

# 人蔘腐敗곰팡이의 形態 및 生理學의 特性에 關한 研究

鄭東坤 · 朴吉童 · 河承秀 · 朱鉉圭

建國大學校 農科大學  
(1986년 9월 2일 수리)

## Studies on the morphological and physiological characteristics of isolated strains from rotting ginseng

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

College of Agriculture, Kon Kuk University  
(Received September 2, 1986)

Three kinds of microorganisms were isolated and identified from the ginseng and ginseng products to research the properties of the molds which spoil the ginseng and ginseng products. The results obtained were as follows: (1) The predominant strains on ginseng products were *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.-A and *Penicillium* sp.-B. These predominant fungi deteriorated ginseng products exclusively. (2) *Aspergillus* sp. showed the greatest mycelial growth at 40°C and its optimum pH was 5, meanwhile *Penicillium* sp. showed the greatest mycelial growth at 30°C and its optimum pH was 3. (3) The growth of the isolated strains was stimulated with the increase in the concentration of saponin at the lower concentration, meanwhile it was inhibited at 1.0% concentration of saponin.

人蔘 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 은 約 5,000여년 전부터 民間醫學<sup>(1)</sup>으로 전래되어 왔으며 現代科學文明의 발달과 더불어 人蔘의 化學成分<sup>(2,3)</sup> 및 臨床學的<sup>(4)</sup>, 藥理學的<sup>(5,6)</sup> 側面에서 많은 研究가 이루어져 왔다.

1854年 Gariques<sup>(7)</sup>가 Canada 人蔘에서 saponin을 分離한 후 1906년 朝比奈<sup>(8)</sup>은 人蔘 saponin의 分子式을 밝혔으며, 近藤<sup>(9)</sup> 등은 saponin 分理方法을, 그리고 Shibata<sup>(10)</sup> 등은 Thin layer Chromatography로 13種의 saponin을 科學적으로 分離하였다.

한편, 人蔘 saponin이 微生物에 미치는 影響에 대한 研究에서 人蔘 saponin 濃度에 따른 *E. coli*의 脂質合成과 蛋白質合成 및 核酸合成에 미치는 影響<sup>(11)</sup>과 人蔘 saponin이 초산균, 젖산균, 알코올생성균에 미치는 影響 등<sup>(12,13,14)</sup>을 조사한 바 있다.

金<sup>(15,16)</sup> 등은 人蔘제품에 존재하는 微生物이 분비하는 酵素가 saponin 분해에 미치는 영향 및 白蔘에서 微生物의 분리 및 最適溫도와 pH 등을 調查報告한 바 있다. 그러나 저장중 각종 人蔘제품을 變

質시키는 微生物의 生理的 特性에 관해서는 별로 알려진 바가 없다. 따라서 本 研究에서는 人蔘原料 및 그 製品의 貯藏중에 變질을 방지하기 위한 基礎實驗으로서 白蔘, 紅蔘, 水蔘 및 人蔘茶 등에서 가장 잘 번식하여 변질시키는 곰팡이 3種을 分離同定하고, 그 分離한 곰팡이의 생육에 미치는 pH와 溫度 및 saponin 함량을 調查하였다.

### 實驗材料 및 方法

#### 材料

微生物 分離用 人蔘製品: 市中에서 구입한 紅蔘, 水蔘, 人蔘茶 등을 相對濕度 80% 이상의 室溫에서 3個月間 저장한 것을 使用하였다.

試料人蔘: 1983年 7월에 수확한 錦山產 四年根 水蔘을 使用하였다.

