

고려인삼에서 분리된 *Penicillium* sp.의 동정 및 열저항성

곽이성* · 박채규 · 김나미 · 전병선 · 양재원 · 이광승

한국인삼연구소
(1993년 6월 13일 접수)

Identification and Thermal Resistance of *Penicillium* sp. Isolated from Korean Ginseng

Yi-Seong Kwak*, Chae Kyu Park, Na Mi Kim, Byeong Seon Jeon,
Jae Won Yang and Kwang Seong Lee

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea
(Received June 13, 1993)

Abstract□One kind of microorganism was isolated and identified from Korean fresh, white and red ginseng, and the effect of a preservative, sodium benzoate on the microorganism and its thermal resistant properties were studied. The results obtained were as follows. The predominant strain on ginseng and ginseng products was identified as *Penicillium* sp. The strain showed perithecium structure producing ascospores. The growth of the strain was slightly inhibited at 0.05% concentration of sodium benzoate. The minimal inhibitory concentration (MIC) of sodium benzoate against the strain was 0.26%. The D value of the strain at 56, 59, 62°C were 9.9, 5.0 and 4.5 min, respectively.

Key words□*Panax ginseng* C.A. Meyer, *Penicillium* sp., minimal inhibitory concentration (MIC), thermal resistance, D value.

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 예로부터 인체에 대한 안정성과 그 약효로 인해 즐겨 애용되어지고 있으며 최근 현대인의 생활양식이 변화하여 복용방법도 인삼자체 뿐만 아니라 생약복방제 등 다양한 종류의 제품으로 제조, 가공되고 있어 제품의 유효 성분 보존 및 균등한 품질유지를 위하여 합리적 원료관리, 유효성분 보존 제조공정의 확립이 요청되어지고 있다. 미생물의 성장, 번식에는 수분이 필요하고 수분활성도 0.95 이하에서는 곰팡이가 문제가 된다고 알려져 있으며,^{1) 정 등²⁾}은 인삼 및 인삼제품에서 *Aspergillus* 속 및 *Penicillium*속 등의 곰팡이가 가장 잘 생육한다고 보고하였다. 그러나, 국내의 내열성 미생물에 관한 연구중 부패세균에 관한 것은 몇몇 연구

자들³⁾에 의해 보고되어 졌으나 곰팡이의 내열성에 대해서는 거의 연구가 없는 실정이다. 따라서 본 실험은 원료 인삼중에서 잘 생육하는 곰팡이를 분리하여 그 형태학적 특징 및 동정을 행함과 아울러 이균이 오염되었을 경우 품질안전성을 고려하여 이균의 내열성을 조사함으로써 인삼을 원료로 하는 제품의 최적살균조건 설정을 위한 기초자료를 제공하고자 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

수삼(4년근), 백삼(5년근)은 시중에서 구입하였고 홍삼은 한국담배인삼공사로부터 제공받아 사용하였다.

2. 곰팡이의 분리

백삼, 수삼, 홍삼을 Waring blender로 마쇄한 후 각각 10g씩 취하여 Czapek 배지에 pour plate method⁸⁾로 접종한 후 발생한 곰팡이를 분리하였고 분리된 균주는 Czapek 사면배지에서 25°C, 7일간 배양하였다.

3. 균주의 동정

균주는 Czapeks agar(NaNO₃ 3g, K₂HPO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.05g, KCl 0.5g, FeSO₄·7H₂O 0.01g, Sucrose 30.0g, agar 15.0g, pH 6.8, water 1000 ml)와 이배지에 20% sucrose를 함유한 Czapeks agar 및 malt extract agar(Malt extract 20.0g, peptone 1.0g, dextrose 20.0g, agar 20.0g, D.W. 1000 ml) Plate에 각각 3점 접종하여 25°C에서 7일간 배양한 후 colony의 형태적 특성을 관찰하였고 미세구조는 광학 현미경(Nikon, Japan)을 이용하여 조사하였다. 동정은 Raper and Thom 분류법⁹⁾에 준하여 행하였다.

