

## 인삼제품에서 분리한 부패성 효모의 특성

곽이성 · 신기선<sup>1</sup> · 김나미 · 박채규 · 전병선 · 배경숙<sup>1</sup> · 양재원  
한국인삼연초연구원, <sup>1</sup>한국과학기술연구원 유전공학연구소  
(1993년 12월 21일 접수)

## Characterization of the Spoilage Yeast Isolated from Ginseng Product

Yi-Seong Kwak, Kee Sun Shin<sup>1</sup>, Na Mi Kim, Chae Kyu Park,  
Byeong Seon Jeon, Kyung Sook Bae<sup>1</sup> and Jae Won Yang  
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea  
<sup>1</sup>Genetic Engineering Research Institute, KIST, Taejon 305-606, Korea  
(Received December 21, 1993)

**Abstract** □ A yeast was isolated from the spoiled ginseng product. The isolate was ellipsoidal shaped yeast measured around 2.0 to 2.5  $\mu\text{m}$  in diameter. The strain formed pseudomycelium on potato-dextrose agar medium. The isolated yeast used glucose as fermentable sugar, and showed assimilation activity for glucose, sorbitol and mannitol. The strain was also able to grow in the presence of 1% acetic acid and 50% (w/v) glucose-yeast extract agar. The isolated osmophilic yeast was identified as a strain of *Zygosaccharomyce* sp.

**Key words** □ Osmophilic yeast, ginseng product, *Zygosaccharomyce* sp.

### 서 론

최근 현대인의 생활양식이 변화하여 인삼도 그 자체 뿐만 아니라 생약 복방제, 캡슐 등 다양한 종류의 제품으로 제조되고 있어 제품의 합리적인 제조공정의 확립이 요청되어지고 있으며, 제품의 품질을 유지하기 위해서는 합리적 원료관리 및 유효성분의 보존 등 부패성 미생물의 방제 및 관리의 필요성이 점차 증대되어지고 있다. 그러나, 지금까지 인삼의 특정성분과 미생물 생육과의 관계에 대한 연구<sup>1-5)</sup>는 많은 반면 부패미생물 자체에 대한 보고<sup>6-8)</sup>는 미미한 실정이다.

일반적으로 당이나 소금 등의 농도가 높은 식품에서는 *Saccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces soya*, *Torulopsis*, *Candida* 등의 내삼투압성 효모가 번식해서 내용물의 성분변이 등 부패를 야기시키는 것으로 알려져 있다.<sup>11)</sup> 따라서 저자 등은 당함량이 비교적

높은 오염된 인삼제품에서 부패성 효모 1종을 분리하여 그 형태적 특성 및 배양학적, 생리학적, 생화학적 성질을 조사함으로써 인삼제품의 품질 안정성 확보를 위한 기초자료를 제공하고자 본 실험을 시도하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 인삼제품의 조성

본 실험에 사용된 인삼제품의 조성은 홍삼엑스, 생약엑스(황기 외 9종의 생약), 비타민, 아미노산, 벌꿀, 물엿 등이었으며 pH 4.63, Brix 52° 정도로 당의 함량이 비교적 높았다.

#### 2. 효모의 순수분리 및 보존

인삼제품 제조시 오염되어 부패를 야기시키는 효모 1종을 YM(Yeast extract-Malt extract) agar(Difco 사) 배지 상에서 순수분리 하였다. 분리된 효모를 PDA

(Potato-dextrose agar) (Difco사) 배지에 25°C, 2일간 배양한 후 4°C 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 3. 효모의 분류동정

순수분리된 효모를 Kreger-van Rij<sup>9)</sup>의 분류동정법에 준하여 형태학적, 생리학적, 생화학적 특성에 관한 실험을 실시하였다.

### 4. 영양세포의 특징

YM agar 배지 상에서 2일간 배양하여 활성화 시킨 효모를 2% glucose-yeast extract-peptone water(glucose 20 g, yeast extract 5 g, peptone 10 g, D.W. 1 l)에 접종한 다음 28°C 에서 3일간 배양하여 세포형태, 증식방법을 관찰하였다.

