

## 五味子茶液 貯藏時의 腐敗와 이에 關여하는 微生物에 關한 研究

이효선 · 경규항\* · 유양자 · 박승애

세종대학교 식품과학과\*, 가정학과

### A microbiological investigation of Omija (*Schizandra chinesis* Baillon) tea spoilage during storage

Hyo Sun Lee, Kyu Hang Kyung\*, Yang Ja Yoo, and Seung Ae Park

Department of Food Science\*, Home Economics King Sejong University

#### Abstract

Omija tea with a pH range of 2.8~3.0 was stored at 25°C to study its spoilage due to microbial growth. Titratable acidity was increasing during the storage period in the tea stored with the Omija fruits but not in removed of the fruits after extraction. Microbial cells began to show up earlier in the tea without the fruits than that with the fruits. Four strains of yeasts and a strain of mold were isolated from spoiled Omija tea. Morphological, cultural and physiological characteristics of yeasts were investigated and the yeasts were identified as *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces kluyveri*, *Cryptococcus hungaricus* and *Candida humicola*. Morphological characteristics of the isolated mold was observed and the mold was identified as *Mucor circinelloides* f. *janssenii*.

#### I. 序 論

五味子(*Schizandra chinesis* Baillon)<sup>1)</sup>는 우리 나라山野에 自生하는 열매로서 다섯가지 맛(五味; 酸, 苦, 甘, 辛, 鹹)을 갖추어五味子라는 이름이 생긴 것이며<sup>2)</sup>, 古來로부터 漢方醫學에서 鎮咳·收斂·滋養 및 強壯藥 등으로 사용되어 왔고<sup>3)</sup>, 日本에서는五味子茶나五味子화채 등과 같은 飲料의 基液으로 사용되어 왔다. 현재는 산간지방에서 인공재배에 성공하여 대량생산(약 10ton/1980)되고 있다<sup>4)</sup>.五味子茶液의 藥理學的 效果와 食品化學的 有效成分에 대하여 많은 사람들에

게 관심의 대상이 되고 있으나五味子の 국내 研究로는 金等<sup>5)</sup>과 梁等<sup>6)</sup>의 오미자의 일반성분 및 anthocyanin 色素와 關連된 研究가 있을 뿐이다.

성숙한五味子の 主成分으로는 水分 84.2%, 脂肪 0.9%, 還元糖 10.9%, 蛋白質 1.1%와<sup>3)</sup> 精油(主로 citral),五味子素(schizandrin C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>) 0.12%·비타민 A類物質·비타민 C·有機酸 等인데<sup>1)</sup>, 有機酸에는 citric acid 3.5%·malic acid 1.1%, succinic acid 0.2%로 組成되었다고 보고된 바 있으며<sup>3)</sup>, 기타 pseudo-γ-schizandrin, deoxyschizandrin 과 schizandrol 을 약간씩 包含하고 있다<sup>5)</sup>.

五味子の 主要色素는 anthocyanin 으로<sup>3,4)</sup>五味子를

물에 우려낸 五味子茶液은 붉은색을 내고 신맛이 무척 강하며 여름철에 많이 마시게 되는데, 本 研究에서와 같이 五味子茶液을 만들었을 때의 pH는 3.0 이하로서 高酸性食品(high acid food) (Cameron, 1941)이라 할 수 있다. 高酸性食品의 부패균으로는 自然에 存在하는 酵母와 곰팡이가 있다<sup>6)</sup>. 곰팡이와 酵母는 약산성(pH 5.0~6.0)에서 잘 生育하나 耐酸性을 가지고 있어 pH 2.0 또는 그 이하의 영역에서도 生育하는 것이 많다<sup>7)</sup>.

五味子茶液의 pH는 微生物을 阻害할 수 있는 매우 낮은 pH 이나 여름철의 평균기온(한국기후표, 1982)<sup>8)</sup>과 유사한 25°C에 저장했을 때 耐酸性微生物이 관여하여 腐敗를 일으킬 수 있다.

本 研究에서는 微生物에 의한 變敗를 중심으로 여름철 外氣環境에서의 五味子茶液의 腐敗現象과 이에 관련된 微生物을 分離·同定하여 五味子茶液의 보관 및 貯藏飲料로서의 가능성을 알아보려고 한다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材 料

서울 시내 중로 4가에 소재하고 있는 漢醫院에서 구입한 강원도 인제產 五味子(1985年產)를 사용하였다.

### 2. 實驗方法

#### (1) 五味子茶液의 調劑

五味子茶液은 윤<sup>9)</sup>의 五味子茶液 만들기를 근거로 하여 만들었으며 이 液을 菌分離源으로 사용하였다.

