RESEARCH ARTICLE

남덕유산 월성계곡과 대전광역시 진잠천주변 등으로부터 선발된 국내 미기록 야생효모들의 균학적 특성과 주요 효소활성 및 생리활성

문정수, 안민영, 박맑음, 이종수^{*} 배재대학교 의생명과학과

Microbiological Characteristics, Enzyme Activity, and Physiological Functionality of Unrecorded Wild Yeasts from the Wolsung Valley of South Deogyu Mountain and Jinjamcheon in Daejeon, Korea

Jeong-Su Moon, Min-Young An, Mal-Geum Park, and Jong-Soo Lee Department of Biomedicine and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea

*Corresponding author: biotech8@pcu.ac.kr

ABSTRACT

This study aimed to screen and investigate the microbiological characteristics, enzyme activity, and physiological functionality of unrecorded wild yeasts from the Wolsung valley of South Deogyu mountain and Jinjamcheon in Daejeon city, Korea. Candida sorboxylosa WSC25-4 (NNIBRFG47336), Arxula adeninivorans WSC6-3 (NNIBRFG47335), Farysizyma taiwaniana JRC6-2 (NNIBRFG47339), Saturnispora dispora JTS19-1 (NNIBRFG47334), Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3 (NNIBRFG47337), and Vanrija fragicola SW-9(NNIBRFG47338) have not been previously recorded. None of these formed spores or pseudo-mycelium, and four strains, including C. sorboxylosa WSC25-4, were global in shaped. Except for V. polyspora JJCH5-3, all strains grew well in the yeast extract-peptone-dextrose (YPD), potato-dextrose, and yeast malt extract media. A. adeninivorans WSC6-3 and S. dispora JTS19-1 grew well in 40% glucose-containing YPD medium and V. fragicola SW-9 in 5% NaCl-containing YPD medium. The supernatant of A. adeninivorans WSC6-3, F. taiwaniana JRC6-2, and V. fragicola SW-9 exhibited 58.0, 59.0, and 59.0% of glucoamylase activity, respectively. C. sorboxylosa WSC25-4 also produced extracellular alkaline protease. Antioxidant activity of the supernatant from F. taiwanian JRC6-2 was high (79.8%), while the other five unrecorded yeasts demonstrated elevated antiaging superoxide dismutase (SOD)-like activity (99%). Anti-gout xanthin oxidase inhibitory activity of S. dispora JTS19-1 and V. fragicola SW-9 was also elevated at 79 and 80%, respectively.

Keywords: Enzyme activity, Microbiological characteristics, Physiological functionality, Unrecorded wild yeasts





pISSN: 0253-651X **eISSN**: 2383-5249

Kor. J. Mycol. 2023 March, 51(1): 39-49 https://doi.org/10.4489/KJM.20230004

Received: February 09, 2023 Revised: March 28, 2023 Accepted: March 29, 2023

© 2023 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed

under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

고등 미생물인 효모는 Candida albicans와 Cryptococcus neoformance 등을 제외한 대부분의 균들이 GRAS (generally recognized as safety)균으로 오래전부터 전통주와 된장 등의 전통 발효식품 제조에 이용해오고 있고[1,2], 비타민과 미네랄 등을 함유한 약용효모로 알려져 있다. 근래에 이들의 probiotics 등 다양한 생리활성들이 보고됨에 따라 일부 건강소재 생산에 이용되고 있고[2-10], 효소 등 다양한 대사산물들을 생산, 분비하고 이들의 기작들이 규명되어있어 외래단백질 발현을 위한 숙주 등의 분자생물학적 연구 재료로도 매우 유용한 미생물로 알려져있다[11].

최근 전 세계적으로 자국의 생물자원 보호에 대한 중요성이 크게 강조됨에 따라 우리나라도 환경부의 국립생물자원관과 국립낙동강생물자원관이 중심이 되어 우리나라에서 자생하고 있는 새로운 생물자원의 발굴과 이들의 보존 및 이용에 관한 연구를 활발히 추진해오고 있다.

우리 한반도는 연평균 기온이 20-30°C로 4계절이 분명하고 우기가 비교적 짧고 낙동강 등의 강과 하천들이 많고 남해안에 많은 섬들이 있어 다양한 생물자원들이 서식하기 좋은 환경이다. 따라서 최근 우리 고유의 생물체들이 많이 발굴 · 보고되고 있으며, 본 연구실도 지난 10년동안 우리나라 산이나 섬, 강과 하천, 해변, 도시, 농촌등의 토양이나 야생화, 물과 수중 식물체, 수생 생물등의 광범위한 시료로부터 이들 자연환경에 분포하는 약 2,500여 균주의 다양한 야생 효모들을 분리, 동정하여 보고하였고[12-23], 200종의 국내 미기록 야생효모들을 선별하여 이들의 균학적특성등을 보고하였다[19,21,24-27].

