

합성 배지에서 *Aspergillus parasiticus* 의 Aflatoxin 생성에 미치는 인삼 saponin 과 그 관련물질의 영향

전홍기 · 조영배 · 박건영*

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

*부산대학교 가정대학 식품영양학과

Effects of Ginseng Saponin and Its Related Materials on Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in Synthetic Medium

Jun, Hong-Ki, Young-Bae Jo and Kun-Young Park*

Department of Microbiology, College of Natural Sciences Pusan National
University, Pusan 607, Korea

*Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Pusan National
University, Pusan 607, Korea

Abstract: A study was carried out to determine the effect of ginseng saponin and its related materials on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in glucose-salts(GS) medium. Maximal growth of the mold and AF production in the medium occurred after 5 and 9 days at 28°C, respectively. When various concentrations of saponin added to the medium aflatoxin synthesis were significantly reduced ($p < 0.05$) compared to the control after 9 days at 28°C. 0.05% of saponin inhibited aflatoxin production most effectively in the low concentrations of saponin (0.01-0.2%) and the toxin synthesis reduced with an increasing concentrations of saponin in the high concentrations (0.03-5.0%). Various concentrations (0.01-1.0%) of saponin diol and triol in the media also caused to reduce aflatoxin synthesis by the mold ($p < 0.05$). All saponin fractions were found to decrease aflatoxin production significantly. Saponin fraction numbers of 1, 2, 4 and 6 were shown to reduce aflatoxin production effectively, and the number 1 was the most effective. Addition of 0.05% of nucleic acid related materials to the medium reduced aflatoxin production ($p < 0.05$). Aflatoxins could not be found in broth at all, but in mycelia when 0.05% of caffeine was added to the medium. Aflatoxin synthesis was well correlated with total lipid synthesis, growth and glucose uptake. When aflatoxin synthesis inhibited (5.0% of saponin) both total lipid synthesis and growth were stimulated and the efficiency of glucose utilization was reduced.

Key words: *Aspergillus parasiticus*, Aflatoxin, Ginseng saponin

곰팡이에 의해 생성되는 독소 중 Aflatoxin(AF)은 독성과 돌연변이성 및 발암성이 매우 강하다는 것이 이미 입증되었다(Heachcote 등, 1978). AF 생성균의 성장 및 AF 생성은 물리적, 화학적

또는 생물학적 요인들에 의해 영향을 받으며 수분, 온도, 통기량, pH, 영양성분 등이 중요한 요인들로 작용한다(Park, 1984). 특히 기질의 조성 에 따라 크게 영향을 받으며 AF 생성에 가장 좋

은 탄소원으로 sucrose, glucose, fructose 등이, 무기 질소원은 ammonium sulfate와 potassium nitrate가, 단순아미노산으로는 glycine과 glutamic acid 등이 알려져 있다(Diener 등, 1969). 前報(전등, 1986)에서 yeast extract가 함유된 반합성 배지를 이용하여 인삼 성분이 AF 생성에 미치는 영향에 대해 검토하였다. 그러나 AF 생성에 미치는 yeast extract의 영향이 불분명하기 때문에 AF 생성에 인삼 성분이 직접적으로 작용하였는지는 알 수 없다. 따라서 본 연구에서는 반합성 배지를 이용한 前報(전등, 1986)의 실험 결과를 좀 더 명확히 검토하고자 AF 생성에 가장 좋은 기질들로 구성된 Marth 등(1971)이 고안한 합성배지(Glucose-Salts 배지)를 이용하여 인삼 성분이 AF 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 실험방법은 前報(전등, 1986)와 동일하나 사용배지는 yeast extract sucrose (YES) 배지 대신 Marth 등(1971)이 고안한 Glucose-Salts 배지를 사용하였으며 그 조성은 1000ml 증류수에 glucose 50g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 6g, KH_2PO_4 5g, K_2HPO_4 6.4g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, Glycine 2g, Glutamic acid 2g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5mg, MnSO_4 1mg을 함유한 것으로 초발 pH 6.0이었다.