試藥: HPLC用 acetonitrile 및 butanol은 Merck 製 特級試藥이고 그 외의 buthanol, ethyl ether, ethanol, methanol은 日本和光工業(株)의 一級試藥

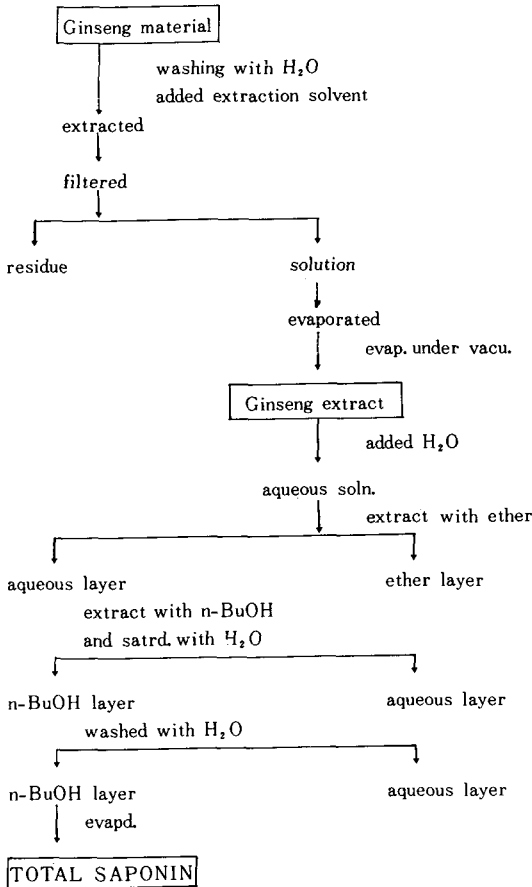


Fig. 1. Extraction procedure of total saponin from the ginseng.

이며 기타 試藥은 Difco (美国) 및 日本和光工業 (株) 의 것을 사용하였다.

方法

腐敗微生物의 分離培養<sup>(17)</sup>: 저장중 變質된 水蓼, 紅蓼, 白蓼 및 人蓼茶를 각 15 g씩 取하여 Czapeck 培地에 稀釋培養法 (Koch 轉種 주가 배양법)으로 純粹分離하고 分離된 菌株는 Czapeck 斜面培地에서 7 일간 30℃에서 培養하였다.

分離菌株의 同定: 純粹分離한 微生物을 Raper and Furnel分類法<sup>(18)</sup>과 Raper and Thom分類法<sup>(19)</sup>에 準하여 현미경 (Nikon, Japan)으로 검색하였다.

分離菌株의 接種培養: 常法<sup>(17)</sup>에 準하여 接種培養하였다.

Crude saponin의 調製<sup>(20)</sup>: 試料水蓼을 70% ethanol로 4時間씩 3回 加熱抽出한 후 추출액을 여과 지로 여과하고 70℃ 이하에서 蒸餾농축하여 얻은 고형분 60%의 人蓼抽出物을 5增量의 증류수에 溶解하여 Fig. 1 과 같이 Shibata 등의 saponin 抽出方

法<sup>(10)</sup>으로 crude saponin을 調製하였다.

液体培養: 100ml의 삼각 플라스크에 Czapeck 液体培地를 30 ml 씩 넣고 120℃에서 15分間 殺菌한 후 分離菌株의 培養液을 0.5ml 씩 接種하고 溫度別로 正치培養하였다.

人蓼 saponin添加培地의 培養: Czapeck 液体培地에 crude saponin을 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 % 씩 添加하여 120℃에서 15分間 殺菌한 후 分離菌株의 培養液 0.5ml 를 接種 正치培養하였다.

水蓼 및 乾蓼培地의 培養: 水蓼 30g, 乾蓼 20g을 各 15 mesh 정도로 粗碎하고 水蓼은 水分含量 70%, 乾蓼은 50%로 만든 다음 100ml 삼각 플라스크에 넣고 120℃에서 15分間 殺菌하여 分離菌株의 培養液을 1 ml 씩 接種한 후 培養하였다.

菌体量의 測定: Czapeck 液体培地에 分離菌株를 接種하여 培養한 培養液을 여지 (Toyo filter paper No. 2)로 여과하고 여과지상의 菌體를 증류수에 세척한 후 105℃에서 3時間 건조하여 菌体量으로 하였다.