### 5. 자낭포자 형성유무

분리된 효모를 V8 juice agar,<sup>9)</sup> Gorodkova agar (glucose 1 g, peptone 10 g, NaCl 5 g, agar 20 g, tap water 1 l), acetate agar(NaCl 8.2 g, glucose 1 g, yeast extract 2.5 g, KCl 1.8 g, agar 15 g, D.W. 1 l), malt extract agar(glucose 20 g, malt extract 20 g, peptone 1 g, agar 20 g, D.W. 1 l) 사면배지에 25°C, 4주 동안 배양한 후, malachite green 용액으로 포자염색<sup>10)</sup>을 하여 포자형성 유무를 확인하였다.

### 6. 가균사 및 진균사 형성유무

YM agar 배지에서 전 배양한 효모를 P.D.A배지에 접종하여 Slide culture method<sup>9)</sup>에 따라 25°C, 5일간 배양한 후 균사의 형성유무를 관찰하였다.

### 7. 내삼투압성 시험

50% glucose-yeast extract agar<sup>9)</sup> 사면배지에 분리 효모를 접종한 후 25°C, 5일간 배양하여 생육 여부를 결정하였다.

### 8. Cycloheximide에 대한 저항성

2.5 ml의 acetone에 cycloheximide 1 g(for 1,000 ppm), 0.1 g(for 100 ppm)을 각각 용해하여 10-fold concentrated basal medium(yeast nitrogen base(Difco사) 6.7 g과 glucose 10 g을 100 ml의 증류수에 녹인 배지에 첨가한 후 그 현탁액 0.5 ml을 4.5 ml의 증류수가 담긴 시험관에 분주하여 살균하였다. 여기에 효모현탁액을 접종한 후 25°C 에서 2주 동안 배양하여 비탁법으로 저항성을 판별하였다.

### 9. 당류 발효성 시험

Yeast nitrogen base(Difco사) 배지가 들어 있는 Durham관에 미리 filter로 여과 제공한 당 용액로

넣고 YM agar 배지에서 전 배양한 효모 균체를 원심분리 하여 멸균수로 세척한 후, 그 현탁액을 접종하여 25°C 에서 72시간 배양하면서 가스 발생여부에 의해 발효성을 판정하였다.

### 10. 자화성 시험

API Kit(ID 32C)에 효모를 1백금이 접종한 후 25°C 에서 48시간 동안 배양한 후 자화성 유무를 판별하였다.

### 11. Nitrate 자화성 시험

Yeast carbon base(Difco사) 배지 11.7 g과 washed agar 20 g을 증류수 1 l에 용해한 후 살균하여 실험 배지로 사용하였다. Y.M. agar 배지에 전배양시켜 활성화된 효모를 살균된 증류수에 희석시킨 다음 효모현탁액 2 ml을 pour plating하였다. 배지표면을 충분히 건조시킨 후 auxanographic method<sup>9)</sup>에 따라

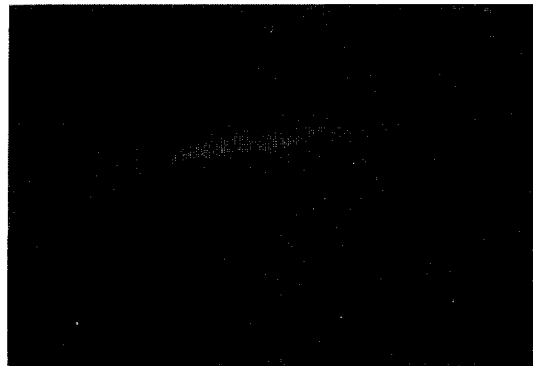


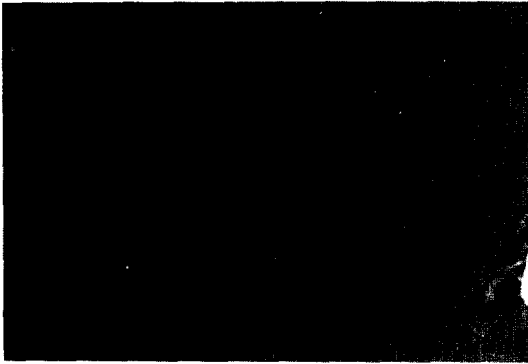
Fig. 1. Photomicrograph of isolated yeast (×400).

