

Candida parapsilosis 가 紅蔘액기스의 成分 變化에 미치는 影響

양재원·노길봉
한국인삼연초연구소 인삼제품연구실
(1989년 3월 27일 접수)

Influence of *Candida parapsilosis* on the Changes in Various Components of Korea Red Ginseng Extract

Jai Won Yang and Kil Bong Nho
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Daejeon 302-345, Korea
(Received March 27, 1989)

Abstract□The quality characteristics of pH, ginsenosides, fatty acid, phenolic compounds were studied for their changes during growth of *Candia parapsilosis*. The yeast growth not only scarcely affected the total amount of saponins and ginsenosides of red ginseng tail root extract, but also was not affected by the saponins. *C. parapsilosis* did not utilize the ginsenosides as a carbon source. Glucose, fructose and free sugars were utilized in the initial phase of growth, whereas sucrose and maltose were used as the growth continued and completely reduced after 43 hours of incubation. Unsaturated fatty acids were significantly reduced with cell growth, showing a relationship between unsaturated fatty acid content and the yeast growth, whereas the amount of saturated fatty acids in red ginseng extract was not affected by the yeast growth. Generally, there were no changes in major organic acids and phenolic compounds (vanillic acid, m-coumaric acid) except the 50% reduction in maltol and ferulic acid in the ginseng extract. The amounts of amino acids were gradually decreased, but that of arginine was remarkably reduced.

Keywords□*Panax ginseng* C.A. Meyer, *Candida parapsilosis*, yeast, red ginseng

서 론

인삼추출액은 농축, 저장, 유통과정 중에 내열성 및 내삼투압성 미생물에 의하여 변질되거나 부패되는 경우가 종종 발생하고 있다. 저자 등^{1,2)}은 변패된 농축홍삼추출액(함수 40%)으로부터 부패원인균을 분리하여 내삼투압성 효모인 *Candida parapsilosis* 임을 확인하였고 분리 동정된 *C. parapsilosis* 의 생육특성 등을 조사, 보고하였다. 인삼액기스의 제조과정 중 혹은 저장중에 미생물 오염에 의한 액기스의 성분변화 등 품질변화를 조사연구한 보고문헌은 거의 찾아 볼 수 없으며 생리학적 측면에서 미생

물을 이용하여 인삼의 효능을 입증하려는 노력의 일환으로 인삼의 성분이 미생물의 생육 및 생리작용에 미치는 영향에 대해서는 정,³⁻⁵⁾ 주⁶⁾ 등 비교적 많은 연구자에 의해서 다수의 연구결과가 보고되어 있다. 그러나 대부분의 연구내용들이 미생물 생육에 미치는 영향인자로서의 연구대상 물질을 인삼사포닌에만 치중하고 있을뿐 특수 미량성분이나 기타성분과 상호 복합적으로 미치는 영향에 대해서는 취급한 연구결과가 없는 것 같다. 본 실험에서는 1차적으로 *C. parapsilosis* 가 홍삼액기스 제조과정 중 오염됨으로서 액기스의 사포닌, 당류, 지방산 및 아미노산 등의 주요성분과 액기스의 풍미에 미치는 영향을 검토

하였고 또한 saponin 이외의 인삼성분과 C. parapsilosis 의 생육 혹은 세포증식과의 상관성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

직경 5.0 mm 이하의 선별된 홍미삼(전매공사제조)으로부터 정제수를 추출용매로 하여 75°C의 추출온도로 1회 8시간씩 5회 추출하여 얻어진 추출액을 여과하여 60°C 이하에서 감압농축하여 수분함량이 40%가 되는 엑기스를 시료로 사용하였다. 공시균주는 저자 등¹²⁾이 홍미삼엑기스로부터 분리 동정한 C. parapsilosis 를 이용하였다.