Crude saponin의 分離同定: 液体培地의 경우 czapeck 液体培地를 여과지로 여과하여 菌體를 除去한 여액을 同量의 ether로 3回 抽出하여 遊離 脂肪酸 및 ether可溶性物質을 除去한 다음 Fig. 1 과 같은 crude saponin 調製方法으로 殘餘 saponin 을 分離하고, 이 saponin을 Table 1의 條件에서 HPLC로 分離同定하였다. 固体培地의 경우는 水蓼 및 乾蓼培地를 5배 가량의 50% ethanol로 3回 抽出하고 여과하여 減壓濃縮한 후 일정량을 取하고 증류수에 溶解하여 ether로 3回 抽出한 다음 液体培地의 경우와 같은 方法으로 crude saponin을 分離하였다.

分離菌株의 生育 pH 調查: 100ml 삼각 플라스크에 czapeck 液体培地 30ml 씩 넣고 pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8로 조절 (pH meter: Beckman ASAR-1)

Table 1. The condition of HPLC for analysis of ginseng saponin

Model	: Beckman gradient liquid chromatograph model 334
Column	: lichrosorb-NH <sub>2</sub> (4mm×30mm)
Solvent system	: acetonitrile:H <sub>2</sub> O:BuOH=80:20:15
Flow rate	: 1.5ml/min.
Detector	: RI
Sensitivity	: 8 X
Chart speed	: 1cm/min.
Injection vol.	: 20 μl
Recorder	: model C-RIA

**Table 2. Morphological characteristics of mold isolated from ginseng products.**

No. of strains	M-1	M-2	M-3
Morph Charact.			
Hyphae	+	+	+
Colonial color	Black	Blue	Pearl Blue
Conidial heads	Black	Blue	Peal Blue
Vesicle shape	Flask	Globose	Globose
Sterigmata	Single	Mono verticillate	Poly verticillate
Septa	+	+	+
Perithecium	+	+	+
Conidiphore	Smooth	Smooth	Smooth
Identification	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp. -A	<i>Penicillium</i> sp. -B

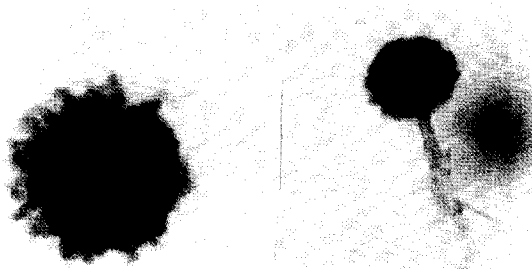
하여 120℃에서 15분간 殺菌한 후 分離菌株의 培養液을 0.5ml 씩 接種하고 35℃에서 2, 4, 6, 8 및 10日間 培養한 다음 그 菌体量으로 分離菌株의 pH別 生育을 調査하였다.

分離菌株의 生育溫度 調査 : Czapeck 液体培地를 100ml 삼각 플라스크에 각각 30ml 씩 넣고 120℃에서 15분간 殺菌한 후 分離菌株의 培養液을 0.5 ml 씩 接種하여 20, 25, 30, 35, 40, 45℃에서 2, 4, 6, 8 및 10日間 培養하고 그 菌体量으로 溫度別 生育을 調査하였다.

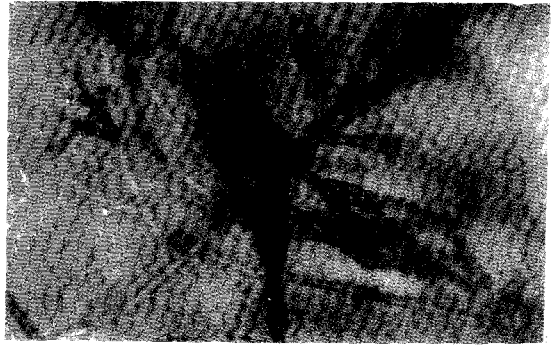
**結果 및 考察**

**人蔘腐敗微生物의 分離同定**

水蔘, 紅蔘, 白蔘 및 人蔘茶에서 微生物을 分離한 結果 대부분의 곰팡이와 細菌으로 추정되는 數種의 colony가 나타났고 yeast의 colony는 보이지 않았다. 그중 곰팡이 colony를 分離培養한 結果 colony색으로 区分하여 black, blue, pearl blue의



