

人蔘Extract의 腐敗性 微生物의 分離 및 同定

梁宰源 · 金永培* · 劉太鍾*

韓國人蔘煙草研究所 *高麗大學校 食品工學科
(1985년 10월 2일 수리)

Isolation and Identification of Spoilage Microorganism from Ginseng Extract.

Jai Won Yang, Young Bae Kim* and Tae Jong Yu*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute
*Dept. of Food Technology, Korea University, Seoul
(Received October 2, 1985)

To find the bases for the preservation of red ginseng extract, the o-nophilic yeast was isolated from the spoiled red ginseng extract. The isolated yeast was identified as a strain of *Candida parapsilosis*.

대부분의 인삼가공제품은 인삼추출농축액이나 분말을 원료로 하는 경우가 많으므로 인삼추출농축액의 제조를 상당히 중요하게 취급하고 있다. 인삼추출농축액은 그 구성 성분⁽¹⁾으로 보아 미생물이 이용할 수 있는 탄소원, 질소원, 무기물 및 기타 미량 성분등 모든 영양원을 풍부하게 갖추고 있으나 수분함량이 40%수준을 유지할 경우 가공과정중에서 생성된 일부 갈색화반응 생성물등^(2,3,4)의 미생물 생육 억제작용⁽⁵⁾에 의하여 미생물에 의한 변질은 거의 없을 것으로 생각되어 왔다. 그러나 인삼추출농축액은 추출, 농축의 제조과정이나 완제품의 저장, 유통과정중 일부 미생물에 의하여 부패, 변질되는 경우가 종종 발생되고 있다. 인삼의 특수성분과 미생물 생육과의 관계 즉 생리활성 혹은 생화학적 측면에서 인삼을 검토한 연구⁽⁶⁻¹²⁾는 다수 있으나 인삼추출농축액의 부패미생물에 대한 연구결과는 아직 찾지 못하였다. 따라서 인삼추출농축액이 미생물에 의하여 품질이 손상되는 것을 방지하기 위한 기초자료를 얻고자 우선 인삼추출농축액에 오염되어 변질을 초래한 미생물을 분리 동정 하었기에 이

를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

인삼추출농축액의 조제

말단직경이 3.0~6.0 mm, 길이가 3.0~7.0 cm인 홍미삼(紅尾蔘)으로부터 물을 용매로 하여 추출온도 70~75℃에서 매회 추출시간 8시간씩 5회 추출하였다. 추출전액을 혼합하고 60℃ 이하에서 감압농축하여 수분함량 45%의 농축액을 조제하여 Table 2, 3과 같은 성분조성을 가진 추출농축액을 시료로 사용하였으며 필요에 따라서는 냉동건조하여 사용하였다.

일반성분분석

상법에 의하여 수분함량은 105℃에서 5시간 건조감량으로 회분은 직접회화법으로 조지방은 Soxhlet 추출법으로 조단백은 microkjeldahl 법으로 각각 분석하였다. 전당과 환원당은 DNS (dinitro salycilic acid) 법^(13,14)에 의하여 500nm에서 Spectrophotometer (UV-200S, Shimadzu Co.)로 측정하였다.

Table 1. Composition of medium for isolating microorganism from spoiled red ginseng extract.

Ingredient	Content % (w/v)
Dextrose	1.0
Peptone	0.5
KH ₂ PO ₄	0.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
Agar	1.2

사포닌의 분리 및 정량

Namba 등¹⁵⁾, Ando 등¹⁶⁾의 수포화 butanol 추출법에 준하여 조사포닌을 분리한 후 ginsenoside 별 분리와 정량을 홍등¹⁷⁾의 방법을 이용하여 HPLC 법으로 측정하였으며 HPLC Chromatogram에 나타난 peak의 면적을 구한 다음¹⁸⁾ 표준 ginsenoside (Karl Roth KG, 서독)를 이용하여 작성된 표준검량 곡선에 의하여 환산 표시하였다.

