

## 人蔘 腐敗곰팡이가 人蔘 Saponin 成分變化에 미치는 影響

鄭東坤\*·朴吉童·河承秀·朱鉉圭

\*(주)일화기술연구소, 건국대학교 농과대학

## The Effect of Ginseng Saprophagous Fungi on Change of Crude Saponin Components

Dong Kon Jung\*, Kil Dong Park, Seung Soo Ha, Hyun Kyu Joo

\*Il Hwa Technology Research Instituted  
College of Agriculture, Kon Kuk University

### Abstract

Saprophagous fungi which were isolated from ginseng products were investigated the change of mycellial weight, saponin pattern and saponin contents according to culture periods at different of saponin concentration. *Aspergillus sp.* showed the greatest mycellial weight in 9 days at 0.3% saponin concentration as well as *Penicillium specise A* and *B*. Mycellial weight of all Saprophagous fungi was decreased than control group at 1.0% concentration of crude saponin. Saponin pattern were changed in 6th days of culture by *Aspergillus sp.* at 0.3% and deteriorated diol ginsenoside respectively. The amount of diol saponins was decreased all the duration of culture by *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp. B*, whereas *Penicillium sp. A* was not any change. The amont of saponin in the fresh ginseng and white ginseng medium was decreased gradually according to culture periods by the saprophagous fungi.

Key words: *Ginseng*, saponin, microorganism, fungi

### 서 론

人蔘 (*Panax ginseng C A Meger*)은 5000여년 전부터 전래되어 온 민간의약<sup>(1)</sup>으로 현대과학의 발달과 더불어 人蔘의 화학성분<sup>(2,3)</sup> 및 약리학적<sup>(4)</sup>, 임상학적<sup>(5,6)</sup> 측면에서 많은 연구가 진행되어 왔다.

人蔘의 성분에 대한 연구로서는 1954년 Gariques<sup>(7)</sup>가 Canada 인삼에서 *Panax quinguefolium*의 saponin 분리를 시작으로 朝比 등<sup>(8)</sup>은 高麗人蔘根에서 saponin 을, 近藤<sup>(9)</sup>은 *Panax sapogenol* 을, 그리고 Shibata 등<sup>(10)</sup>은 13종의 saponin 을 분리하고 ginsenoside Ro, Ra, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1 및 Rh2라고 명명하였다.

1950년 Petkove<sup>(11)</sup>가 saponin 이 人蔘의 主要藥効成分이라 究明한 이후 많은 연구가 saponin 의 생화학적, 약리학적, 임상학적 측면에서 研究 보고되었으며<sup>(12~15)</sup> 人蔘 saponin 이 微生物에 미치는 영향으로서는 Joo 등<sup>(16)</sup>이  $10^{-2}$ ~ $10^{-3}\%$  濃度에서의 *Escherichin*

*coli* 脂質합성, 단백질합성 및 핵산합성의 촉진을, 南等<sup>(17)</sup>은 초산발효 억제를, 朴等<sup>(18)</sup>과 Jung<sup>(19)</sup> 등은 각濃度에 따라서 촉진 또는 저해 등을 보고하였으며, 김등<sup>(20)</sup>은 인삼부폐균 중 *Rhizopus sp.* 가 人蔘 saponin 의 ginsenoside Rb1을 Rd로 전환시키는 효소를 생산한다고 보고한 바 있으나 이러한 미생물의 생육과 saponin 의 함량변화에 대한 연구보고는 없으므로 본 연구에서는 白蔘, 紅蔘, 水蔘 및 인삼제품 등에서 가장 잘 번식하는 곰팡이 3종을 분리하여 이들 미생물에 대한 배양기간 중 saponin 의 함량변화와 ginsenoside의 pattern 변화를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 인삼재료

市中에서 구입한 紅蔘, 水蔘, 人蔘茶 等을 材料로 사용하였다.

#### 사용균주

본 실험에서 사용된 균주<sup>(21)</sup>는 변질된 水蔘, 紅蔘,

Corresponding author: Hyun Kyu Joo, 92, Mojin-Dong  
Sung Dong-Ku Seoul 133-140

白蔘, 人蔘茶 等에서 순수분리한 균주로 동정된 3균주를 czapek 사면배지에 배양, 보관하여 사용하였다.