**Fig. 2. Photomicrographs of *Aspergillus* sp.**



**Fig. 3. Photomicrographs of *Penicillium* sp. - A**

3種의 곰팡이가 가장 잘 生育되었고 기타 곰팡이 (yellow-mold, brown-mold) 등은 生育이 不良하였다. 이중 어느 人蔘製品에서나 生育이 잠된 3種의 곰팡이를 選定하여 black mold는 Raper and Funnel 分類法<sup>(18)</sup>으로 blue mold와 pearl blue mold는 Raper and Thom 分類法<sup>(19)</sup>에 따라 形態的 特性을 관찰한 結果는 Table 2 및 Fig. 2, 3, 4와 같다. Black mold는 hyphae에 septa가 있고 conidiphore의 맨 끝이 팽대하여 플라스크狀의 vesicle을 형성하며 分生孢子頭의 색깔은 흑색이었고 頂囊 表面에 sterigmata가 생기고 그 先端에는 分生孢子 (conidia)가 착생하여 *Aspergillus* sp.로 추정할 수 있었다.

Blue mold는 菌絲에는 septa가 있고 被子器 (perithecium)를 形成하였으며 分生孢子柄의 맨 끝이 分枝하여 梗子와 分生孢자를 착생함으로 *Penicillium*속으로 추정하였으며, 分生孢子頭와 colony 색깔이 blue인 것은 *Penicillium* sp. -A pearl blue인 것은 *Penicillium* sp. -B로 表示하였다.

李<sup>(21)</sup> 등은 人蔘에서 *Aspergillus* 및 *Penicillium*과 *Mucor*속이 人蔘에 存在함을 확인하였으나 本 실험에서는 *Mucor*속이 分離되지 않았다. 그러나, *Aspergillus* sp. 및 *Penicillium* sp.는 人蔘 및



**Fig. 4. Photomicrographs of *Penicillium* sp. - B**

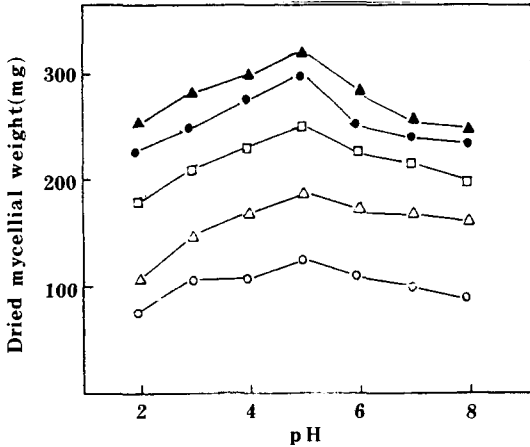


Fig. 5. Comparison of dried mycelial weight of *Aspergillus* sp. on various pH and culture periods.

○—○, △—△, □—□, ▲—▲ and ●—● are 2, 4, 6, 8, and 10 days of culture periods, respectively.

그 製品에서 가장 잘 生育할 수 있음을 보여주었다.

分離菌株의 生育 pH와 溫度 調査

生育 pH 調査 : 人蔘製品에서 分離된 腐敗微生物을 cazpeck 培地에서 pH를 달리하여 菌體量을 調査한 결과는 Fig. 5, 6, 7과 같다. *Aspergillus* sp.와 *Penicillium* sp. -A는 일반적으로 pH에 관계없이 培養時間이 길어짐에 따라 8일까지는 菌體量이 계속 增加하였고 그 후에는 감소하는 경향을 보였으며 *Penicillium* sp. -B는 10일까지 계속 성장하는 추세를 보였다. 또한, *Aspergillus* sp.는 pH 5