Table 1. Morphological properties of isolated yeast

Morphological properties	Isolated yeast
Shape of cell	ellipsoidal
Size of cell	2.0~2.5 μm
Growth on YM agar (after 3 days at 25°C)	abundant growth, smooth
Growth on MEA (after 5 days at 25°C)	growth, smooth
color on YM agar	white to cream
color on MEA	white to dark cream
Vegetative reproduction	budding
Pseudomycelium formation (slide culture)	branched ellipsoidal cell
Ascospore formation	formation

\*YM agar : Yeast extract-Malt extract agar.

MES : Malt extract agar.



**Fig. 2.** Photomicrograph of pseudomycelium structure (×400).  
\*Slide culture on Potato-dextrose agar medium.

**Table 2.** Fermentation of carbon compounds

Compounds	Isolated yeast
D-glucose	+
D-galactose	-
L-rhamnose	-
Xylose	-
ribose	-
arabinose	-
sucrose	-
maltose	-
cellobiose	-
Trehalose	-
Lactose	-
Raffinose	-
Melezitose	-
Starch	-
Inulin	-

\*+ : positive, - : negative.

potassium nitrate 5% 용액이 가해진 disc를 얹어, 25 °C 에서 1주간 배양하면서 자화성 유무를 조사하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 분리균의 형태학적, 배양학적 특성**

인삼제품에서 분리된 부패성 효모는 Fig. 1 및 Table 1에서 보는 바와 같이 영양세포는 출아법으로 증식하고 형태는 난형이었으며 크기는 2~2.5 μm 정도 이었다. 또한 yeast extract-malt extract agar 및 malt extract agar 배지 상에서 cream색을 나타내었고 Fig. 2에서 보는 바와 같이 가균사(Pseudomycelium)을

**Table 3.** Assimilation of carbon compounds

Compounds	Isolated yeast
Glucose	+
D-Xylose	-
Ribose	-
Glycerol	-
Rhamnose	-
Palatinose	-
Erythritol	-
Melibiose	-
Glucuronate	-
Melezitose	-
Gluconate	-
Levulinat	-
Sorbitol	+
Glucosamine	-
Galactose	-
Actidione	-
Sucrose	-
Mannitol	+
N-acetyl-glucosamine	-
DL-lactase	-
L-arabinose	-
Cellobiose	-
Raffinose	-
Maltose	-
Trehalose	-
2-Keto-gluconate	-
α-Methyl-D-glucoside	-
Lactose	-
Insositol	-

\*+ : Positive, - : Negative.

**Table 4.** Additional physiological properties

Physiological properties	Isolated yeast
Assimilation of nitrate	-
Growth in 50% (w/v) glucose-yeast extract agar	+
Growth at 37°C	+
Growth in the presence of 1% acetic acid	+
Growth in the presence of 100 ppm cycloheximide	-
Growth in the presence of 1,000 ppm cycloheximide	-

\*+ : Positive, - : Negative.

형성하였다.

V8 juice agar, acetate agar, gorodkova agar, malt extract agar 등의 sporulating medium<sup>9)</sup>을 사용하였을 때 내성포자(ascospore)를 형성하였다.

