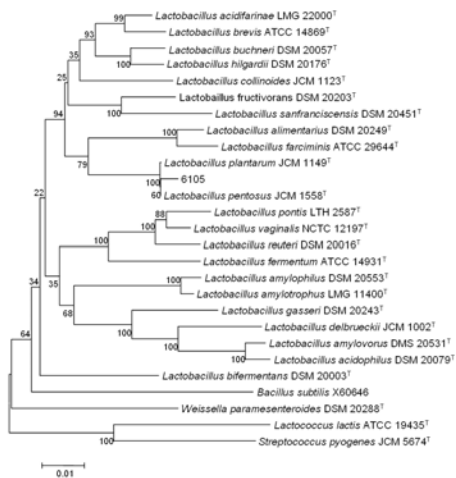


Fig. 1. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence showing by the phylogenetic relationships between strain 6105 and related species.

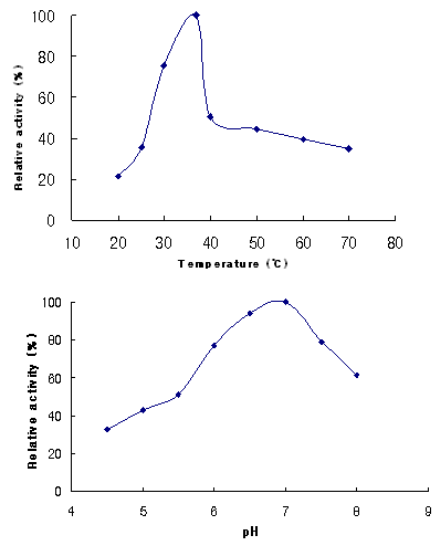


Fig. 2. Effect of temperature and pH on enzyme activity.

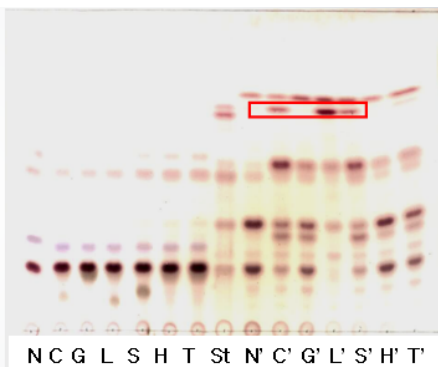


Fig. 3. Effects of carbon sources supplement on the enzyme activity.