Carbon free base 배지와 potato dextrose broth(dehydrated)는 Difco 사 제품을, gas liquid chromatography(GLC)용 유기산 및 methyl ester 표준품과 페놀화합물의 표준품으로서 maltol, ferulic acid 등은 Tokyo Kasei Kogyo 사 제품을, 그리고 TMS(trimethylsilylation)화시약 및 BSTFA(N, O-bis-(trimethylsilyl)-tri-fluoroacetamide)는 Pierce Chemical 사 제품을 사용하였다. 사포닌은 Ando 등⁷⁾의 방법에 준하여 당소에서 분리하여 보관 중인 사포닌을 사용하였다.

2. 실험방법

사포닌의 분석은 Namba⁸⁾ Ando⁷⁾ 등의 수포화 butanol 추출법에 준하여 사포닌 검액을 조제한 후 HPLC법을 이용하여 각 ginsenoside 의 함량을 정량하였다.

유리당의 분석은 사포닌 검액 조제시 수포화 butanol 층을 제외한 물층으로부터 유리당검액을 조제하여 최,⁹⁾ 박¹⁰⁾ 등의 HPLC법으로 각 유리당을 정량하였다.

유기산, 지방산 및 페놀화합물은 효모배양 전과 후의 10% 홍미삼엑기스 용액으로부터 효모균체를 제거하고 상등액을 냉동건조하여 2g을 취하여 유기산 및 지방산은 Court¹¹⁾ 등의 방법에 준하여, 페놀화합물은 Krygier¹²⁾ 등의 방법에 준하여 GLC법으로 분석하였다.

아미노산분석은 Brian,¹³⁾ Pfeifer¹⁴⁾의 방법에 준

하여 HPLC를 이용한 ion exchange chromatography(OPA post column method)법으로 아미노산을 정량하였다. 배지조제는 PDB-12% glucose 배지(이하 PG로 약함)는 potato dextrose broth를 4.8%, glucose를 12%의 비율로 첨가 조제하여 사용하였고 PDB-12%, 18% sucrose 배지(이하 PGS로 약함)는 potato dextrose broth를 4.8% glucose를 12%, sucrose를 18%의 비율로 첨가 조제하여 사용하였다.

결과 및 고찰

1. pH의 변화

내삼투압성 효모로서 고농도 홍삼엑기스에서 생육할 수 있는 C. parapsilosis 가 번식함으로써 홍삼 엑기스의 pH에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 1) pH의 변화는 대체로 대수증식기 이후부터 다소 감소하였다가 다시 증가하였으며 무처리구는 47시간 후 pH가 3.6까지 감소하였다가 다시 증가하여 5.9까지 증가하였다. 엑기스 10% 첨가구는 감소 후 다시 증가하는 변동시간이 대조구 보다 약 40시간 늦게 나타났다. 반면에 엑기스를 10~20% 첨가한 구는 pH의 변화가 거의 없었다. 따라서 C. parapsilosis 는 엑기스가 소량(1~5%) 존재할 때에는 생육이 촉진되고 배지의 pH에 다소의 영향을 주었으나 엑기스가 다량(10~20%) 존재시에는 pH

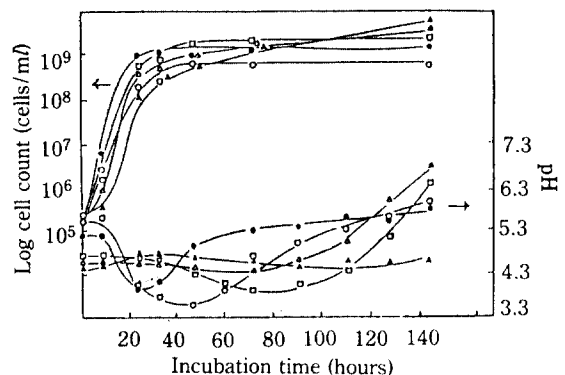


Fig. 1. Changes in number of cells and pH of *Candida parapsilosis* culture in PG with addition of various concentrations of RGE.