실험결과 및 고찰

배양시간에 따른 균의 증식과 AF 생성

*Aspergillus parasiticus*가 Glucose-Salts 배지에서 성장할때 Fig.1에서와 같이 균체 증식이 YES 배지(전등, 1986)에서보다 매우 불량하였으나 전반적인 생육 pattern은 YES 배지에서와 거의 유사하였다. AF 생성은 배양 9일째에 최대치를 나타내었고, pH는 배양 6일째에 3.3 부근까지 떨어졌다가 이후 계속 증가하였다. 특히 AF 최대 생성을 보인 배양 9일째의 경우 상당량의 AF이 배양액에 존재하였으며 AFG₁이 AFB₁과 거의 비슷한 양으로 검출되었다. YES 배지(전등, 1986)의 경우 AF의 대부분이 AFB₁이었으나

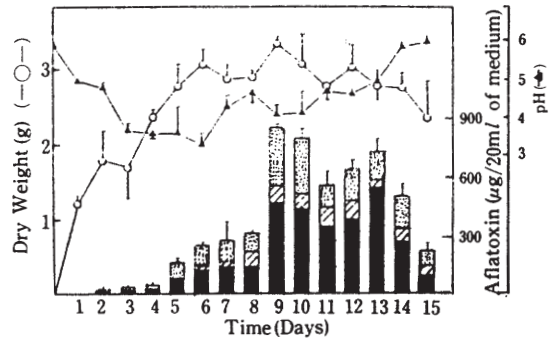


Fig.1. Relationship of dry weight, changes in pH and aflatoxin production [B_1 : (Broth), (Mycelium); G_1 : (Broth), (Mycelium)] during incubation of *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium at 28°C. The vertical bars represent one standard deviation.

Glucose-Salts 배지의 경우 AFG₁도 상당량 생성되었다.

농도별 인삼 saponin의 영향

YES 배지(전등, 1986)에서와 같이 AF 생성이 가장 많았던 배양 9일째를 배양시간으로 설정하여 saponin 첨가 효과를 검토하였다. 균체 증식

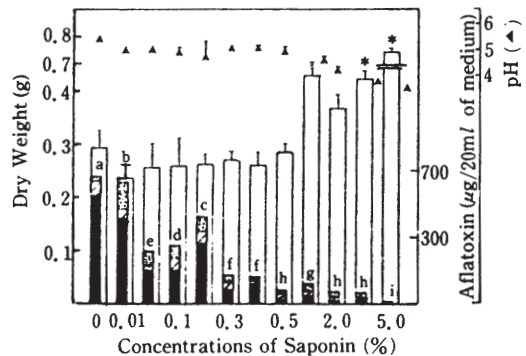


Fig.2. Growth and aflatoxin production [B_1 : (Broth), (Mycelium); G_1 : (Broth), (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium containing various concentrations of saponin (%) after 9 days at 28°C. Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). * indicates that the bars for growth are significantly different from the control by Student's t test ($p < 0.05$).

및 AF 생성에 대해 saponin 첨가군과 대조군을 비교하였을 때 Fig.2에서와 같이 통계적인 유의성 ($p < 0.05$)을 보였으며 전반적으로 saponin 첨가군에서 AF 생성이 억제되었다. saponin 0.05% 첨가시 AF 생성이 저해되었으나 saponin 0.1, 0.2% 첨가시 0.05% 첨가때보다 AF 생성이 다소 증가되었다. 그러나 saponin 0.3% 첨가시 대조군의 약 1/5 정도로 AF 생성이 저해되었으며, 첨가 농도가 높아질수록 AF 생성이 저해되어 saponin 5.0% 첨가시 아주 미량의 AF만이 생성되었다. 특히 saponin 5.0% 첨가시 균체량은 saponin 3.0% 첨가시와 같이 대조군과 통계적 유의성 ($p < 0.05$)을 보이면서 증가되어 약 2 배의 균체 증식을 보였다. 결국 고농도의 saponin을 첨가할 경우, 대조군에 비해 균체량은 상당량 증가했으나 AF 생성은 크게 감소되어 YES 배지(전등, 1986)에서와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 YES 배지(전등, 1986)에서 saponin 5.0% 첨가시 AF 생성이 완전히 저해되었지만 Glucose-Salts 배지의 경우에는 소량의 AF이 생성되어 완전한 저해는 일어나지 않았다.