4. 생균수의 측정

생균수는 Pour plate method⁸⁾에 의하여 측정하였다. 사용배지는 PDA(potato dextrose agar, DIFCO사)를 사용하였으며 28°C incubator에서 60시간 배양한 후 나타나는 colony 수를 측정하였다.

5. Spore suspension의 조제

Spore suspension은 순수분리된 곰팡이 균주를 Czapek배지상에서 60시간 활성화시킨후 Collins 등¹⁰⁾의 방법에 의해서 조제하였다. Spore농도의 조정은 haemocytometer를 이용하여 10⁵ -10⁷/ml이 되도록 행하였다.

6. Sodium benzoate 농도별 생육억제효과 조사

Sodium benzoate 농도를 0.0, 0.25, 0.05, 0.26, 0.40%로 달리하여 PDA 배지에 넣고 plate를 만든 다음 곰팡이 포자를 1백금이 접종하여 25°C에서 60시간 배양한 후 곰팡이의 생육억제효과를 조사하였다. 곰팡이의 생육정도는 colony의 직경(mm)으로 표시하였다.

7. 열저항성시험

Stevenson¹¹⁾과 Menegazzi and Ingledew¹²⁾의 방법을 이용하여 Czapek 배지에서 60시간 동안 전배양한 분리균의 spore suspension을 pH가 5.0으로 조정된 0.5% peptone water(containing 0.085% NaCl)에 접종하였다. Water bath를 이용하여 살균시간 및 온도를 달리하여 열처리한 후 유수로 급랭하여 앞에서 설명한

생균수 측정방법에 준하여 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 곰팡이의 분리 및 동정

백삼, 수삼 및 홍삼에서 미생물을 분리한 결과 대부분의 곰팡이와 세균으로 추정되는 수종의 colony가 나타났으며 그중 곰팡이 colony를 분리배양한 결과 colony색으로 구분하여 black, blue, yellow olive brown등 수종의 곰팡이가 잘 생육되었다. 이중에서 백삼, 수삼 및 홍삼시료 모두에서 잘생육되고 출현 빈도가 높은 yellow olive brown색의 곰팡이를 선정하여 Raper and Thom분류법⁹⁾에 준하여 형태적 특성을 관찰한 결과는 Fig. 1~3과 같았다. Hyphae는 격벽이 있었고 conidiophore는 smooth하였으며 vesicle은 관찰되지 않았다. Conidiophore의 맨끝이 분지

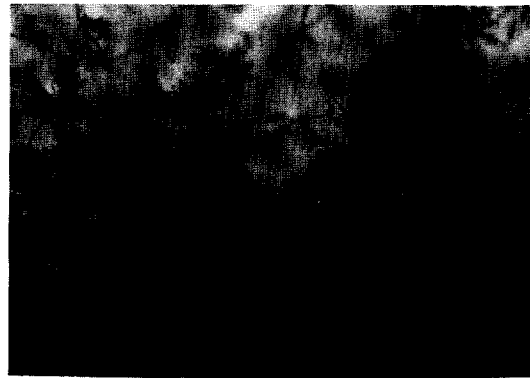


Fig. 1. Stereoscopic micrograph of isolated fungi (×100).

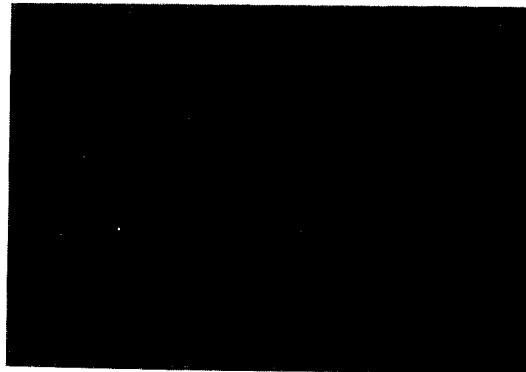


Fig. 2. Photomicrograph of isolated fungi (×400).