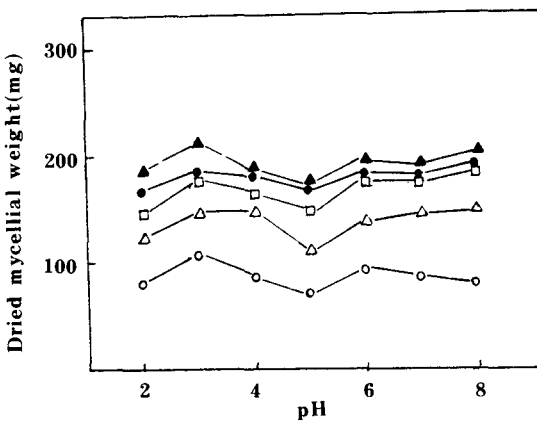


Fig. 6. Comparison of dried mycelial weight of *Penicillium* sp. - A on various pH and culture periods.

○—○, △—△, ●—●, ▲—▲ and □—□ are 2, 4, 6, 8 and 10 days of culture periods respectively.

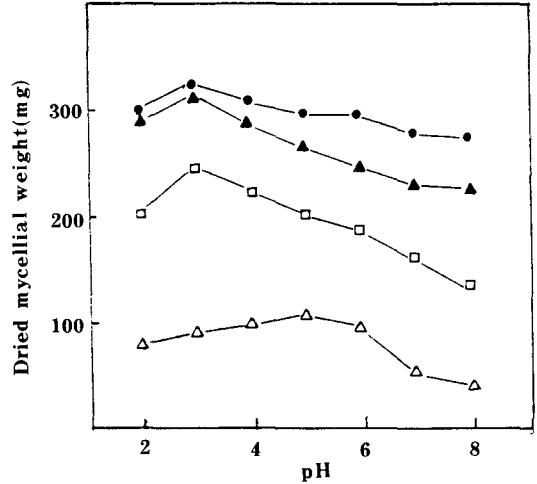


Fig. 7. Comparison of dried mycelial weight of *Penicillium* sp. - B on various pH and culture periods.

△—△, □—□, ▲—▲ and ○—○ are 4, 6, 8 and 10 days of culture periods, respectively.

에서 가장 生育이 促進되었으며 *Penicillium* sp. -A와 *Penicillium* sp. -B는 pH 3에서 대체로 菌體量이 가장 많았으나 그중 *Penicillium* sp. -A는 비교적 산·알카리 어느쪽에서도 잘 生育되는 것으로 나타났다. *Penicillium* sp. -B의 菌體量은 pH 3以上에서는 점차 감소되는 경향을 보였고 산성에서는 비교적 잘 자랐다.

白蔘表皮로부터 發生한 *Aspergillus* sp.가 pH 5에서 生育이 가장 促進되었다는 金<sup>(16)</sup> 등의 보고를 본 실험에서 分離된 *Aspergillus* sp.의 生育最適 pH와 類似하였다.

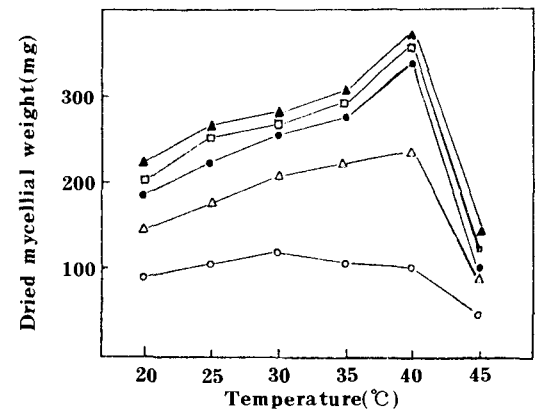


Fig. 8. Comparison of dried mycelial weight of *Aspergillus* sp. on various temperature.

○—○, △—△, □—□, ▲—▲ and ●—● are 2, 4, 6, 8, 10 days of culture periods, respectively.