Symbols: Control (—○—); 1.0% RGE (—●—); 5.0% (—□—); 10.0% (—△—); 20.0% (—▲—)

Table 1. Changes in amounts of ginsenosides of red ginseng extract with the growth of *C. parapsilosis*

Ginsenoside	Ro	Ra	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Rg ₂	PS	TS
RGE	6.7	4.3	34.9	14.4	16.9	7.5	12.5	10.1	18.0	9.4	15.5	150.2
F-RGE	6.5	4.4	35.3	14.4	17.2	7.2	12.1	10.2	17.6	9.8	16.1	150.8

RGE, Red Ginseng Extract; F-RGE, Fermented Red Ginseng Extract; PS, Prosapogenine; TS, Total saponin.

에 별 영향을 미치지 못하였다. 홍미삼엑기스가 다량 존재시 pH의 변화가 거의 없었던 원인은 엑기스 자체의 pH 완충능에 의한 작용 때문인 것으로 판단된다.

2. 사포닌의 변화

10% 홍미삼엑기스 용액에 *C. parapsilosis*를 72시간 배양하여 배양 전과 후의 사포닌의 함량을 비교 검토한 결과(Table 1) 각 ginsenoside의 함량은 거의 차이가 없어 *C. parapsilosis*는 사포닌의 분해나 이용을 거의 하지 않는 것으로 나타났다. 탄소원이 전혀 없는 환경에서 사포닌을 탄소원으로 이용하는 지를 검토하기 위하여 carbon free base medium과 PGS 배지에 총 순품사포닌을 농도별로 첨가하여 72시간 균배양 후 흡광도를 측정 한 결과(Table 2) carbon free base medium에 순품사포닌을 첨가한 배지에서 전혀 증식하지 못하였다. 김¹⁵⁾은 *Rhizopus japonicus*는 ginsenoside -Rb₁을 -Rd로 전환시킨다고 하였고 성 등¹⁶⁾은 *Saccharomyces cerevisiae*와 *S. formosensis*는 발효에 의해서 ginsenoside -Rb₂를 증가시키고 -Rd는 감소시킨다고 보고한 것에 비하여 *C. parapsilosis*는 사포닌 구조 및 조성에 전혀 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

한편 PGS 배지에 사포닌을 첨가하여 배양한 결과 사포닌 무첨가구와 사포닌 첨가구의 O.D.의 차이는 거의 없었고 사포닌 증량 첨가에 따른 생육촉진 경향도 나타나지 않았으며 저해현상도 없었다. 이 결과는 정 등⁶⁾과 조 등¹⁷⁾이 일정함량 이상의 사포닌 존재시에 균의 생육 혹은 효소활성이 억제되었다고 보고한 것과는 다른 특성을 지고 있는 것으로 나타나 *C. parapsilosis*는 0.6%의 상당히 많은 사포닌 농도에서도 생육이 가능하여 사포닌에 대한 강한 내성을 갖고 있는 효모로 생각된다.

3. 유리당의 변화

Table 2. Changes in optical density expressed as the number of cells with the addition of saponin in CFB medium and PGS medium

Composition of medium	Optical density (660nm)
CFB	0.0 (no growth)
CFB + saponin 0.2(%)	0.0 (no growth)
CFB + saponin 0.4	0.0 (no growth)
CFB + dextrose 1.0	0.42
PGS	0.56
PGS + saponin 0.002	0.58
PGS + saponin 0.02	0.58
PGS + saponin 0.2	0.57
PGS + saponin 0.4	0.58
PGS + saponin 0.6	0.58

CFB, Carbon free base medium 0.67% solution; PGS, 4.6% PDB + 12% glucose + 18% sucrose.

10% 홍미삼엑기스 용액을 배지로 하여 *C. parapsilosis*를 배양하면서 엑기스의 유리당 조성의 변화를 조사한 결과(Fig. 2) rhamnose, fructose, glucose 등 단당류는 배양초기 9시간부터 서서히 감소하여 20시간 이후부터는 거의 검출되지 않았으며 sucrose, maltose 등 이당류는 배양초기에는 거의 변동이 없다가 30시간 이후부터 감소하여 43시간 이후에는 소량 검출되었다. 따라서 *C. parapsilosis*의 당흡수 이용패턴은 glucose, fructose 등 단당류를 먼저 흡수 이용하고 2차적으로 sucrose, maltose 등을 흡수 이용하였다.