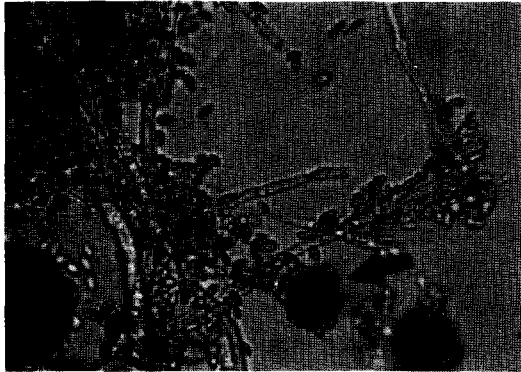


Fig. 3. Photomicrograph of perithecium (×400). Arrow indicates perithecium structure.

Table 1. The morphological characteristics of isolated fungi from ginseng and ginseng products

Morphological Charact.	Isolated Fungi
Hyphae	Present
Septa	Present
Colony color(on czapek)	Yellow olive brown
Vesicle	Absent
Sterigmata	Poly
	Asymmetrica
Conidiophore	Smooth
Perithecium	Present
Ascospore	Present
Conidia	Globose

하여 sterigmata가 생기고 그 선단에는 conidia가 착생하였다. 또한, Fig. 3에서 보는 바와 같이 무성포자를 함유하고 있는 perithecium을 형성하였다. 지금까지 요약된 이상의 경과(Table 1)로부터 이균은 *Penicillium* sp. 유연군주로 생각되어진다. 정 등²⁾은 인삼에서 *Aspergillus*, *Penicillium* 및 *Mucor*속의 존재를 확인하였으며 *Aspergillus* 및 *Penicillium*속이 인삼 및 그 제품에서 가장 잘 생육한다고 하였는데 이는 본 실험의 결과와도 일치하였다.

2. Sodium benzoate 농도별 생육억제 효과

일반적으로 살균제는 미생물을 단시간내에 사멸시키는 작용을 하는데 반해 보존료는 미생물의 생육을 억제시키는 정균작용을 한다고 알려져 있다.³⁾ 본 실험에서는 산업적으로 광범위하게 이용되어지고 있는 보존료, 안식향산나트륨(Sodium benzoate)농도를 0%에서 0.40%까지 달리하여 분리균 *Penicillium* sp.의

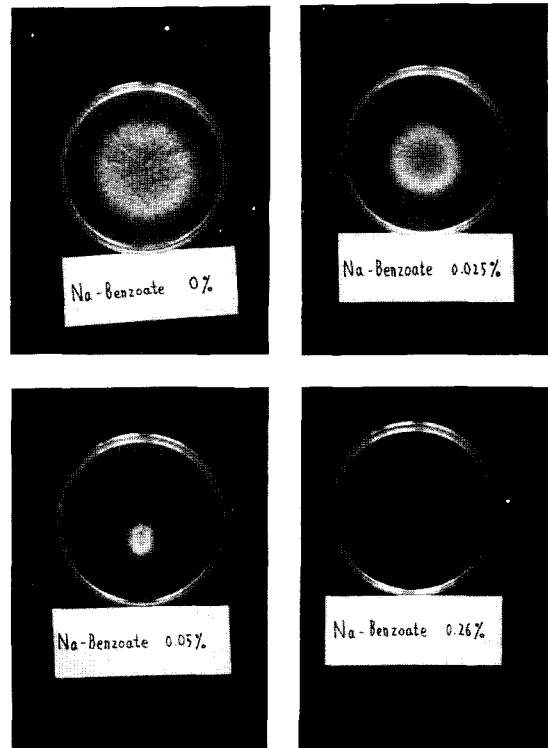


Fig. 4. The inhibitory effects of various sodium benzoate concentrations isolated *Penicillium* sp.