그러나, 담수환경으로부터의 야생 균류 특히, 새로운 효모균류 발굴 연구는 다른 곰팡이, 세균 등에 비해 미흡하여 본 연구에서도 영산강, 낙동강 및 금강 등의 주변 물과 토양 등으로부터 야생 효모들을 분리, 동정하고 이들 중 국내 미기록 효모들을 선별하여 이들의 특성을 보고하였을 뿐이다[19,28-36].

본 연구는 남덕유산 거창의 월성 계곡과 대전광역시 갑천 상류인 논산 병암천과 하류인 진잠 천 등에서 분리, 동정한 야생효모들 [34,35] 중 국내 미기록효모들을 선별한 후 이들의 균학적 특 성과 효소 및 생리활성 등을 조사하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

국내 미기록 효모들의 선별

본 연구실에서는 남덕유산 월성계곡 월성교 주변에서 분리 · 동정한 야생효모들과 대전광역시 갑천, 진잠천 상류와 하류(논산 병암천, 장안호수, 진잠교) 등에서 분리, 동정한 야생효모들을 대상으로 국립생물자원관 DB와 한국 진균관련 학술자료들을 이용하여 국내 미기록 효모들을 선별한 후[34], 아래와 같이 균학적 특성과 산업용 유용 효소 및 생리활성 등을 측정하였다.

국내 미기록 효모들의 균학적 특성

국내 미기록 야생효모들을 대상으로 일반 미생물 실험방법 등을 이용하여 이들의 몇 가지 균학적 특성 등을 다음과 같이 조사하였다[23]. 미기록 효모들을 potassium acetate-yeast extract dextrose (SM) 배지와 glucose-peptone-yeast extract (GPY) 한천 배지에 순차적으로 배양한 후 효모

세포 염색법과 광학현미경 (BX43, OLYMPUS, OLYMPUS, Tokyo, Japan)현미경과 eXcopex3프로 그램(OLYMPUS, Tokyo, Japan) 등을 이용하여 선발 균주의 포자, 의균사 형성 유무 등의 형태적 특 징과 배양적 특성을 조사하였다[34,35].

탄소원 등에 대한 자화성과 발효성은 선발 효모를 durham관이 들어있는 yeast nitrogen base (w/o amino acids, BD Difco, Le Pont-de-Claix, France) 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후, 생육과 CO₂생성 여부를 확인하여 탄소원들의 자화성과 발효성을 판정하였다[30]. 중금속에 대한 내성은 YPD (yeast extract-peptone-dextrose) 배지에 중금속을 농도별(ppm)로 첨가하여 30°C에서 24시간 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 생육도를 조사하였다[35,36].

국내 미기록 효모들의 효소활성 및 생리 활성

α-amylase 활성은 가용성 전분을 기질로 이용하여 생성된 dextrin을 요오드 반응으로 발색시켜 670 nm에서 흡광도를 측정하였고, glucoamylase는 기질인 가용성 전분으로부터 생성된 환원당을 DNS (5-dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다[37]. Invertase 활성은 sucrose를 기질로 사용하여 측정하였고[38], β-Galactosidase 활성은 p-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside을 기질로 하여 반응시킨 후 생성된 PNP (p-nitrophenyl)함량을 410 nm에서 흡광도를 측정하였다[34]. Cellulase 활성은 1% carboxymethyl cellulose (CMC)를 이용한 분광분석법으로 측정하였고[39], protease 활성은 casein을 기질로 반응시킨 후 folin 시약으로 발색하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다[37]. 항산화 활성은 선발균주의 무세포추출물을 DPPH (α-dipenyl-β-picrylhydrazyl)와 혼합한 후 plate reader를 이용하여 측정하였고, SOD (superoxide dismutase) 유사 활성은 pyrogallol과 plate reader를 이용하여 조사하였으며[17], xanthine oxidase 저해 활성 등은 각각 L-tyrosine과 tyrosinase, xanthine과 xanthine oxidase을 사용하여 조사하였다[28]. 주름생성 억제에 관련된 elastase 저해활성과 collagenase저해활성, 미백관련 tyrosinase 저해활성들은 각각 N-Succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide와 elastase, L-tyrosine과 tyrosinase 등을 이용하여 분광분석법으로 측정하였다[17].