#### 분리균주의 접종배양

순수분리한 균주를 사면배지로부터 1백금이를 따서 czapek 액체배지 30ml를 넣은 삼각 플라스크에 접종한 후 3-7일간 정치배양한 것을 30분간 진탕하여 5분간 정치시킨 후 그 상동액을 30m의 액체배지에 각각 0.5 ml씩 접종하여 품종하였다.

#### Crude saponin의 調製

水蔘을 70% ethanol로 4시간씩 3회 가열추출한 후 그 추출액을 여과지로 여과하고 감압회전 증발농축기에서 감압농축하여 고형분 함량이 60 BX의 人蔘抽出物을 5배 양의 중류수로 회석한 다음 Shibata 등<sup>(10)</sup>의 crude saponin 추출방법에 준하였다.

#### 人蔘 crude saponin 첨가배지의 배양

30ml의 czapek 액체배지에 crude saponin을 0.3, 1.0%씩 첨가하여 120°C에서 15분간 살균한 후 분리균주 배양액 0.5ml를 첨가배양하였다.

#### 액체배지에서의 crude saponin 회수

액체배지를 여과지로 여과하여 균체를 제거한 여액을 동량의 ethyl ether로 3회 추출하여 ether 가용성 물질을 제거하고 crude saponin 조제법과 동일한 방법으로 하였다.

#### Crude saponin 함량의 측정

분리된 crude saponin의 함량은 중량법에 따라 분석하였고 saponin pattern은 일정량을 취하여 2ml methanol에 용해하고 0.45 μm microfilter로 여과한 후 20 μl씩 HPLC에 주입하였으며 분석조건은 다음과 같다.

HPLC는 Beckman gradient liquid chromatograph(334, USA)와 Licosorb-NH<sub>2</sub> column(4 mm×30 cm stainless steel)을 사용하였고 용매는 Acetonitrile : H<sub>2</sub>O : BuOH (80 : 20 : 15)로 하였으며 검출기는 RI detector를 사용 측정하였다.

#### 균체량의 측정

Czapek 액체배지에 분리균주를 接種하여 배양한培

養物을 여지(Toyo filterpaper No. 2)로 여과하고 여지상의 菌體를 중류수로 세척한 후 105°C에서 4시간 건조한 것을 균체량으로 하였다.

#### 인삼 부패과정 중 인삼 saponin 소모량 측정

수삼 30g, 건삼 20g을 각각 정확히 평량한 후 15 mesh로 분쇄하고, 水蔘은 수분함량 70%, 건삼은 수분함량 50%로 조정한 다음 100ml 삼각플라스크에 넣고 120°C에서 15분간 감압살균 후 분리된 각 균주 배양액을 1ml씩 접종 배양하고 Shibata<sup>(10)</sup>의 crude saponin 분리방법에 따라서 평량하여 초기배양 전의 crude saponin 함량에서 배양 후 saponin 함량을 제한차이의 양을 saponin 소모량으로 계산하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 人蔘 saponin 첨가와 인삼부패균의 생육

분리된 3種의 腐敗微生物을 0.3, 1.0%에서 生育시킨 후 菌體量을 조사한 것은 Fig. 1-3과 같다.

*Aspergillus* sp.와 *Penicillium* sp.-A와 B로 분리된 미생물은 인삼 saponin 0.3% 첨가에서는 매우 급속적으로 증가하였으나 1.0%에서는 균체량이 대조군과 같은 경향이었으며 10일 이후부터는 균체량이 현저히 감소되었다.

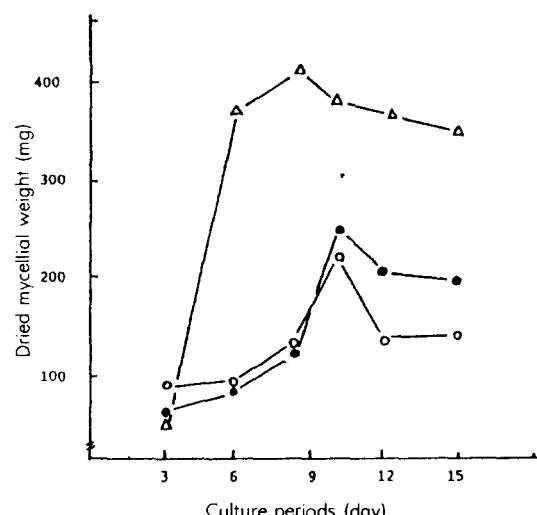


Fig. 1. Effect of ginseng saponin on the mycelial growth of *Aspergillus* sp. ●—●: control, ○—○: 1.0% saponin add, △—△: 0.3% saponin