농도별 saponin diol 및 triol의 영향

배지내에 saponin diol 및 triol을 농도별로 첨가하였을 때 Fig.3과 같이 모든 농도에서 AF 생성이 상당히 저해되었다 ($p < 0.05$). diol 0.01% 첨가시 균체량 및 AF 생성이 대조군에 비해 상당히 감소되었으나 diol 0.05, 0.1%에서는 AF 생성이 0.01%에서보다 다소 증가되었다. 그러나 diol 1.0% 첨가시 균체량이 대조군보다 상당량 증가 ($p < 0.05$)한 반면 AF 생성은 크게 감소되었다. triol 0.01% 첨가시 diol 0.01% 첨가시와 마찬가지로 균체량과 AF 생성량이 대조군보다 상당히 감소되었으며, 대부분의 농도에서 통계적 차이 ($p < 0.05$)는 있었지만 AF 생성이 고르게 저해되는 현상을 나타내었다. saponin diol 및 triol의 농도가 증가함에 따라 배지내의 pH는 감소하였으며 균체량은 오히려 증가하였다. 결국 YES 배지(전등, 1986)에서는 saponin diol 및 triol이 AF 생성 저해에 별다른 영향을 미치지 못하였으나 Glucose-Salts 배지에서는 saponin diol 및 triol에 의한 AF 생성 저해가 명확하게 나타났다.

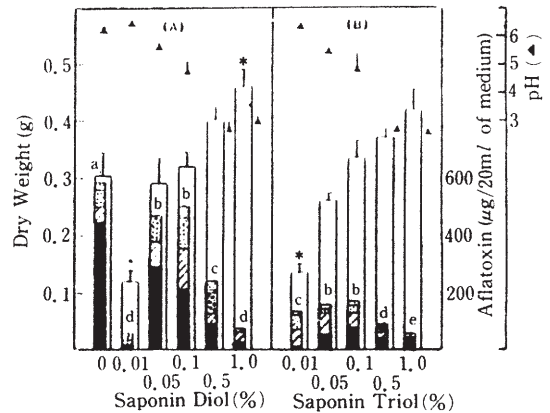


Fig.3. Growth (□) and aflatoxin production [B_1 : ■ (Broth), ▨ (Mycelium); G_1 : ▤ (Broth), ▥ (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium containing various concentrations of saponin diol(%, A) and triol(%, B) after 9 days at 28°C. Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). * indicates that the bars for growth are significantly different from the control by Student's test ($p < 0.05$).

인삼 saponin fraction의 영향

인삼 saponin fraction을 0.05% 첨가하였을 때 Fig.4에서 보는 바와 같이 모든 fraction에서, 균체량은 대조군과 별 차이가 없었으나 AF 생성량은 감소되는 경향을 나타내었다 ($p < 0.05$). 특히 panaxatriol계 saponin인 Rg_2 가 주성분이며 Rg_1 성분이 혼적량 들어있는 fraction 1은 AF 생성을 가장 많이 저해하였으며, panaxatriol계 saponin인 Rg_1 , Rf , Rg_2 로 구성된 fraction 2, panaxadiol계 saponin인 Rd 가 주성분인 fraction 4, panaxadiol계 saponin Rb_2 , Rc 가 주성분인 fraction 6도 AF 생성 저해에 효과적이었다. YES 배지(전등, 1986)에서는 fraction 3과 7이 AF 생성을 오히려 자극하였고 fraction 1, 2, 4, 5, 6은 AF 생성을 저해하였다. 그러나 Glucose-Salts 배지에서는 모든 saponin fraction이 AF 생성을 저해하였으며 특히 fraction 1, 2, 4, 6이 AF 생성 저해에 효과적으로 작용하였다. 세균의 항균활성을 나타내는 인삼 saponin의 성분이 panaxatriol계 saponin인 Rg_1 과 panaxadiol계