부패성 효모의 분리 및 동정

추출 및 농축과정중 오염되어 부패한 수분함량이 약 45%인 홍삼농축액 약 10g을 취하여 0.5g peptone액(0.2% NaCl 첨가)에 pour plate 방법으로 접종하여 30°C에서 5일간 배양하여 나타난 colony 중 형태학적으로 차이가 나는 colony 3 종류를 선발하였다. 이균을 Table 1과 같은 agar slant에 30°C에서 약 60시간 배양한 후 수분함량 45%의 홍삼농축액에 다시 접종하였다. 접종한 농축액을 30°C에서 약 90일 정지 배양한 후 균증식과 함께 냄새,

Table 2. Proximate composition of RGE extracted with water at 75°C

Unit; % in dry weight basis					
Crude ash	Crude fat	Crude protein	Reducing sugar	Total sugar	Others
3.85	1.48	15.3	12.4	45.6	21.37

RGE; Red ginseng extract

Table 3. Ginsenosides content of the RGE extracted with H₂O at 75°C

(Unit : mg/g)												
Ro	Ra	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Rg ₂	PS	TS	PD/PT
6.7	4.3	34.9	14.4	16.9	7.5	12.5	10.1	18.0	9.4	15.5	150.2	1.56

PS : Prosapogenine TS : Total saponin PD : Panaxadiol saponin PT : Panaxatriol saponin

맛등의 변패를 나타낸 균에 대하여 Lodder¹⁹⁾의 방법에 따라 형태학적, 배양학적 특성을 검토하였다.

결과 및 고찰

홍삼농축액의 일반성분

본실험에서 사용한 홍삼추출농축액의 일반성분 조성은 Table 2, 3과 같다. 조지방 3.85%, 조지방 1.48%, 조단백 15.3%, 환원당 12.4%, 전당 45.6%로 구성되어 있으며 전당, 환원당의 함량이 비교적 높았다.

Ginsenoside의 조성

조사포닌의 량은 18.24%이었고 ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 등의 함량은 Table 3과 같았으며 PD/PT ratio가 1.56으로서 한등²¹⁾ 성등²²⁾의 보고와 비슷하였다. 각 ginsenoside 구성은 Rb₁, Rg₁, Rc, Rb₂, Re, Rf, Ra, Ro 순이었으며 성등²¹⁾, 최등²²⁾의 보고와는 다소 차이가 있었는데 이것은 원료수삼의 재배환경 및 제조조건과 방법의 차이에서 기인된 것으로 생각된다.

균주의 동정

수분함량 45%로 농축시킨 홍삼농축액을 부패시키는 미생물 1종을 분리 선발하고 Lodder¹⁹⁾의 분류법에 의하여 제특성을 비교 검토한 결과는 다음과 같다.

Table 4. Morphological Characteristics of isolated yeast

Classification	Isolated yeast	<i>Candida parapsilosis</i> ¹⁹⁾
Shape of cell	short-long ovoid	short-long ovoid
Cell size	2.5-3.9× 2.7-9.3μ	2.5-4.0× 2.5-9.0μ
Reproduction	by budding	by budding
Ascospore	absent	absent
Pseudomycelium	present	present

Table 5. Fermentation of carbohydrates

Carbohydrates	Isolated yeast	<i>C. parapsilosis</i> ⁽¹⁹⁾
Glucose	+	+
Galactose	-	+ (weak) or -
Sucrose	-	-
Maltose	-	-
Cellobiose	-	-
Trehalose	-	-
Lactose	-	-
Melibiose	-	-
Melezitose	-	-
Inulin	-	-
L-Sorbose	-	-
Rhamnose	-	-
Ribose	-	-
Stachyose hydrate	-	-
Fructose	-	-
Glycerol	-	-

Table 6. Assimilation of carbon compounds.

Carbon Compounds	Isolated <i>C. para- psilosis</i> yeast	Carbon Compounds	Isolated <i>C. para- psilosis</i> ⁽¹⁹⁾ yeast
Glucose	+	D-ribose	- + or weak -
Galactose	+	L-rhamnose	-
L-Sorbose	+(weak)+ or weak	Ethanol	+
Sucrose	+	Glycerol	+
Maltose	+	Erythritol	-
Cellobiose	-	Ribitol	+
Trehalose	+	Galactitol	-
Lactose	-	D-mannitol	+
Melibiose	-	D-glucitol	+
Raffinose	-	α -methylglucoside	+
Melezitose	+	Salicin	-
Inulin	-	DL-lactic acid	- + or -
Soluble starch	-	Succinic acid	- + or weak -
D-xylose	+	Citric acid	- + or weak -
L-arabinose	+	Inositol	-
D-arabinose	-		-