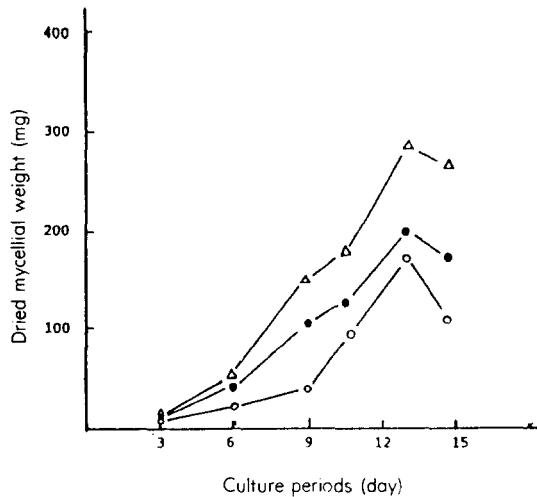


Fig. 2. Effect of ginseng saponin on the mycellial growth of *penicillium* sp. -A. ●—● : control, ○—○ : 1.0% saponin add, △—△ : 0.3% saponin add

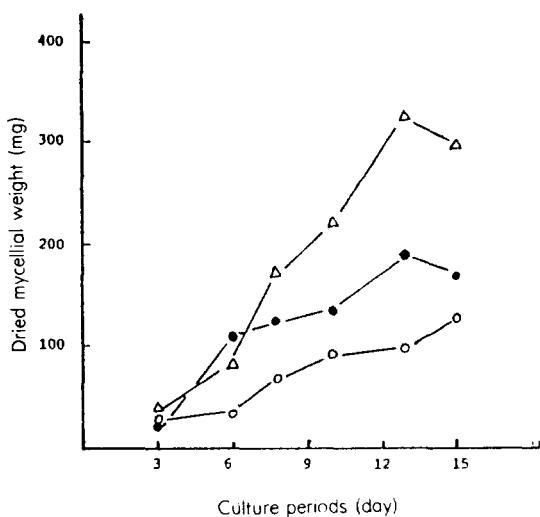


Fig. 3. Effect of ginseng saponin on the mycellial growth of *penicillium* sp. -B. ●—● : control, ○—○ : 1.0% saponin add, △—△ : 0.3% saponin add

이것은 1.0%에서 *Aspergillus* sp.가 saponin 첨가에 의한 균체의 생육저해를 받은 것으로 사료된다. *Penicillium* sp.-A도 0.3%에서 대조군보다 균체량의 증가가 있었으나 1.0%에서는 대조군보다 감소되는 것으로 보아 생육저해를 받는 것으로 보여지며 *Penicillium* sp.-B에서도 같은 양상을 보였다.

季等<sup>(22)</sup>의 효모 세포수 및 건조 酵母균체량이 0.3%

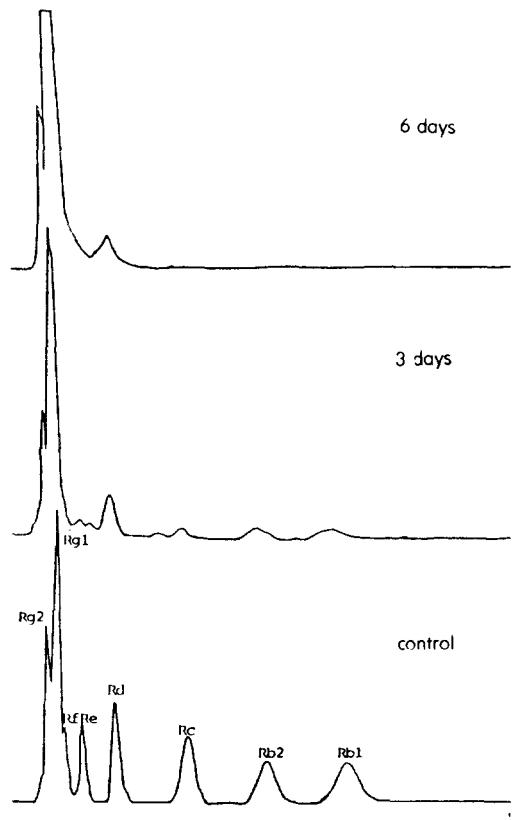


Fig. 4. Changes of saponin patterns by *Aspergillus* sp. in the medium containing 0.3% of saponin with the periods of culture.

