

## 抗酵母性物質에 관한 研究 (第三報)

Vitamin 이 Astradix-P 의 作用에 미치는 影響

徐正埴, 李麟九\*, 宋邦鎬\*

慶北大學校 農科大學 農化學科

\* 慶北大學校 大學院 農化學科

Studies on the Inhibitory Substance of Yeast Growth.

Part III. Effect of the Vitamins on the Yeaststatic Activity of Astradix-P.

Jung Hwn Seu, In Koo Rhee\*, Bang Ho Song\*

Department of agricultural chemistry, college of agriculture

Kyung-Pook national university, Taegu, Korea.

\* Graduate school of Kyung-Pook university

(Received November 22, 1973)

### Abstract

In the previous paper the biological characteristics and some reaction mechanisms of Astradix-P, yeaststatic substance, were reported. Especially yeaststatic activity of Astradix-P was antagonistically inhibited by alkaline amino acids, arginine, lysine and histidine, which were added as a nitrogen source in the yeast growing medium.

In this paper the effects of alkaline nitrogen containing substance and several vitamins on the yeaststatic activity were investigated. The antagonistic action of alkaline nitrogen containing substance; adenine and vitamins; thiamine, riboflavin, pyridoxin, cobalamin, nicotinic acid, folic acid, biotin, p-aminobenzoic acid, inositol, and pantothenic acid to Astradix-P were not observed, thus evidencing that the yeaststatic activity of Astradix-P was not inhibited by a alkaline nitrogen containing substance and several vitamins.

### I. 緒 論

前報<sup>(1-2)</sup>에서 Astradix-P 에 對한 生化學的 性質 및 物質代謝에 關해 發表한 바 있으며 이들 性質中 特히 本 Astradix-P 는 酵母의 生育에 있어서 窒素의 代謝에 關係하여 酵母生育을 阻害하지만 酵母의 生育環境內에 arginine, lysine, histidine 等 alkali 性 아미노酸이 存在하면 本 Astradix-P 의 作用이 나타나지 않는다는 것을 알 수 있었다.

本 實驗에 있어서는 酵母의 生育을 促進하는 여러가지 種類의 Vitamin 및 鹽基性物質인 adenine 이 Astradix-P 의 作用에 어떠한 影響을 나타내는지에 對해서 調査하였다.

### II. 實驗材料 및 方法

#### 1. 使用菌株

本 實驗에 供試된 菌株은 慶北大學校 農科大學

應用微生物學實驗室에 保管되어 있는 *Saccharomyces coreanus* 를 使用하였다.

## 2. 培養液

本 實驗에 使用한 酵母增殖用培地는 Henneberg 培地로서 그 組成은 sucrose 10%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2%,  $KH_2PO_4$  0.5%,  $(NH_4)_2SO_4$  0.5% 이었다. 여기에 各種 Vitamin 및 其他 物質을 一定量 加하여 (最終 pH5.0) 酵母增殖用 培地로 使用하였다.

## 3. 抗酵母性 物質

本 實驗에 使用한 抗酵母性物質은 *Astragalus membrauaceus* Bunge 에서 分離한 Astradix-P 이며 *Saccharomyces coreanus* 에 對해서 ml 當 6.5 $\mu$ g 加했을 때 生長을 50% 阻害할 수 있는 ( $GI_{50}$ =6.5  $\mu$ g/ml) 抗菌力을 가진 試料을 ml 當 100 $\mu$ g 의 濃度로 加한 條件에서 實驗하였다.

## 4. 使用한 Vitamin 및 其他 試藥

本 實驗에 使用한 Vitamin 및 기타 試藥은 다음과 같다.

adenine; Wako Pure Chem. Co. Japan

yeast extract; San Kyo Pham. Co. Japan

thiamine · HCl; Iwashiro Pham. Co. Japan

nicotinic acid; Amend Drug & Chem Co. Inc.

New York

biotin; Wako Pure Chem. Co. Japan.

p-aminobenzoic acid; Nutritional Biochem.

Corp. U. S. A

folic acid; Wako Pure Chem. Co. Japan

inositol; Wako Pure Chem Co. Japan

Ca-pantothenate; Wako Pure Chem. Co. Japan

pyridoxin HCl; Daiichi Seiyaku Co. Japan

riboflavin-5'-phosphate sodium; Roche Chem.