4. 지방산

10% 홍미삼엑기스 용액에서 *C. parapsilosis*를 72시간 배양하여 권,¹⁸⁾ 윤,¹⁹⁾ 신,²⁰⁾ 등에 의하여 인삼의 주요 지방산으로 밝혀진 몇 종류의 지방산을 정량비교한 결과(Table 3) *C. parapsilosis*의 배양 전 각 지방산의 함량에 비하여 배양 후 함량이 현저히 감소하였다. 반면에 이중결합이 없는

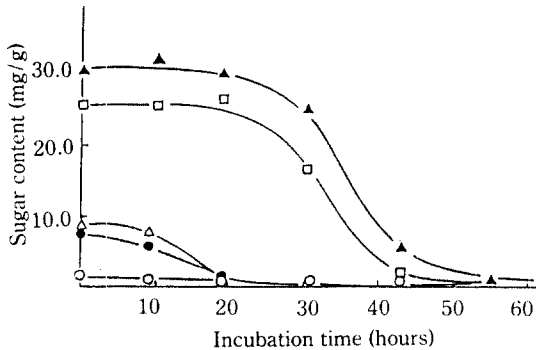


Fig. 2. Changes in free sugar contents of red ginseng extract with the growth of *C. parapsilosis*. Symbols: rhamnose (—○—); fructose (—●—); glucose (—△—); sucrose (—□—); maltose (—▲—).

Table 3. Comparison of fatty acid contents in RGE before and after fermentation with *C. parapsilosis*

Fatty acid		Contents (mg/g)	
		RGE	Fermented RGE
Linoleic	18:2	6.01	3.44
Oleic	18:1	4.858	0.514
Linolenic	18:3	1.917	0.34
Palmitic	18:0	1.365	1.19
Stearic & malic	16:0	3.94	3.89

stearic acid, palmitic acid는 변화가 거의 없었다. 이와 같이 불포화지방산이 배양후에 감소한 이유는 당의 흡수 이용과 같이 일부 지방산도 *C. parapsilosis*의 생육에 이용되었기 때문에 나타난 결과로 생각된다. 정 등^{4,5,21,22}은 이들 지방산이 *S. cerevisiae*의 분열증식을 촉진시키는 물질이라고 보고하였는데 본 실험에서도 지방산의 함량이 변하는 것으로 보아 효모생육에 생리적 영향을 미칠 것으로 생각되며 앞으로 각각의 단일수준에서의 검토가 필요할 것으로 생각된다.

5. 페놀화합물의 변화

10% 홍기삼엑기스 용액에서의 *C. parapsilosis*의 배양 전과 후의 일부 페놀화합물의 함량을 비교 검토한 결과 (Table 4) maltol의 함량은 배양 전 119.08 ppm에서 배양 후 6.24 ppm으로 현저히 감소하였으며 p-coumaric acid, ferulic acid 등도 감소하였으나 vanillic acid m-coumaric acid의

Table 4. Comparison of phenolic compound contents in RGE before and after fermentation with *C. parapsilosis*

Phenolic compound	Content (ug/g)	
	RGE	Fermented RGE
Maltol	100.35	57.15
Vanillic acid	0.92	1.01
m-coumaric acid	1.17	0.94
p-coumaric acid	1.41	0.44
Ferulic acid	3.30	2.37
Caffeic acid	5.21	5.09
Syringic acid	0.46	0.42

RGE, red ginseng extract.

Table 5. Comparison of organic acid contents in RGE before and after fermentation with *C. parapsilosis*

Organic acid	Content (mg/g)	
	RGE	Fermented RGE
Oxalic acid	1.03	1.18
Malonic & Fumaric acid	2.30	2.40
Succinic acid	1.02	1.08
Malic & Stearic acid	3.94	3.89
Myristic acid	0.25	0.22

RGE, Red ginseng extract.