에서 현저하게 높았다는 보고와 일치되며, 朱等<sup>(16)</sup>의 saponin 첨가量이  $10^{-2}$ ~ $10^{-3}$ %일때 *E. coli*의 지질 및 단백질 핵산합성을 촉진하였다고 한 결과와 농도에서는 다르지만 saponin의 첨가量에 따른 생육촉진 및 생육저해 작용이 있는 것과 유사하였다. 한편 朴<sup>(23)</sup>과 양等<sup>(24)</sup>은 인삼 crude saponin이 *Fusarium solani*와 *Erwinia carotora* 및 *Lactobacillus acidophilus*, *Streptomyces thermophilus* 등의 균체증식에 아무런 영향을 주지 않는다고 한 보고와는 상반되는 결과이나 이는 균주의 생리적 특성, crude saponin의 농도, 배양조건 등의 차이에서 기인되는 것으로 고려된다.

#### *Aspergillus* sp.에 의한 人蔘 saponin의 變化

人蔘 crude saponin을 0.3, 1.0%되게 각각 첨가한 czapek 액체배지에 *Aspergillus* sp.를 각각 접종한 후 3, 6일 동안 배양하고 그 배양물로부터 crude

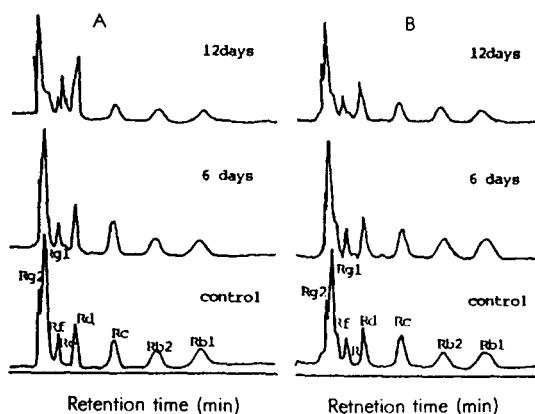


Fig. 5. Changes of saponin patterns by *penicillium* sp. -A in the medium containing 0.3%(A) and 1.0%(B) of saponin with the periods culture.

saponin을 분리하여 HPLC pattern을 본 것은 Fig. 4와 같다.

HPLC pattern 상에서 0.3% 인삼 crude saponin 첨가는 초기에 변화가 없었으나 배양 3일에서는 감소되는 경향이 있으며 6일에서는 diol 계 saponin의 pattern은 검출되지 않았다. 1.0% 인삼 crude saponin 첨가에서는 3일 배양했을 때 인삼 saponin 패턴에 별다른 변화가 없었으나 6일째 배양하였을 때 diol 계 saponin의 함량이 감소되어지고 triol 계 saponin은 ginsenoside Re만 감소되고 반면에 Rg2는 현저히 증가하는 양상을 보였다.

이것은 *Aspergillus* sp.가 생성하는 酶素에 의해서 diol 계 saponin이 분해되어 20(S)-proto-panaxadiol로, triol saponin Re는 C-20 위치의 glucose 한 분자가 떨어져서 Rg2로 전환되어지는 것으로 추정된다.

이것은 Shibata 等<sup>(25)</sup>과 Yosioka 等<sup>(26)</sup>이 묽은 염산이나 粗 hesperiainase 등의 효소에 의해 saponin의 glucoside 結合의 糖部分이 점차 加水分解되어 ginsenoside Rb1은 20(S)-protopanaxadiol로 triol 계 saponin인 ginsenoside Rg1은 20(S)-proto panaxatriol로 전환된다고 한 것과 일치된다.

#### *Penicillium* sp. A 및 B에 의한 人蔘 saponin의 변화

人蔘 crude saponin을 첨가한 培地에 *Penicillium* sp.-A를 접종하여 배양한 후 saponin의 pattern 변화를 본 것은 Fig. 5와 같다.