Division Hoffmann-La Roche Inc. New Jersey

U. S. A (purity 70%)

Cobalamin; Sigma Chem. Co. U. S. A

## 5. Astradix-P 試料 添加方法

培養液에 抗酵母性 物質 Astradix-P 를 添加할 때는 試料 一定量을 培養用培地에 溶解하여, 加하고 그 最終濃度를 ml 當 100 $\mu$ g 되도록 하여으며 對照區에는 試料을 含有하지 않는 培養液을 同量添加하였다.

## 6. 培地方法

殺菌된 試驗管 (1.3cm×1.5cm)에 上記 培養液 2ml 와 試料 0.5ml 를 注入한 後 100°C 에서 10分間 殺菌한 後 菌을 接種하여 30°C 에서 30~40時間 培養하였다.

## 7. 實驗菌株의 接種方法

供試菌株의 菌體 一定量을 取하여 培地에 均一하게 懸濁한 後 그 一定量을 接種하였다.

## 8. 酵母生育度の 測定方法

液體培養에서 酵母의 增殖程度를 測定하는 가장 正確한 方法은 直接 酵母를 計測하는 方法이므로 Thoma 의 hematometer 를 使用하여 計測하였으며 그 activity 는 ml 當 酵母의 數를 나타냈다.

## Ⅲ. 結 果

### 1. Adenine 이 Astradix-P 의 抗生力에 미치는 影響

酵母 培養地에 鹽基性 物質인 adenin 을 添加했을 때 本 試料의 抗生效果에 미치는 影響을 調査하였다. 이때 adenine 의 濃度를 ml 當 0.1 $\mu$ g 에서 1,000 $\mu$ g 까지로 하여 酵母를 接種하여 30°C 에서 30時間 培養한 結果는 表 1. 에서 보는 바와 같이 抗生力에 影響을 주지 않았다.

### 2. Yeast extract 가 Astradix-P 의 抗生力에 미치는 影響

酵母培地內에 生長 factor 로써 yeast ext. 를 0.01%에서 0.5%까지 添加했을 때 本 Astradix-P 의 抗生效果는 表 2. 에서 보는 바와 같이 0.05% 以上の 濃度에서는 그 抗生力이 多少 減少하였다.

Table 1. The activity of Astradix-P on the adenine containing media for yeast growth.

Concentration of adenine	0 $\mu$ g/ml	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	100.0	1000.0
Astradix-P	2*	0	3	1	1	0	2	3
Control	419	442	571	475	469	336	370	203

\* Unit:  $2.5 \times 10^4$  cells/ml of medium.

**Table 2.** Activity of Astradix-P on the yeast extract containing media for yeast growth

Conc. of yeast extract	0%	0.01	0.03	0.05	0.08	0.10	0.30	0.50
Astradix-P	0*	0	31	135	192	313	729	800
Control	610*	1,575	1,764	1,945	2,126	2,876	2,818	3,480
growth inhibition %	100.	100	98	94	92	89	74	77

\* Unit:  $2.5 \times 10^4$  cells/ml of medium.

**3. 各種 Vitamin 이 Astradix-P 의 抗生力에 미치는 影響**

酵母의 生育에 있어서 生長 factor 로서 各種의 vitamin 을 添加했을 때 Astradix-P 의 抗生力에 미치는 影響을 調査하기 위하여 vitamin 을 ml 당

0.1 $\mu$ g 에서 100 $\mu$ g 의 濃度로 加한 後 酵母를 接種하여 30°C 에서 增殖狀態에 따라 30~40時間 培養한 結果 表 3. 에서 보는 바와같이 使用된 全 vitamin 이 本 抗酵母性物質의 抗生力에는 影響을 미치지 못했다.

**Table 3.** Activity of Astradix-P on the vitamin containing media for yeast growth.

Concentration of vitamin		0 $\mu$ g/ml	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	100.0
thiamine	Astradix-P	14	11	12	14	13	15	6
	Control	382	596	534	580	784	508	572
nicotinic acid	Astradix-P	18	14	15	12	17	20	22
	Control	340	378	564	652	558	778	450
biotin	Astradix-P	6	15	6	9	23	26	39
	Control	221	426	400	677	657	555	625
p-amino- enzoic acid	Astradix-P	33	19	36	20	4	15	8
	Control	268	494	399	397	331	462	479
folic acid	Astradix-P	12	14	13	17	15	20	30
	Control	256	343	327	304	348	292	305
inositol	Astradix-P	3	1	0	2	0	0	0
	Control	248	315	314	438	440	438	446
Ca-panto- thenate	Astradix-P	2	1	0	3	6	7	2
	Control	356	372	158	279	334	397	356
riboflavin	Astradix-P	0	2	1	1	2	1	0
	Control	317	419	433	384	421	295	348
Cobalamin	Astradix-P	3	0	0	4	1	1	0
	Control	654	707	722	684	670	637	498
Pyridoxin	Astradix-P	3	0	1	2	2	1	0
	Control	440	530	452	452	488	458	350

\* Unit;  $2.5 \times 10^4$  cells/ml of medium

#### IV. 考 察

本實驗에서 使用한 10種의 vitamin 과 鹽基性物質인 adenine 을 酵母增殖培地에 添加하여 培養하여도 Astradix-P 의 抗酵母性即 增殖阻害 使用에는 何等의 影響을 받지 않았음을 알수 있었다.