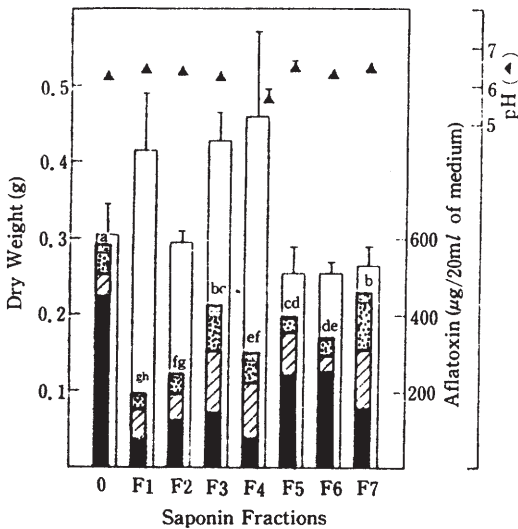


Fig. 4. Growth (□) and aflatoxin production [B₁; ■ (Broth), ▨ (Mycelium); G₁; ▤ (Broth), ▥ (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium containing 0.05% of saponin fraction (F) after 9 days at 28°C. Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

saponin 인 Rd 었다는 전등(1982)의 결과로 미루어 볼 때 AF 생성도 saponin 의 특정한 성분들에 의해 저해되는 것 같다.

각종 핵산관련물질의 영향

핵산관련물질을 0.05% 첨가했을 때 Fig. 5에서와 같이 AF 생성을 크게 저해하는 효과를 나타내었다 ($p < 0.05$). Guanosine 과 caffeine 의 경우 균체 증식도 크게 저해 ($p < 0.05$) 하였으며, caffeine 첨가시 AF 생성이 크게 저해를 받았고 YES 배지(전등, 1936)에서와 같이 생성된 AF 은 균체내에서만 존재하였다. saponin 에서 발견되는 Adenosine 을 첨가한 경우에도 역시 AF 생성을 크게 저해하여 YES 배지(전등, 1986)의 결과와 일치하였다. Adenine 및 Cytosine 첨가시 YES 배지(전등, 1986)에서는 대조군에 비해 AF 생성량이 상당히 증가한 반면 Glucose-Salts 배지에서는 AF 생성량이 오히려 감소되어 서로 상반된 결과를 나타내었다.

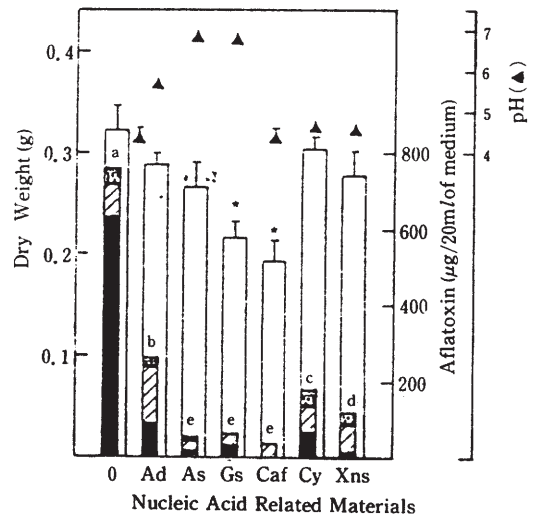


Fig. 5. Growth (□) and aflatoxin production [B₁; ■ (Broth), ▨ (Mycelium); G₁; ▤ (Broth), ▥ (Mycelium)] by *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium containing 0.05% of nucleic acid related materials (Ad; adenine, As; adenosine, Gs; guanosine, Caf; caffeine, Cy; cytosine, Xns; xanthosine) after 9 days at 28°C. Data are means \pm SD of three determinations. Bars for aflatoxin production not surmounted by the same letters are significantly different by the Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). * indicates that the bars for growth are significantly different from the control by Student's *t* test ($p < 0.05$).

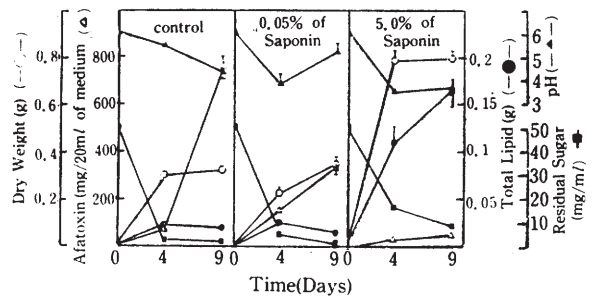


Fig. 6. Relationship of dry weight, glucose uptake, changes in pH, and synthesis of aflatoxin and total lipid during incubation of *Aspergillus parasiticus* in Glucose-Salts medium at 28°C. The vertical bars represent one standard deviation.