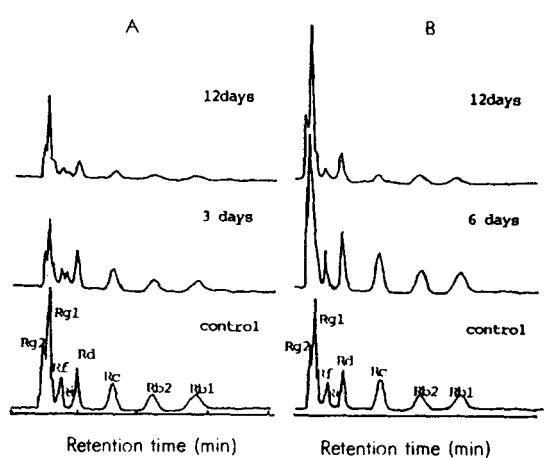


Fig. 6. Changes of saponin patterns by *penicillium* sp. -B in the mdeium containing 0.3%(A) and 1.0%(B) of saponin with the periods of culture.

0.3%를 첨가하여 배양한 배지에서는 12일까지 saponin의 pattern 變化가 없었으며 배양기간에 따른 상대적 함량변화도 없었다. 또한 1% 첨가한 培地에서도 0.3% 첨가한 것과 같이 saponin의 pattern 상에 차이가 없어 *Penicillium* sp.-A에 의한 saponin의 pattern에 영향을 주는 酶素나 生成物이 생성되지 않는 것으로 추정된다.

또한 *Penicillium* sp.-B에 의한 人蔘 saponin의 pattern 變化를 본 것은 Fig. 6과 같다.

0.3%의 人蔘 saponin을 첨가하여 배양 6일까지는 saponin의 pattern에 변화는 없었으나 배양기간이 지나면서 상대적으로 감소되어 배양 12일에는 많은 함량의 차이를 나타냈다.

특히 12일 배양에서 diol 계 saponin의 분해가 많이 일어났으며 그 양상도 *Aspergillus* sp.에 의한 triol 계 ginsenoside Re가 감소되는 반면에 ginsenoside Rg2가 현저하게 증가하는 경향으로서 saponin 첨가농도에 관계없이 상대적으로 감소되었다.

金 等<sup>(20)</sup>은 人蔘 부파세균 중 *Rhizopus* 속에 속하는 한 균주가 인삼 saponin의 ginsenoside Rb1의 C-20 위치에 결합된 두 분자의  $\beta$ -1, 6 결합의 glucose 한 분자를 가수분해하여 ginsenoside Rd로 전환시키는  $\beta$ -1, 6 glucosidase의 일종이라고 보고한 것과는 다르나 *Aspergillus* sp.나 *Penicillium* sp.-B는  $\beta$ -1, 2  $\beta$ -1, 6 arabinose,  $\beta$ -1, 6 glucose, rhamnose- $\beta$ -1, 2 glucose 結合을 加水分解하는 좀 더 다양한 분해양상을 띠는 酶素라고 생각된다.

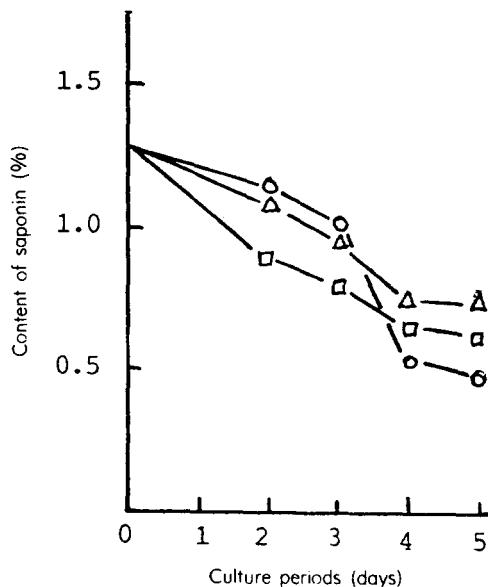


Fig. 7. Changes of the contents of saponin by *Aspergillus* sp. (-○-) *Penicillium* sp. -A(-△-), *Penicillium* sp. -B(-□-) with the periods of culture in raw ginseng medium.