오미자茶液은 열매가 든 채로 25°C에서 5시간 용출시킨 후에 하나의 試料는 열매를 걸러내고, 다른 試料는 열매가 들어있는 채로 25°C에서 저장하면서 腐敗現象을 관찰하였다.

#### (2) 腐敗의 指標 測定

五味子茶液을 25°C에 저장하면서 10ml를 취하여 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N-NaOH로 滴定한 알칼리의 양을 citric acid로 환산하여 滴定酸度로 표시하였으며, 동시에 pH는 pH-meter(TOA pH Meter HM-7B, Japan)를 이용하여 測定하였다. 生菌數는 미리 준비한 yeast extract(0.3%)—malt extract(0.3%)—peptone(0.5%)—glucose(1.0%)—agar(YM PGA)에 평판주거법에 의해 接種하여 28°C에서 48시간 배양한 후 나타나는 集落을 計數하였으며 그 숫자를 colony-forming unit(CFU)로 표시하였다.

#### (3) 腐敗微生物의 分離

저장 중 부패되고 있는 오미자茶液으로부터 부패미생물을 分離하기 위해 YMPGA 培地에 quadrant stre-

aking<sup>10)</sup> 法으로 接種하여 28°C에서 48시간 배양시켰으며 각각의 순수한 미생물을 분리하기 위하여 quadrant streaking 과정을 2회 반복하였다.

#### (4) 酵母와 곰팡이의 同定

酵母는 Lodder<sup>11)</sup>와 Barnett 등<sup>12)</sup>의 방법을 참고로 하였고 孢子形成育無를 알기 위해 potato glucose agar(PGA), acetate agar(AA)와 Gorodkawa agar(GA)를 사용하였으며 관찰을 용이하게 하기 위해 孢子染色<sup>13,14)</sup>을 하였다.

D-glucose, galactose, maltose, Me  $\alpha$ -D-glucoside, sucrose, trehalose, melibiose, lactose, cellobiose 및 raffinose의 發酵性을 0.5% yeast extract medium을 기본 배지로 하여 Durham 발효관으로 검사하였고 질산 및 아질산의 資化性은 11.7% yeast carbon base(Difco Laboratories, Detroit, MI)를 기본배지로 검사하였으며 glucose, galactose, maltose, lactose, raffinose, cellobiose, inulin, rhamnose, arabinose, soluble starch, sorbose, ribose, glucoside 등의 糖이나 기타 salicin, mannitol, inositol의 資化性은 6.7% yeast nitrogen base(Difco)를 기본 배지로 하여 검사하였다. Cycloheximide에 대한 耐性을 검사하였고 위의 모든 발효성 및 자화성 검사 물질들은 여과살균(0.22 $\mu$  pore, 25mm diameter: Gelman Sciences, Ann Arbor, MI와 Millipore Filter holder, Bedford, MASS)하여 보관하면서 사용하였다. 순수분리된 곰팡이는 YMPGA 및 PGA(peptone-glucose-agar)를 이용한 slide culture procedure에 의해 접종하여 실온과 20°C, 25°C, 28°C에 각각 배양하면서 집락(colony), 균사의 분지상태(branch), 포자낭(sporangium)의 모양, 크기 및 색, 가근(rhizoid), 후막포자(chlamyospore)와 접합포자(zygospore)의 유무를 현미경 관찰하였는데<sup>15,16)</sup> 곰팡이의 同定은 Domsch 등<sup>17)</sup>의 방법을 참고하였다.

## III. 結果 및 考察

### 1. 一般的 腐敗現象

滴定酸度 測定 結果는 Fig. 1과 같으며 오미자 열매가 들어있는 시료의 적정산도가 처음 얼마간 증가하는 것은 오미자열매 자체에서 산이 계속하여 용출되어 나온 것으로 볼 수 있고, 열매를 거른시료에서는 滴定酸度の 변화가 없었다. pH 測定 結果는 Fig. 2에서와 같이 열매가 들어 있는 시료의 pH가 초기에 갑자기 낮아졌는데, 이는 오미자열매에서 용출된 산의 영향으로 볼 수 있으며, 적정산도에서와 같이 일정한 시각이 지나면 시료의 pH가 크게 변하지 않았다. Fig. 3은 生