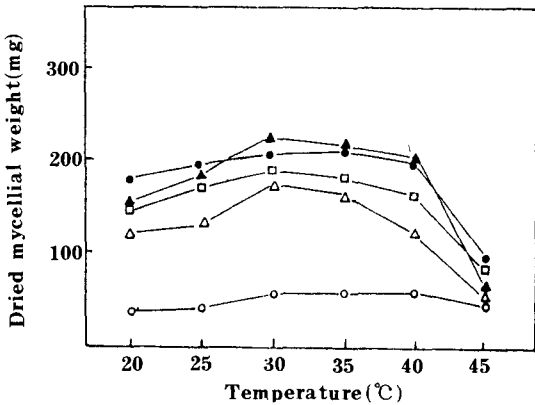


Fig. 9. Comparison of dried mycelial weight of *Penicillium sp.-A* on various temperature.

○—○, △—△, □—□, ▲—▲ and ●—● are 3, 4, 6, 8 and 10 days of culture periods, respectively

生育温度 調査 : 人蔘製品에서 分離한 菌株를 温度別 (20, 25, 30, 35, 40, 45°C)로 2, 4, 6, 8, 10 일간 각각 培養한 結果는 Fig. 8, 9, 10과 같다.

分離된 3種의 곰팡이는 一般的으로 8 일간 培養했을 때 최대의 菌体量을 나타낸 후 다소 감소하는 경향을 보였다. *Aspergillus sp.*의 菌体量은 培養温度가 높아짐에 따라 점점 增加하여 40°C에서 最高의 菌体量을 보인 후 2일 培養을 제외하고는 모두 45°C에서 급격히 감소하는 경향이였다.

*Penicillium sp.-A*와 *Penicillium sp.-B*는 2일 培養의 경우를 제외하고 모두 30°C에서 最高의 菌体量을 나타내었으며, *Aspergillus sp.*와 *Peni-*

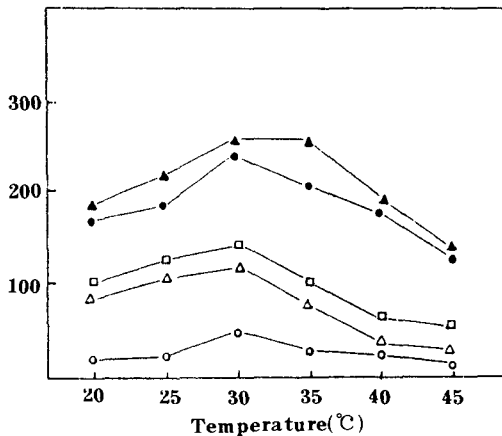


Fig. 10. Comparison of dried mycelial weight of *Penicillium sp.-B* on various temperature

○—○, △—△, □—□, ▲—▲ and ●—● are 2, 4, 6, 8 and 10 days of culture periods, respectively.

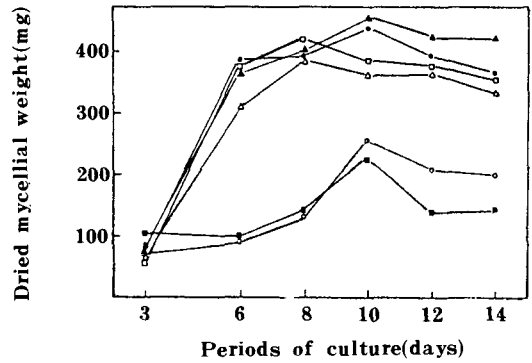


Fig. 11. Comparison of dried mycelial weight of *Aspergillus sp.* on various saponin concentrations.

○—○, △—△, □—□, ●—●, ▲—▲ and ■—■ are controls, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 and 1.0% of saponin concentrations, respectively.

*illus sp.-A*는 45°C 이상에서, *Penicillium sp.-B*는 40°C 이상에서 모두 菌体量의 감소가 현저하였다. 따라서 *Aspergillus sp.*의 最適生育温度는 40°C로 비교적 高温이고 *Penicillium sp.*의 最適生育温度는 30°C로 中温에 속하는 菌体임을 알 수 있다.