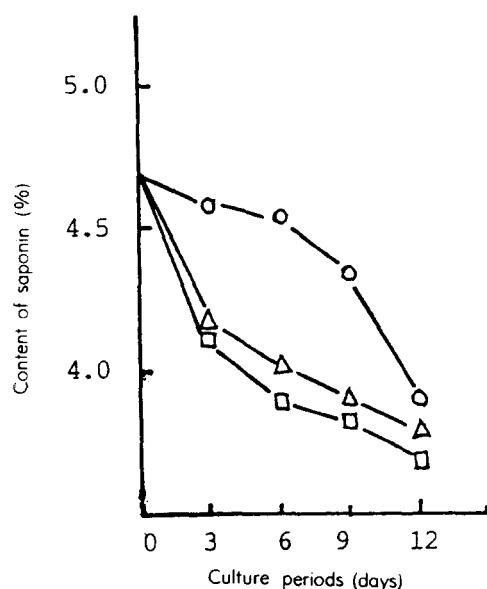


Fig. 8. Changes of the contents of saponin by *Aspergillus* sp. (-○-) *Penicillium* sp. -A(-△-), *Penicillium* sp. -B(-□-) with the period of culture in raw ginseng medium.

#### 人蔘 부패과정 중 人蔘 crude saponin 含量變化

인삼 부패과정 중 수삼배지에서 본 crude saponin 함량의 변화는 Fig. 7과 같다. 배양 전 수삼배지의 crude saponin 함량은 1.22%이었으나 배양기간이 경과하면서 saponin 함량은 점차 감소하여, *Aspergillus* sp.를 5일 배양한 경우에서는 초기의 함량에 52%가 감소되었으며 *Penicillium* sp. -A에서는 28%, *Penicillium* sp. -B에서는 39%가 감소되었다.

한편 乾蔘培地 中 *Aspergillus* sp. 및 *Penicillium* sp. -A 및 B에 대한 crude saponin 소모량을 본 것은 Fig. 8와 같다.

*Aspergillus* sp.에 saponin 소모량은 水蔘培地에서와 같이 배양초기에는 감소량이 적었으나 培養 9일以後부터는 급격한 감소를 보여 배양 12일에는 초기의 22%가 감소되었으며, *Penicillium* sp. -A와 B는 초기에서 배양 3일에 crude saponin 함량의 감소가 많았고 그후부터는 비교적 완만한 감소를 나타내 초기보다 22%와 25%의 감소를 나타내었다.

水蔘培地와 乾蔘培地에서 상호비교해 보면 *Aspergillus* sp.나 *Penicillium* sp. -A, B에서 모두 감소되는 경향이었으며 특히 乾蔘의 培地에서보다 水蔘의 培地에서 saponin의 함량감소가 큰 것은 水蔘이 乾蔘보다 水分含量이 많고 그 조직이 유연하기 때문에 분리균주의

생육이 빠르기 때문이라 사료되며 saponin 함량의 감소는 미생물이 생육하는데 영양원으로 이용하였거나 이들이 생성한 酶素에 의한 분해 때문인 것으로 사료된다.

#### 要 約

부패한 人蔘 및 人蔘製品에서 분리된 3종의 微生物을 人蔘 crude saponin 농도를 달리한 czapek 배지 등에 배양하여 그 배양 미생물에 의한 ginsenoside의 pattern과 함량변화를 조사하였다.

*Aspergillus* sp.는 0.3%에서 최대의 균체량을 9일에서 나타냈으며 *Penicillium* sp. -A와 B도 같은 경향이었고, 1.0%에서는 대조군보다 균체 증가량이 낮았다.

인삼 saponin pattern의 변화는 *Aspergillus* sp.를 6일 배양하였을 때 0.3% 첨가한 경우 diol 계 saponin이 완전히 분해되었고 1% 첨가 배양에서는 상대적인 함량의 차이가 있었다. *Penicillium* sp. -A는 saponin pattern 변화에 영향을 주지 않았으며, *Penicillium* sp. -B는 배양 12일에서 diol 계 saponin이 감소하였다.

또한 水蔘培地 및 乾蔘培地에서 부패미생물은 人蔘

crude saponin 含量을 강소시키었다.