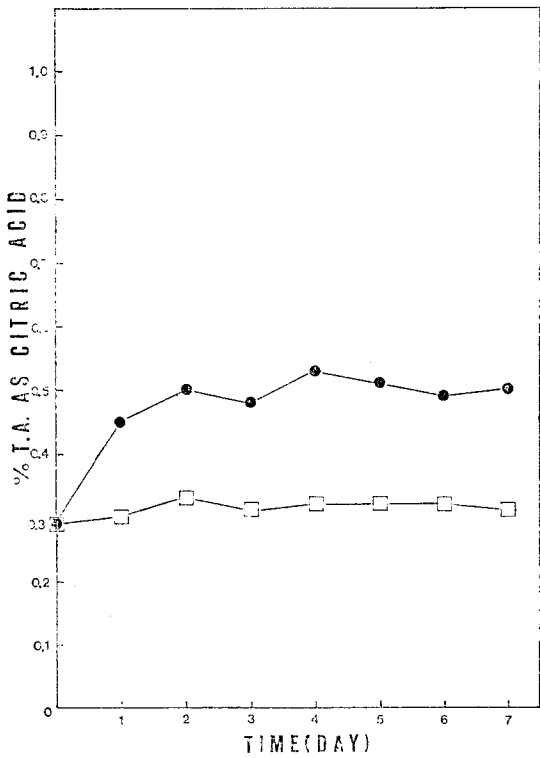


Fig. 1. Changes in titratable acidity during the storage of Omija tea: ●, unfiltered Omija tea; □, filtered Omija tea

菌數 測定 結果로 오미자 열매를 걸러낸 試料에서 集落이 먼저 나타나기 시작하였고, 열매가 들어 있는 試料에서는 이보다 조금 늦게 집락이 나타났는데, 이는 열매가 걸러진 시료의 酸度가 열매가 들어있는 시료의 산도보다 낮아 미생물이 增殖하기 좋은 조건이었기 때문으로 思料된다.

배양일수를 감안한 生菌數 測定 結果로 五味子茶液의 저장가능성을 보면 오미자열매를 걸러서 보관할 경우가 2일 정도였고, 오미자 열매가 들어 있는 채로 보관할 경우는 4일 정도 貯藏해 두고 사용할 수 있었다.

2. 腐敗 酵母와 곰팡이의 특징

분리된 효모의 形態學的 特性(Table 1), 培養學的 特性(Table 2), 生理學的 特性(Table 3)을 糾明한 결과 효모 I, II, III 및 IV는 각각 *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces kluyveri*, *Cryptococcus hungaricus*, *Candida humicola* 로 同定되었고, 이 중 孢子形成酵母는 *S. kluyveri* 뿐이며 다른 세 효모는 無孢子酵母이었다. 이들 네 菌株의 효모는 모두 純粹한 상태로 접종 배양했을 때 오미자茶液에서 잘 增殖하여 이들이

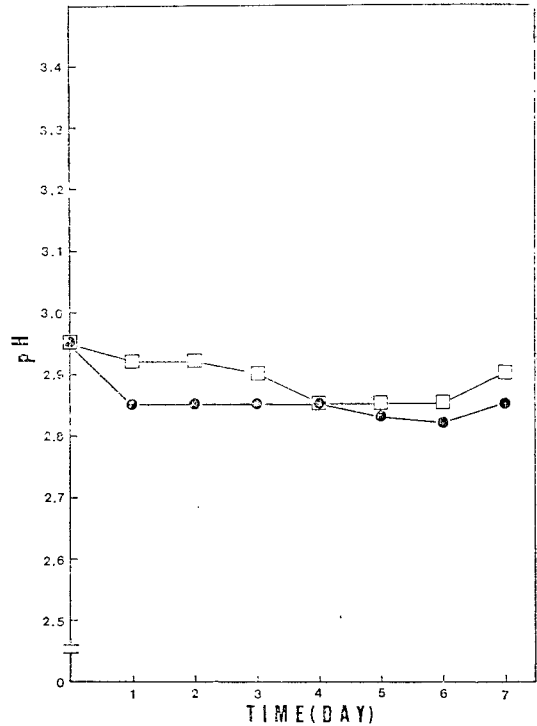


Fig. 2. Changes in pH during the storage of Omija tea: ●, unfiltered Omija tea; □, filtered Omija tea