인삼 saponin 첨가시 total lipid 및 잔당의 변화

Fig. 6과 같이 대조군과 saponin 0.05% 첨가군

의 total lipid 생성량은 배양 4 일째까지 증가하다가 AF 생성이 급격히 일어나는 4 일째 이후부터 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. saponin 5.0% 첨가군의 경우 전 배양기간동안 AF 생성량은 매우 적었으나 배양 9 일째의 균체량은 대조군의 2 배 이상, total lipid 는 10배 이상 생성되었다. 대조군과 saponin 0.05% 첨가군의 경우 탄소원은 AF 생성량과 비례하여 급격히 이용되었으나,

saponin 5.0% 첨가시 이보다는 서서히 이용되었다. 결국 이러한 결과는 YES 배지(전등, 1986)의 경우와 일치하였으며, AF 생성에는 당의 빠른 이용이 필요하고, saponin 에 의해 AF 생합성 경로가 차단될 때 AF 생합성에 필요한 기질들이 균체증식 및 lipid 생합성에 이용된다고 생각되어 이에 관련한 연구가 더 필요하다고 사료되었다.

적 요

합성배지인 Glucose-Salts 배지에서 인삼 saponin 과 그 관련 물질이 *Aspergillus parasiticus* 의 Aflatoxin 생성에 미치는 영향에 대해 검토하였다.

배양시간에 따른 균체 증식은 배양 5 일째 이후가 최대였고 Aflatoxin 생성은 배양 9 일째가 최대였다.

인삼 saponin 0.05% 첨가시 균체 증식과 Aflatoxin 생성이 대조군보다 상당량 감소되었고, 5.0% 첨가시 균체 증식은 대조군보다 증가하였으나 Aflatoxin 생성은 매우 감소되었다.

Saponin diol 및 triol 의 농도별 첨가시 diol 0.01, 1.0%와 triol 0.5, 1.0%가 Aflatoxin 생성 저해에 효과적이었다.

Saponin fraction 첨가시 fraction 1이 Aflatoxin 생성 저해에 가장 효과적이었다고 fraction 2, 4, 6도 상당한 효과가 있었다.

핵산 관련 물질 첨가시 Adenine, Adenosine, Guanosine, Caffeine, Cytosine 및 Xanthosine 첨가군 모두 대조군에 비해 Aflatoxin 생성 저해에 효과적이었다고, Caffeine 의 경우 균체내에서만 Aflatoxin 을 검출할 수 있었다.

Saponin 5.0% 첨가시 Aflatoxin 생성이 매우 저해된 반면 total lipid 의 양은 대조군의 10배, 균체 증식은 약 2 배 이상 증가되었다.

REFERENCES

1. Diener, U.L. and Davis, N.D., 1969. In "Aflatoxin". Academic press, New York, 13.
2. Heathcote, J.C. and Hibbert, J.R., 1978. In "Aflatoxins: Chemical and Biological Aspects". Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
3. Jun, H.K. Park, K.Y. and Jo, Y.B., 1986. Effects of Ginseng Saponin and Its Related Materials on Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in Semisynthetic Medium. *Kor. J. Microbiol.*, 24, 288-294.
4. Jun, H.K. Kim, S.H. and Lee, J.K., 1982. Studies on the Physiological Activity of Korean Ginseng: (Part 1) The Effects of Ginseng Components on the Growth of Bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 10, 101-108.
5. Marth, E.H. and Shih, C.N., 1971. A procedure for rapid recovery of Aflatoxins from cheese and other foods. *J. of Milk and Food Tech.*, 34, 119-123.
6. Park, K.Y., 1984. Aflatoxin: Factors Affecting Aflatoxin Production *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 13, 117-126.

(Received Aug. 16, 1986)