Table 2. The effects of various sodium benzoate concentrations on the colony size of isolated *Penicillium* sp. (diameter: mm)

Sodium benzoate Conc. (%)	Colony size
0.0	61
0.025	43
0.05	21
0.26	0
0.40	0

생육억제효과를 조사하였다. Fig. 4 및 Table 2에서 보는 바와 같이 안식향산 농도가 증가할수록 균의 생육이 억제되었으며 0.05% 농도부터 급격히 생육이 억제되어 0.26% 이상이 되면 전혀 생육할수없었다. 따라서 이균의 최소생육억제 농도(Minimal inhibitory concentration)는 0.26%로 생각되어진다. 안식향산에 대한 최소생육억제 농도는 *Aspergillus niger*의 경우 0.26%이고 *Mucor racemosus*는 0.12%로 보고 되어져 있는데¹³⁾, 분리균 *Penicillium* sp.는 0.26%로 *Aspergil-*

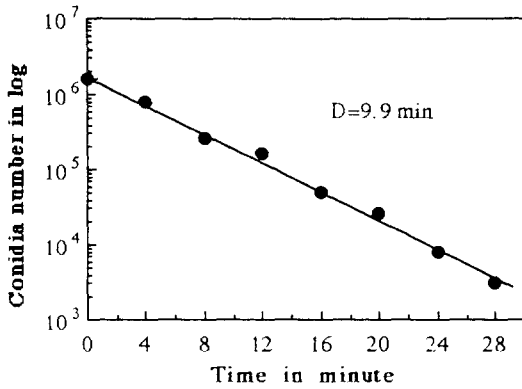


Fig. 5. The effect of heating time against conidia number heated at 56°C. The D value was obtained by deriving the time for curve to pass through one log cycle.

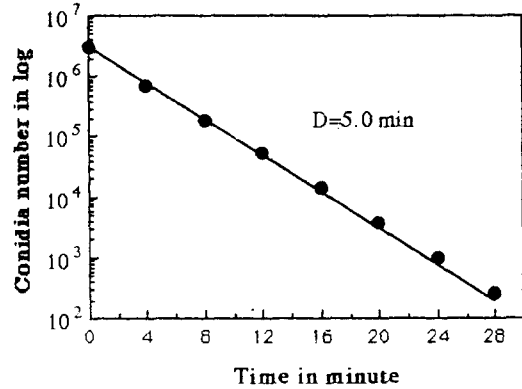


Fig. 6. The effect of heating time against conidia number heated at 59°C.

lus속과 거의 같은 수준의 최소생육 억제농도를 보여주었다.

3. 가열치사시간(Thermal Death Time)

일반적으로 공업용으로 많이 사용되고 있는 상업적 살균법(commercial sterilization)은 제품을 저장하는 동안 그 제품의 품질을 안전하게 보존할 수 있을 정도로 미생물수를 감소시키거나 생육활동을 억제 또는 변질과 관계가 있는 효소활동을 불활성화시키는 부분살균을 말하고 있다.¹⁴⁾ 미생물의 내열성은 Decimal reduction time(일명 D value)으로 표시되는데 이는 일정온도에서 초기의 미생물수를 10분의 1로 감소시키는데 필요한 시간을 말하며 D값이 크면 살균하는데 시간이 걸리고 D값이 적으면 살균이 용이함을 의미한다. 가장 내열성이 크다고 알려진 *Bacillus stearothermophilus*는 D값이 121°C에서 5분이며 *Clostridium thermosaccharolyticus*도 121°C에서 4분 이상이 걸린다고 알려져 있다.¹⁶⁾ Fig. 5~7에서 보는 바와 같이 분리균 *Penicillium* sp.의 경우 56°C에서의 D value는 9.9분, 59°C에서는 5.0분이었고 62°C에서는 4.5분이었다. 무성포자(ascospore)는 일반적으로 Conidia보다 열저항성이 높다고 알려져 있는데,¹⁵⁾ 분리균 *Penicillium* sp.의 경우도 무성포자를 생성하므로 이것이 내열성강화에 영향을 미친 것으로 생각된다. 따라서 인삼제품 및 인삼을 원료로한 제품의 공장조건에서의 상업적 살균시 이상의 결과를 기준살균치로도 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