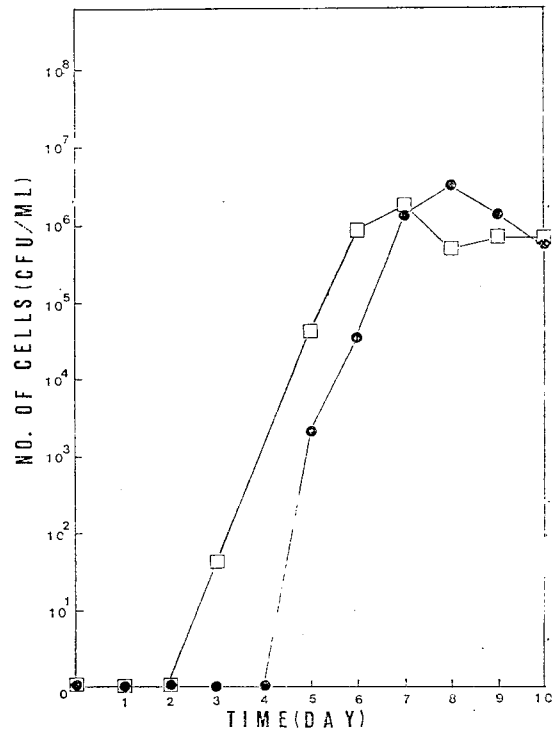


Fig. 3. Changes in viable counts during the storage of Omija tea: ●, unfiltered Omija tea; □, filtered Omija tea

Table 1. Morphological characteristics of yeasts isolated from spoiled Omija tea

Yeast isolates	Characteristics			
	Cell shape	Cell size( $\mu\text{m}$ )	Vegitative reproduction	Ascospore
I	Globose	(3.5~5.0) × (3.0~5.2)	Multilateral budding	Absent
II	Ovoid	(3.2~4.6) × (3.4~5.0)	Multilateral budding	Present (Globose)
III	Ovoid	(3.0~3.5) × (3.5~4.5)	Multilateral budding	Absent
IV	Pastorianus	(2.0~3.0) × (4.0~7.0)	Multilateral budding	Absent

Table 2. Cultural characteristics of yeasts isolated from spoiled Omija tea

Yeast isolates	Growth on a liquid medium			Growth on a solid medium		
	Pellicle	Sediment	Form	Edge	Elevation	Color
I	Absent	Moderate	Regular	Entire	Convex	Pink to reddish
II	Absent	Moderate	Regular	Entire	Umbonate	Cream
III	Absent	Moderate	Regular	Entire	Pulvinate	Yellowish cream
IV	Present	Moderate	Regular	Filamentous	Pulvinate	Yellow to orange

Table 3. Physiological characteristics of yeasts isolated from spoiled Omija tea

Yeast	Fermentation					Assimilation of N-sources		Assimilation of C-sources										Formation of starch material
	Gl	Ga	$\alpha$ -G	Su	Ra	KNO <sub>3</sub>	NaNO <sub>2</sub>	So	Ri	Xy	Ar	Rh	Ce	Me	La	Mn	In	
I	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
II	+	+	+	+	+	-	-	-	-	V	-	-	+	-	V	-	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV	-	-	-	-	-	V	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+, positive; -, negative; V, variable; Gl, glucose; Ga, galactose;  $\alpha$ -G, Me  $\alpha$ -D-glucoside; Su, sucrose; Ra, raffinose; Ri, D-ribose; Xy, D-xylose; Ar, L-arabinose and D-arabinose; Rh, L-rhamnose; Ce, cellobiose; Me, melibiose; La, lactose; Mn, D-mannitoid; In, myo-Inositol

Fermentation of maltose, trehalose, melibiose, lactose and cellobiose for all yeasts were negative.

Assimilation of galactose, sucrose, maltose, trehalose, salicin and raffinose for all yeasts were positive, but inulin assimilation was negative for all yeasts.

Growths with cycloheximide (0.1%, 0.01%) and with more than 50% glucose for all yeasts were negative. No yeasts grew at 37°C.

실제五味子茶液의 腐敗菌일 수 있음을 나타냈다(Data not shown). 분리된 효모 중 *C. humicola*는 액체배지 중에서 생육할 때 표면에 皮膜(pellicle)을 形成하는 産膜酵母(film yeast)이며, 피막을 형성하는 것으로 미루어 보아 발육시에 산소 요구가 많으며 酸化力이 強하다는 사실을 알 수 있었다(Table 2).

糖의 發酵力을 檢査한 결과(Table 3) *R. rubra*, *C. hungaricus*와 *C. humicola*는 발효성이 약하며 *S. kluyveri*는 발효성이 강하게 나타났고 高糖에서의 成長

檢査 결과 50% 糖과 60% 糖에서 네 효모 모두 성장하지 않았으므로 好參透壓成酵母(osmophilic yeast)는 아니었다.

分離된 곰팡이는 假根(rhizoid)과 葡伏枝(stolon)를 形成하지 않았으며<sup>18)</sup>, 集落表面이 전형적인 털곰팡이屬(*Mucor*)으로서 分枝의 형태는 *cymomucor*이며, *Mucor circinelloides f. janssenii*로 同定되었다. 곰팡이의 生理的 特性은 Table 4와 같다.