본 실험에서 分離된 *Aspergillus sp.*의 生育温度는 金<sup>(10)</sup> 등의 白蔘表皮에서 分離한 *Aspergillus sp.*의 生育最適温度 35°C 보다 다소 높은 温度였으며 菌種은 相異하지만 *Penicillium sp.-A*와 *Penicillium sp.-B*는 이보다 生育最適温度가 5°C 정도 낮았다.

人蔘 saponin添加와 人蔘敗菌의 生育

Czapeck液体培地에 人蔘 saponin을 含量別 (0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0%)로 添加하고 培養한 人蔘腐敗菌의 生育을 菌体量으로 調査한 結果는 Fig. 11,

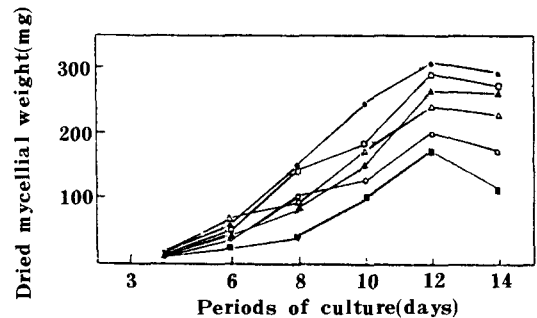


Fig. 12. Comparison of dried mycelial weight of *Penicillium sp.-A* on various saponin concentration.

○—○, △—△, □—□, ●—●, ▲—▲ and ■—■ are controls, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 and 1.0% of saponin concentrations, respectively.

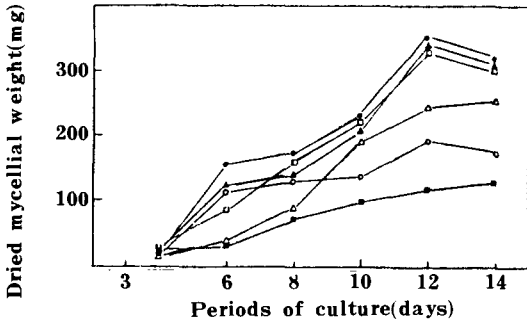


Fig. 13. Comparison of dried mycellial weight of *Penicillium sp.-B* on various saponin concentration. ○—○, △—△, □—□, ●—●, ▲—▲ and ■—■ are controls, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 and 1.0% of saponin concentrations, respectively.

12, 13 과 같다. 分離된 3 種의 人蔘腐敗微生物은 모두 人蔘 saponin 添加量이 증가함에 따라 菌体量도 增加하여 *Aspergillus sp.* 는 0.7%, *Penicillium sp.-A* 와 *Penicillium sp.-B* 는 0.5%의 人蔘 saponin 添加区에서 最大의 菌体量을 보였다. 그러나, 人蔘 saponin 을 1.0% 添加한 培地에서는 菌体量이 모두 현저하게 감소되었다. 期間別 培養에서 *Aspergillus sp.* 는 초기에 급격히 성장을 하여 8~10일경에 가장 높은 菌体量을 나타낸 반면 *Penicillium sp.-A*와 *Penicillium sp.-B* 는 완만하게 성장하여 培養 1, 2일경에 최대의 菌体量을 나타냈고 그후부터 감소하는 경향을 보였다.

본 실험결과와 人蔘 saponin 成分이 積산균 生育에 별다른 영향을 미치지 않는다는 梁<sup>(13)</sup> 등의 보고와는 상이하게 나타났다. 그러나 crude saponin 濃도가  $4 \times 10^{-3} \sim 1.6 \times 10^{-2}$  % 일때 대조구에 비하여 *Candida utilis* 의 生育이 促進되었다는 盧<sup>(22)</sup>의 報告와 그리고 0.08%의 saponin 濃度에서 *Saccharomyces* 의 生育이 促進되었고<sup>(17)</sup> crude saponin 添加가 *Rhodotorula glutinis*<sup>(23)</sup>의 生育을 促進했다는 보고등과 같이 菌種은 다르지만 saponin 이 少量에서는 促進되고 어떤 適量 이상에서는 抑制하는 類似的한 경향을 보였다.