함량은 큰 변화가 없었다. 한 등^{23,24}은 페놀화합물 중 홍삼에만 함유된 maltol과 그 외에 vanillic acid 등은 항산화작용이 강하며 인삼의 유효성분 중의 하나라고 하였다. Duckworth 등²⁵이 prune 과즙이나 sucrose 용액의 가열 및 재조과정 중 생성된 maltol을 위시한 일부 페놀화합물과 갈색화 반응생성물들은 *C. parapsilosis*의 생육억제인자로 작용했을 가능성이 있다고 추정되며 이에대한 검토가 요구된다.

6. 유기산의 변화

10% 홍기삼엑기스 용액에서 *C. parapsilosis*의 배양 전후의 유기산 함량을 분석한 결과 (Table 5) 주요 유기산의 함량은 거의 차이가 없어 *C. parapsilosis*는 홍기삼엑기스의 비휘발성 유기산 함량에는 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

Table 6. Comparison of amino acid contents in RGE before and after fermentation with *C. parapsilosis*

Amino acid	Content (mg/g)	
	REG	Fermented RGE
Aspartic acid	4.84	2.44
Threonine	0.88	0.50
Serine	1.03	0.53
Glutamic acid	7.70	4.38
Proline	—	—
Glycine	1.37	0.57
Alanine	1.30	0.84
Cystine	0.57	0.23
Valine	0.72	0.42
Methionine	0.57	0.27
Isoleucine	0.53	0.30
Leucine	0.76	0.46
Tyrosine	0.27	0.15
Phenylalanine	1.14	0.30
Histidine	3.70	2.55
Lysine	1.26	1.51
Arginine	22.91	6.06
Total	49.55	14.51

7. 아미노산의 변화

10% 홍미삼엑기스 용액에서 *C. parapsilosis* 를 배양한 후 아미노산을 정량하여 배양 전과 비교하여 본 결과 (Table 6) 배양 전 홍미삼엑기스의 총 아미노산 함량은 49.55 mg/g 이었고 그 중 arginine 이 22-91 mg/g 으로 약 46.2%를 차지하였으며 그 외 aspartic acid, glutamic acid, histidine 등도 비교적 높은 점유율로 구성되어 최 등,²⁶⁾ 성 등²⁷⁾ 김 등²⁸⁾의 연구결과와 비슷하여 인삼의 특징적인 구성 패턴을 보였다. *C. parapsilosis* 를 배양하였을 때 엑기스의 총 아미노산의 함량은 14.51 mg/g 으로 배양 전 함량에 비하여 현저히 감소하였고 특히 가장 많은 양이 함유된 arginine 은 완전 소진되는 것으로 나타났다. 따라서 *C. parapsilosis* 는 홍미삼 엑기스의 아미노산 조성에도 큰 변화를 주어 엑기스의 품질에 크게 영향을 미칠 가능성이 있는 것으로 판단된다. 특히 *C. parapsilosis* 의 배양으로 인하여 모든 아미노산의 함량이 감소하였으나 그 중에

인삼의 아미노산 조성의 특징을 나타내는 arginine 이 유독 심하게 감소된 것으로 보아 arginine 이 공시균의 세포증식에 크게 관여하는 물질로 생각된다.

요 약

부패된 홍미삼엑기스로부터 분리동정한 내삼투압성 효모인 *C. parapsilosis* 가 홍미삼엑기스의 성분 에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *C. parapsilosis* 를 배양하면서 pH 의 변화, ginsenoside 의 함량, 지방산, phenol 화합물 등의 변화를 조사하였다.

엑기스를 소량 첨가하였을 때는 배지의 pH 에 다소 영향을 주었으나 엑기스를 다량(10-20%) 첨가하였을 때는 pH 에 큰 영향을 미치지 못하였다. *C. parapsilosis* 는 홍미삼엑기스의 사포닌의 함량에 영향을 주지 않았고 사포닌을 탄소원으로 이용하지 못하였으며 사포닌 증량 첨가에 따른 생육 촉진경향 혹은 저해현상도 없었다.