**2. 분리균의 생리학적, 생화학적 특성**

분리균은 Table 2와 같이 glucose만을 발효시켰으며 galactose, rhamnose, sucrose 등의 당류는 발효시키지 못하였다. 또한 Table 3에서 보는 바와 같이 glucose, sorbitol, mannitol 등의 당류를 자화시켰으며 기타의 화합물에 대해서는 자화능이 인정되지 않았다. Table 4에서 보는 바와 같이 nitrate 자화능이 없었고 cycloheximide 100 ppm 및 1,000 ppm에서 생육을 관찰할 수 없었으나 50% glucose yeast extract agar 및 1% acetic acid 존재하에서 생육할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼때 오염된 인삼제품에서 분리된 부패성 효모는 *Zygosaccharomyces* spp.의 유연균수로 생각되어지며 내산성, 내삼투압성의 특성을 가진 것으로 생각되어 진다. 일반적으로 고농도의 당이나 소금 등이 존재하는 환경에도 잘 생육하는 효모를 내삼투압성 효모(osmophilic yeast)라고 말하는데 이들은 꿀이나 고농도의 오렌지 주스, 당농도가 높은 식품에 번식하여 고약한 냄새 및 휘발성 산 등을 생성하여 부패를 야기시키는 것으로 알려져 있다.<sup>11)</sup> 양 등<sup>8)</sup>이 인삼엑스에서 부패성 효모 *Candida parapsilosis*의 존재를 보고하였으나 인삼 및 인삼제품에서 내삼투압성 효모의 하나인 *Zygosaccharomyces*가 보고된 예는 아직 없었다. 그러나 이 균에 대한 자세한 종(species) 수준의 동정은 추후 DNA의 GC함량(mol%) 측정 및 전자전달계의 주요 보조소의 하나인 Quinone계의 분석 등 추가 실험을 행해야 할 것으로 생각되며 추후 이 균의 생리적, 화학적 성질을 이용한 방제법의 연구도 실행되어야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

인삼 및 인삼제품의 품질 안정성 확보를 위한 기초자료를 얻고자 오염된 인삼제품으로부터 1종의 부패성 효모를 분리하였다. 이후 분리된 효모의 형태학적, 배양학적, 생리학적, 생화학적 특성을 조사한

결과 이 균은 크기가 2.0~2.5  $\mu\text{m}$ (직경)이었고, 타원형(ellipsoidal)이었으며 PDA 배지상에서 가균사를 형성하였다. 분리균은 glucose 이외의 당류는 발효시키지 못하였고, glucose, sorbitol, mannitol 등의 당류를 자화시켰으며 기타의 화합물에 대해서는 자화능이 인정되지 않았다. Nitrate 자화능이 없었고 cycloheximide 100 ppm 및 1,000 ppm에서 생육을 관찰할 수 없었으나 50% glucose yeast extract agar 배지 및 1% Acetic acid 존재하에서 생육이 관찰되었다. 이상의 결과로 오염된 인삼제품에서 분리된 부패성 효모는 내삼투압성 효모인 *Zygosaccharomyces* sp.의 유연균주로 생각되어 진다.

## 인 용 문 헌

1. 박세호, 유태종, 이석진 : 고려인삼학회지, 5(2), 139 (1981).
2. 양재원, 유태종 : 고려인삼학회지, 3(2), 113 (1979).
3. Cho, Y.D., Kim, T.U. and Choi, H.G. : *Korean J. Ginseng Sci.*, 5(1), 65 (1981).
4. 정노팔 : 대한생리학회지, 3(1), 45 (1969).
5. Joo, C.N., Cho, Y.D. and Kwon, H.Y. : *Korean Biochem. J.*, 11(2), 113 (1978).
6. 곽이성, 박재규, 김나미, 전병선, 양재원, 이광승 : 고려인삼학회지, 17(2), 148 (1993).
7. 정동근, 박길동, 하승수, 주현규 : 한국산업미생물학회지, 14, 391 (1986).
8. 양재원, 김영배, 유태종 : 한국산업미생물학회지, 13(4), 367 (1985).
9. Kreger-van Rij, N.J.W. : *The Yeast-a taxonomic study*. 3th ed., Elsevier-Science Pub. B.v., Amsterdam (1984).
10. Benson, H.J. : *Microbiological Applications*, 5th ed., Wm, C. Brown Publisher (U.S.A.), p. 59 (1990).
11. 유태종 : 식품미생물학, 문운당, p. 40 (1981).