要 約

人蔘 및 人蔘製品을 變質시키는 곰팡이를 防止하기 위한 기초조사로서 그 變質곰팡이의 生理를 究明하기 위하여 人蔘 製品에서 3種의 微生物을 分離同定한 후 이들의 生育條件을 조사한 結果는 다음과 같다.

1. 人蔘 및 人蔘製品에서 가장 잘 生育하는 곰팡이는 *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.-A*, 및 *Penicillium sp.-B* 로 分離同定되었다.

2. 分離菌株의 生育最適溫度는 *Aspergillus sp.* 가 40℃, *Penicillium sp.-A* 와 *Penicillium sp.-B* 가 30℃ 이며, 生育最適 pH는 *Aspergillus sp.* 가 pH 5 이고 *Penicillium sp.-A* 와 *Penicillium sp.-B* 는 pH 3 이다.

3. *Aspergillus sp.* 는 saponin 0.7% 添加区에서 *Penicillium sp.-A* 및 *Penicillium sp.-B* 는 saponin 0.5% 添加区에서 가장 높은 菌体量을 보였으며 saponin 1% 添加区에서 3 菌株 모두 生育이 저해되었다.

참고문헌

1. 今村柄：人蔘藥用歷史の 概梗 人蔘史 (V), 思文閣, 京都, 13-75 (1965)
2. 鄭普燮：韓國產人蔘에 關한 研究 (1), 生藥學會誌, 5 (3), 173-177 (1974)
3. 禹麟根, 韓秉勳, 朴大成, 羅雲龍：生藥學會誌, 4 (4), 181-184 (1973)
4. 高동성, 전세열：生藥學會誌, 11 (1), 17-18 (1978)
5. 吳鎭燮, 林定圭, 朴贊雄, 韓民子：大韓藥理學雜誌, 4 (27), (1968)
6. Kim H. C.: *Insam Munhun Jeukjip I*, 129 (1962)
7. Garriques, S. S.: *Chem. pharm.* 90, 231-234 (1854)
8. 朝比奈泰彦, 田口文太：日藥學雜誌, 26, 549-559 (1906)
9. 近藤平三郎, 天野梅太郎：日本藥學雜誌, 779 (1926)
10. Shibata, S., O. Tanaka, T. Ando, M. Sado, S. Tsushima and T. Quhawa: *Chem. pharm. Bull.*, 14 (6), 559 (1966)
11. Joo, C. N., Y. D. Cho and H. Y. Kwon: *Korean Biochem. J.* 11 (2), 125 (1978)
12. 南成熙, 劉太鍾：高麗人蔘學會誌 4 (2), 121-145 (1980)
13. 梁幸源, 劉太鍾：高麗人蔘學會誌 3 (2), 113-126 (1979)
14. 朴卉浩, 劉太鍾, 李錫建：高麗人蔘學會誌 5 (2), 139-147 (1978)
15. 金相達：慶北大博士學位論文 (1980)
16. 金相達, 盧惠媛：人蔘研究報告書 (製品分野) 한 국인삼연구소, 137-155 (1981)

17. 정동효, 주현규, 유주현, 서경훈 : 微生物實驗, 유풍출판사, 24-28 (1980)
18. Raper, K. B. and P. L. Fennel : The Genus *Aspergillus*, Williams & Wilkins, Baltimore (1965)
19. Raper, K. B. and C. Thom, : A Manual of Penicillia, Williams & Wilkins, Baltimore (1968)
20. 朱鉉圭, 曹圭成 ; 高麗人蔘學會誌, 3 (1), 40-53 (1979)
21. 이양희 ; 紅蔘製品の品質管理용역보고서, 전매청 (1977)
22. 盧善學 ; 建國大學校 大學院 碩士學位論文 (1982)
23. 李時環, 朱鉉圭 ; 産業微生物學會誌, 13 (2), 109-114 (1985)