## 문 헌

1. 金村柄：人蔘藥用歴史の概梗 人蔘史(V), 思文閣, 京都, 13-75(1965)
2. 정진섭：한국산 인삼에 관한 연구(1). 생약학회지, 5 (3), 173-177(1974)
3. 우인근, 한병훈, 박대성, 나운용：한국산 및 외국산 인삼의 성분비교. 생약학회지, 4 (4), 118-184(1973)
4. 고동성, 전세열：한국산 인삼의 여러가지 약리작용과 세포 표면막들에 대한 영양과의 상관관계. 생약학회지, 11 (1), 17-28(1978)
5. 오진섭, 임정규, 박채웅, 한민자：인삼이 고혈압에 미치는 영향. 대한약리학잡지, 4 (27), (1968) .
6. Kim, H.C.:Effects of ginseng and vacin on lipid metabolism in rabbits. *Insam Munhun Teukjip*, 1, 129(1962)
7. Gurriques, S.S.: On panaquilon, a new begetable substance. *Ann. Chem. Pharm.*, 90, 231-234(1954)
8. 朝比泰彦, 田口文太：人蔘の成分. 日本學雜誌, 26, 549-559(1906)
9. 近藤平三郎, 天野梅太郎：高麗人蔘の成分. 日本藥學雜誌, 35, 779(1926)
10. Shibata, S., O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima and T. Oshawa:Chemical studies on oriental plant drugs(IV). *Chem. Pharm. Bull.*, 14(6), 559(1966)
11. Petkov, W.:Pharmacodynamic of *panax ginseng*. *Arch. Expt. Pathol. Pharmakol.* 236, 298-299(1959)
12. 金夏植：朝鮮人蔘の各種成分, 製糖作用. 朝鮮醫學雜誌, 22(3), 221(1932)
13. Petkov. W:Pharmacological studies of the drug *panax ginseng C.A. Meyer*. *Arznein. Forsch.* 9, 305 -311(1959)
14. Yamamoto, M.A. Kumaga. and Y. Yamamura: Metabolic actions of ginseng principles in bone marrow and testis. *Korean ginseng studies*(Vol. 1) Published by lab. IL HWA CO. Ltd. 552-561(1977)
15. Yamamoto, M. et al.: Stimulatory effect of *panax ginseng* Principleson DNA, RNA, Protein and lipid synthesis in ratbone marrow. *Arzneimittel Forsch.*, 27(6), 1169-1173(1977)
16. Joo, C.N., Y.D. Cho and H.Y. Kwon:Biochemical studies on ginseng Saponins(XII), The effect of ginseng saponins on bacterial growth. *Korean Biochem. J.* 11 (2), 125(1978)
17. 南成熙, 劉太種：人蔘成分이 酶酵發酵에 미치는 影響에 關한 研究(第一報), (第 報), 高麗人蔘學會誌, 4 (2), 121-145(1980)
18. 박세호, 유태종, 이석근：인삼성분이 효모의 알코올 빌효에 미치는 영향(1), 고려인삼학회지, 5 (2), 139 -147(1978)
19. 정노팔：연세논총, 13, 119(1976)
20. 金相達：*Rhizopus*屬菌株의 酶素에 의한 人蔘 saponin의 轉換. 慶大博士學位論文(1980)
21. 정동곤, 박길동, 하승수, 주현규：인삼 부패곰팡이의 형태 및 생리학적 특성에 관한 연구. 산업미생물학회지, 14(5), 391-397(1986)
22. 주현규, 이교철：인삼추출물이 *Saccharomyces cerevisiae* 생리에 미치는 영향. 고려인삼학회지, 13(2), 95-104 (1979)
23. 박창석, 오승환：人蔘조 사포닌과 조증액이 인삼균부병균 *Fusarium solani*와 *Erwinia carotovora*의 생육에 미치는 영향. 한국식물보호학회지, 20(1), 1(1981)
24. 양재원, 유태종：인삼 Extracts가 유산균의 생육에 미치는 영향. 고려인삼학회지, 3 (2), 113(1979)
25. Shibata, S., M. Fujita and H. Itokawa:The structure of panaxdiol and sapogenin of ginseng. *Tetrahedron Lett.*, 10, 419(1962)
26. Yosioka, I., Sugawara T., Imai, K. and Kitagawa: Soil bacterial Hydrolysis leading to genuine aglycone, on ginsenoside -Rb1 -Rb2 and Rc of the ginseng root saponins. *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 2418(1972)

(1988년 11월 4일 접수)