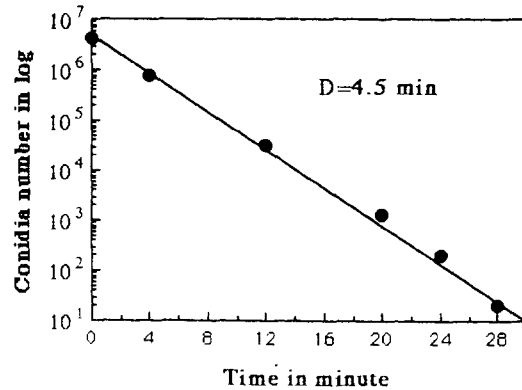


Fig. 7. The effect of heating time against conidia number heated at 62°C.

요 약

수삼 및 백삼, 홍삼으로부터 한종류의 미생물을 분리하였으며 이균은 원료인삼에서 공통적으로 우점종이었다. 이균의 동정을 행한 결과 이균은 곰팡이 *Penicillium* sp.속에 속하는 것으로 생각되어지며 20% Czapek 배지상에서 무성포자를 내포하고 있는 Perithecium 구조를 보여주었다. 분리균은 0.05% 안식향산농도에서 점차 생육이 억제되어 0.26% 이상의 농도에서는 완전히 생육이 억제되었다. 순수분리균 *Penicillium* sp.의 열저항성을 조사하기 위해 56, 59, 62°C로 온도를 달리하여 열처리한 결과 D value는 56, 59, 62°C에서 각각 9.9, 5.0, 4.5분이었다.

인용문헌

1. James, M.J.: *Modern Food Microbiology*, third edition. Wayne State University, Van Nostrand Reinhold Company, New York (1986)
2. 정동곤, 박길동, 하승수, 주현규: 한국산업미생물학회지, **14**, 391 (1986).
3. 우중학: 약학회지, **7**(2, 3), 42 (1963).
4. 구영조, 신동화, 김정옥, 민병용: 한국식품과학회지, **10**(2), 224 (1978).
5. 구영조, 민병용, 유태종: 한국식품과학회지, **11**(3), 153 (1979).
6. 구영조, 민병용, 유태종: 식품연구사업보고(농개공) 식가 **79-6**, 295 (1979).
7. 구영조: 석사학위논문, 고려대학교 대학원 (1980).
8. Beach, F.W. and Davenport, R.R.: *Methods in Microbiology*, **4**, 153, Academic Press London and New York (1971).
9. Raper, K.B. and Thom, C.: *A Manual of The Penicillia*. The Williams and Wilkins Company (1949).
10. Collins, C.H. and Patricia, M.L.: *Mycrobiological Methods*. Fifth edition, Butterworths p. 89 (1984).
11. Graumlich, T.R. and Stevenson, K.E.: *J. Food Sci.*, **43**(6), 1865-1870 (1978).
12. Menegazzi, G.S. and Ingledew, W.M.: *J. Food Sci.*, **45**, 182 (1980).
13. 장지현, 문범수, 김교창: 식품위생학, 수문사, p. 213 (1979).
14. 전재근: 식품공학. 개문사. p. 146 (1985).
15. Hawksworth, D.L, Sutton, B.C. and Anisworth, G. C.: *Anisworth and Biby's Dictionary of the Fungi*. seventh edition, Commonwealth Mycological Institute (1983).
16. Samson, R.A., Hoekstra, E.S. and Van Oorschot, C.A.N.: *Introduction to Food-Borne Fungi*, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, p. 227 (1981).