C. parapsilosis 의 홍미삼엑기스의 유리당 이용 패턴은 glucose, fructose 등 단당류를 먼저 흡수 이용하고 다음에 sucrose, maltose 등을 2차적으로 이용하였다.

홍미삼엑기스의 대부분의 지방산은 *C. parapsilosis* 생육에 의하여 함량이 현저히 감소하였으며 이중결합이 없는 stearic acid, palmitic acid 는 변화가 거의 없었다. 또한 페놀화합물 중 maltol 은 현저히 감소하였고 그 외에 vanillic acid, m-coumaric acid 의 함량은 거의 변화가 없었다. 비휘발성 유기산의 함량은 거의 변화가 없었으며 아미노산은 배양 전에 비하여 현저히 감소하였고 특히 arginine 은 완전 소진되었다.

인용문헌

1. 양재원, 김영배, 유태종 : 산업미생물학회지, **13** (4), 367(1985).
2. 양재원, 유태종, 김영배 : 산업미생물학회지, **13** (4), 371(1985).
3. Jung, N.P.: Korean J. Ginseng Sci. **3**(1), 24 (1981).
4. 정노팔 : 대한생리학회지, **3**(1), 45(1969).
5. 정노팔 : 대한생리학회지, **3**(1), 51(1969).

6. 한경신 : 연세대학교 대학원 석사학위 논문(1979).
7. Ando, T., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Syoyakugaku Zasshi*, **25**(1), 28 (1971).
8. Namba, T., Yashijaki, M., Tominori, T., Kobashi, K., Mitsui, K. and Hase, J.: *Yakugaku Zasshi*, **94**(2), 252 (1974).
9. 최진호, 장진규, 박길동, 박명환, 오성기 : 한국식품과학회지, **13**(2), 107(1981).
10. 박명환, 성현순, 이철호 : 고려인삼학회지, **5**(2), 155(1981).
11. Court, W.A. and Hendel, J.G.: *J. Chromatographic Sci.*, **16**, 314 (1978).
12. Krygier, K., Sosulki, F. and Hogge, L.: *J. Agric. Food Chem.* **30**(2), 330 (1982).
13. Walker, B.: Waters Associates Application Laboratories, Sydney, March (1983).
14. Pfeifer, R., Karal, R., Korpi, J., Burgoyne, R., McCourt, D.: Practical application of HPLC to amino acid analysis, Reprinted from American Laboratory, 82465, March (1983).
15. 김상달 : 경북대학교 대학원 박사학위 논문(1981).
16. 성현순, 남상열, 김기철 : 한국농화학회지, **23**(4), 228(1980).
17. 조성환, 조한옥, 박홍구 : 고려인삼학회지, **3**(2), 144(1979).
18. 권대원 : 단국대학교 대학원 석사학위 논문(1983).
19. 윤태현, 김을상 : 한국식품과학회지, **11**(3), 182(1979).
20. 신효선, 이민용 : 한국식품과학회지, **12**(3), 185(1980).
21. 정노팔 : 대한생리학회지, **3**(1), 55(1969).
22. 정노팔 : 대한생리학회지, **5**(1), 15(1971).
23. Han, B.H., Park, M.H. and Han, Y.N.: *Arch. Pharm. Res.* **4**(1), 54 (1981).
24. Han, B.H., Park, M.H., Woo, L.K., Woo, W.S. and Han, Y.N.: Proceedings of the 2nd international ginseng symposium, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, 13 (1978).
25. Duckworth, R.B.: Academic press, New York, p. 273 (1974).
26. 최강주 : 고려대학교 대학원, 박사학위 논문(1983).
27. 성현순 : 한양대학교 대학원, 박사학위 논문(1983).
28. 김동연 : 한국농화학회지, **16**(2), 60(1973).