Table 4. Morphology of the mold isolated from spoiled Omija tea

Classification	Shape	Color	Width( $\mu\text{m}$ )	Length( $\mu\text{m}$ )	Diameter( $\mu\text{m}$ )
Colony	—	Greish	—	—	—
Hyphae	—	White	10~20	25~65	—
Sporangiophore	—	—	15~20	10~60	—
Branch	Cymomucor	—	—	—	—
Sporangium	Spherical and ellipsoidal	Dark brown to black	—	—	10~50
Columella	Spherical	—	—	—	(5.5×6.5)~(7.5×7.5)
Sporangiospore	Spherical to short-ellipsoidal	Dark brown to black	—	—	(4.0×4.0)~(7.0×8.0)
Rhizoid	Absent				
Chlamydospore	Not observed				
Zygospor	Not observed				

(—, Not applicable.)

## 要 約

五味子茶液은 여름철의 飲料나 화재의 基液으로서 많이 사용하고 있는데, 그 열매는 酸을 많이 함유하고 있어 pH가 낮아(2.8~3.0) 미생물의 成長을 效果적으로 沮害할 수 있는 pH를 가지나 25°C에 貯藏했을 때 腐敗가 일어나는 것이 확인되었고 腐敗菌은 곰팡이와 효모이었으며 세균은 관찰되지 않았다.

저장 중 腐敗되고 있는五味子茶液의 滴定酸度나 pH에는 그다지 큰 변화가 없었고 열매를 걸러낸 오미자茶液에서의 積性산도는 열매가 들어있는 오미자茶液보다 낮았는데, 그 이유는 열매가 들어 있는 오미자茶液의 열매에서 酸이 계속 용출되어 나왔기 때문으로 판단된다.

열매를 거른五味子茶液의 부패가 열매가 들어 있는 오미자茶液보다 조금 빠르며 그 貯藏性도 열매를 거른五味子茶液이 낮은 것으로 나타났다. 그러나五味子茶液의 색상과 맛의 效果로서는 걸러서 보관하되 장기적인 貯藏은 바람직하지 못하다.

## 참 고 문 헌

- 1) 李尙仁·安德均·辛民教, 漢藥臨床應用, 成輔社, 서울, p. 431, 1982.
- 2) 黃慧性, 韓國飲食, 民端出版社, pp. 129~130, 1982.
- 3) 金京任·南周享·權泰完, 五味子の一般成分, 有機酸 및 Anthocyanin 色素에 關하여, 韓國食品科學會誌, 3(2) : 178, 1973.
- 4) 梁熙天·李鍾文·宋基榜, 재배五味子の Anthocyanin 과 그의 안정성에 關하여, 韓國農化學會誌, 25(1) : 36, 1982.
- 5) 江蘇新醫學院, 中藥大辭典, 商務印書館香港分館印行, 香港, p. 387, 1978.
- 6) 朱鉉圭·金德雄·成河珍·趙源大, 食品貯藏學, 修學社, pp. 142~143, 1983.
- 7) Racca, J. and Mark, E.M., Yeast occurring in citrus product, Food Technology, 6 : 450, 1952.
- 8) 중앙기상대, 한국기후표(1), p. 5, 1982.
- 9) 尹瑞石, 韓國飲食—歷史와 調理—, 修學社, pp. 372~374, 1983.
- 10) Schoenhard, D.E., Basic laboratory technique and procedure in microbiology, Michigan State Univ. Press, pp. 41~49, 1979.
- 11) Lodder, J., The Yeasts, A Taxonomic study, 1st ed. North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1970.
- 12) Barnett, J.A. Payne, R.W. and Yarrow, D., A guide to identifying and classifying yeasts, Cambridge Univ. Press, pp. 39~276, 1979.
- 13) 劉太鍾 外 7人, 食品微生物學實驗書, 普成文化社, 서울, pp. 157~159, 1981.
- 14) Pelczar, M.J. and Chan, C.S., Laboratory exercises in Microbiology (4th ed), New York: McGraw-Hill Co., pp. 41~66, 1977.

- 15) 정동효 · 주현규 · 유주현 · 서경훈, 미생물실험, 유  
풍출판사, 서울, pp.74~93, 1980.
- 16) 梁且範 外 6人, 食品微生物學實驗書, 東明社, pp.  
64~81, 1978.
- 17) Domsch, K.H. Gams, W. and Anderson, Traute-  
Heidi, Compendium of soil fungi (Vol. 2), New  
York: Academic Press, pp.462~463,480, 1980.
- 18) 劉太鍾, 食品微生物學, 文雲堂, pp.92~93, 1986.