Table 7. Cultural characteristics of the isolated yeast

Formation of sediment	-
Formation of pellicle, ring and islet	-
Splitting of arbutin	-
Assimilation of KNO ₃	-
Assimilation of asparagine	+
Assimilation of sodium nitrate	+
Assimilation of urea	+
Assimilation of ammonium sulfate	+
Growth in vitamin free medium	+ (weak)

분리균주는 Table 4 와 같이 출아법으로 증식하고 pseudomycelium을 형성하였으며 Gordok agar, kleyn's acetate agar, Fowell's acetate agar, Mc - Clzry's acetate agar 및 potato dextrose agar 배지에서는 ascospore를 형성하지 않았다. 또한 Table 5 및 6 과 같이 glucose 외 기타 당류를 발효시키지 못하였으나 melezitose, maltose, trehalose, glycerol, fructose 등을 자화하였다. 또한 배양학적 특성에서 보면 Table 7 과 같이 피막을 형성하지 않으며 asparagin, urea, ammonium nitrate 등을 자화함으로 이들의 결과를 종합하여 *Candida parapsilosis* 로 동정되었다.

요 약

인삼농축액이 미생물에 의하여 품질이 저하되는 것을 방지하기 위한 기초자료를 얻고자 부패된 홍삼농축액으로부터 효모를 분리 동정하였고 홍삼농축액의 일반성분 및 사포닌의 조성을 조사하였다. 분리, 선발된 홍삼농축액의 부패성 효모는 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성을 검토한 결과 *Candida parapsilosis* 로 동정되었다. 홍삼농축액의 일반성분은 회분 3.85, 조지방 1.48, 조단백 15.3, 환원당 12.4, 전당 45.6% 및 기타성분으로 구성되어 있었다. 조사포닌 함량은 18.24%이었으며 각 ginsenoside의 구성은 Rb₁, Rg₁, Rc, Rb₂, Rf, Ra, Ro순이었으며 panaxadiol 계 및 panaxatriol 계 saponin의 구성비는 1.56 이었다.

참고문헌

1. 성현순 : 한양대학교 대학원, 박사학위논문 (1983)
2. 최진호, 김우정, 박길동, 성현순 : 고려인삼학회지, 4(2), 165 (1982)
3. 최진호, 김우정, 양재원, 성현순 : 한국농화학회지, 24(1), 50 (1981)
4. 김동연 : 한국농화학회지, 16(2), 60 (1973)
5. Duckworth, R. B. : Water relations of foods, Academic press, New York, 273 - 307 (1974)
6. 박세호, 유태중, 이석건 : 고려인삼학회지5(2), 139 (1981)
7. 박세호, 유태중, 이석건 : 고려인삼학회지, 5(2), 148 (1981)
8. 양재원, 유태중 : 고려인삼학회지, 3(2), 113 (1979)
9. Cho, Y. D., T. U. Kim and H. G. Choi : *Korean J. Ginseng Sci.*, 5(1), 65 (1981)
10. 정노팔 : 대한생리학회지, 3(1), 45 (1969)
11. 정노팔 : 대한생리학회지, 3(1), 51 (1969)
12. Joo, C. N., Y. D. Cho and H. Y. Kwon : *Korean Biochem J.*, 11(2), 113 (1978)
13. 福井作藏 : 化学と生物, 3(9), 36 (1965)
14. 小原哲二郎 : 食品分析 Hand Book, 建帛社, 東京, p. 209 (1978)
15. Namba, T., M. Yashijaki, T. Tominori, K. Kobashi, K. Mitsui and J. Hase : *Yakugaku Zasshi*, 94(2), 252 (1974)
16. Ando, T., O. Tanaba and S. Shibata : *Syoyakugaku Zasshi*, 25(1), 28 (1971)
17. Hong, S. K., E. K. Park, C. Y. Lee and M. U. Kim, *Yakhak Hoeji*, 23 (3 & 4), 181 (1979)
18. 原昭二, 辻章夫編 : 最新液体クロマトグラフィー (基礎と応用), 南山堂発行, 東京, 105~117 (1978)
19. Lodder : The Yeast (A taxonomic study and ed) North Holland Pub. (1971)
20. Han, B. H. : Korean Ginseng, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, p. 96 (1978)
21. 崔康注 : 高麗大学校大学院, 博士学位論文 (1983)