緒論에서도 말한 것과 같이 酵母增殖 培地에 Arginine, Lysine, Histidine 等 alkalin 性아미노酸이 獨立的으로나 或은 混合되어 存在하면 本 Astradix-P 의 抗菌効果는 急激히 減少하여 一定한 濃度(Arginine 의 境遇 0.1% 濃度에서) 以上에서는 全然 그 作用을 認定하지 못한다.

이와같이 鹽基性 아미노酸이 Astradix-P 에 對해서 拮抗的인 作用을 하게되는 理由가 아미노酸 그 自體의 構造 및 榮養學的인 特異성에 起因되는 것인지 或은 單順히 alkalin 性이라는 性質에 의해 나타나는 現象인지를 알고저 酵母에 對해서 榮養的利用성이 있으며 또 物質 그 自體가 alkali 性인 adenine 은 最高 1000 $\mu$ g/ml 의 濃度까지 加한 培地에 Astradix-P 를 添加하여 기 效果를 調査한 바 抗菌性的의 低下 現象이 全然 나타나지 않으므로 alkali 性 아미노酸이 Astradix-P 에 拮抗하는 原因이 아미노酸의 alkali 性에 起因되는 것이 아니고 物質代謝 過程에서 拮抗성이 나타난다고 보여진다.

또 抗菌性 物質에 他의 異物質을 加하면 그 抗菌力이 拮抗적으로 減少하는 例는 이미 發表된 바 있다.<sup>(3-5)</sup> 그 例로써 sulfanilamide 에 p-aminobenzoic acid<sup>(3)</sup>를 加했을 境遇를 들수 있다. 또 yeast extract 를 加했을 境遇 0.05% 以上에서 抗生力이 減少하였다. 그래서 yeast extract 內의 生長 factor 내지 vitamin 이 抗生力에 影響을 미칠 可能性이 있으므로 一般적으로 微生物의 生育을 促進하거나 或은 必須的으로 作用하는 여러가지 vitamin 을 加하여 調査한바 亦是 供試된 vitamin 10種 全部가

Astradix-P 의 抗菌作用에 對해서 全然 影響을 미치지 못한다는 것을 알게 되었다.

故로 本 抗酵母性 物質인 Astradix-P 가 酵母 增殖을 阻害하는 機作에 對해서 現在로서는 窒素代謝에 關與해서 酵母의 增殖을 阻害한다고 생각할 수 있다.

yeast extract 를 加했을 때 抗生力이 減少한 것은 yeast extract 中에 存在하는 鹽基性 아미노酸의 影響인 것으로 추측된다.

#### V. 要 約

抗酵母性物質인 Astradix-P 의 抗菌力은 鹽基性 아미노酸이 存在할 때 拮抗적으로 減少하였다.

今番에는 鹽基性物質 및 vitamin 이 抗生力에 어떠한 影響을 미치는가 調査한 結果 adenine 및 thiamine, riboflavin, pyridoxin cobalamin, nicotinic acid, folic acid, p-aminobenzoic acid, pantothenic acid, biotin, inositol 等에 依해서는 전혀 影響을 받지 않았다.

#### 參 考 文 獻

1. 徐正埜, 高永喜; 韓農化 15(1), 19(1972)
2. 徐正埜, 宋邦鎬, 俞春發; 韓國産業微生物學會誌, 1(1), 1(1973)
3. 兒玉桂三, 正定三; 醫化學(金原出版, 日本東京) 10版 403(1959)
4. Jawetz. E, Melnick. J.L. & Adelberg E. A.; review of microbiology (Lange medical publications, Maruzen Japan) 10Ed. 111(1972)
5. Plotz, P., Davis. B. D.; J. Bact. 83. 803 (1962)
6. Davis. B. D., Dulbecco. R., Eisen H. N, Ginsberg, H. S, Wood. W. B. JR.; Microbiology (Happer & Row U. S. A) 324(1967)