결과 및 고찰

국내 미기록 야생효모들의 선별

본 연구에서는 월성계곡주변 물과 토양 등으로부터 분리, 동정한 야생효모들 중 Candida sorboxylosa WSC25-4 (NNIBRFG47336, GenBank No: LC054320.1), Arxula adeninivorans WSC6-3 (NNIBRFG47335, GenBank No: U40094.1) 2 균주를 국내 미기록 효모로 선별하였고, 대전광역시 갑천과 진잠천 상류인 논산 병암천 주변에서 Farysizyma taiwaniana JRC6-2 (NNIBRFG47339, GenBank No: AY551270.1) 균주를, 장안호수 주변에서는 Saturnispora dispora JTS19-1 (NNIBRFG47334, GenBank No: U94937.1) 균주를 미기록 효모로 선발하였다. 또한 진잠천 하류지역인 진잠교 주변에서 Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3 (NNIBRFG47337, GenBank No: EF460547.1), Vanrija fragicola SW-9 (NNIBRFG47338, GenBank No: AB126585.1) 2균주 등, 총 6균주를 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별하였다.

국내 미기록 효모들의 계통수와 형태학적, 배양학적 특성

선별한 국내 미기록 야생효모 6균주들의 계통수는 Fig. 1과 같고, 이들 균주들의 균학적 특성으로 형태학적, 배양학적 특성과 중금속 등에 대한 내성 및 탄소원들에 대한 자화성과 발효성 등을 조사한 결과는 다음과 같다(Table 1; Fig. 2).

Candida sorboxylosa WSC 25-4

2022년 8월 경남 거창의 남덕유산 월성계곡 주변토양에서 분리한 국내 미기록 야생효모로 0.6-0.8 µm 크기의 구형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고, 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD, YM (yeast extract-malt extract), PDA (Potato dextrose agar)배지와 vitamin-free 배지에서 생장이 좋았다. 30% 포도당을 함유한 YPD배지에서 생장이 좋은 반면, 5% NaCl을 함유한 YPD배지에서 는 생장하지 못하였다. 또한 Ca, Fe, Cu, Li, Zn, Mg등의 중금속들에 대하여 800 ppm까지 내성을 보였다. 포도당과 galactose, sucrose, raffinose, starch, xylose, sorbitol 등을 자화시켰고, fructose, mannose, maltose, lactose 등은 자화시키지 못하였으며, 대부분의 당류들을 발효시키지 못하였다.

Table 1. Microbiological characteristics and assimilation (fermentation) of unrecored wild yeasts.

	Strains							
Characteristics	Candida sorboxylosa WSC25-4	Saturnispora dispora JTS19-1	Arxula adeninivorans WSC6-3	Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3	Vanrija fragicola SW-9	Farysizyma taiwaniana JRC6-2		
Morphological characteristics								
Shape	Global	Global	Global	Oval	Global	Oval		
Size (µm)	0.8×0.6	0.8×0.7	1.1×1.3	1.4×0.8	1.1×1.4	1.6×0.8		
Vegetative reproduction	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding	Budding		
Spore	-	-	-	-	-	-		
Pseudomycelium	-	-	-	-	-	-		
Cultural characteristics								
Growth on YPD/YM/PD media	$++/++/++^a$	++/++/++	++/++/++	++/-/++	++/++/++	++/++/++		
Color on YPD medium	Yellow	White	White	White	White	White		
Growth:								
vitamin-free medium	++	-	++	-	+	++		
30/40/50% glucose YPD medium	+/-/-	++/++/-	++/++/-	+/-/-	+/-/-	+/-/-		
5/10% NaCl YPD medium	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	-/-		
Heavy metal resistance (400/800 ppm)								
CaCl ₂ , CuSO ₄ , FeCl ₃ , MgSO ₄	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++	++/++		
CoCl ₂	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-		
LiCl	++/++	++/++	++/++	++/++	-/-	++/++		
$ZnCl_2$	++/++	++/-	++/++	++/++	-/-	-/-		
Growth range of temp./pH	20-30°C / pH 6.0- 9.0	20-30°C / pH 4.0- 9.0	15-30°C / pH 4.0- 9.0	20-30°C / pH 5.0- 9.0	20-35°C / pH 4.0- 9.0	20-30°C /pH 6.0- 9.0		
Assimilation	glu, gal, suc, raf, sta, xyl, sor	glu, fru, gal, man, suc, mal, cel, lac, raf, sta, xyl, sor	glu, fru, gal, man, suc, cel, raf, sta, xyl, sor	glu, fru, gal, man, suc, raf, sta, xyl, sor	glu, fru, man, suc, mal, cel, lac, raf, sta, sor	glu, man, mal		
Fermentation	-	man	-	glu, fru, man, suc	-	-		

YPD: yeasts extract-peptone-dextrose; YM: yeast extract-malt extract; PD: potato-dextrose; glu: glucose; fru: fructose; gal: galactose; man: mannose; suc: sucrose; mal: maltose; cel: cellobiose; lac: lactose; raf: raffinose; sta: starch; xyl: xylose; sor: sorbitol.

a+; growth, -; no growth.

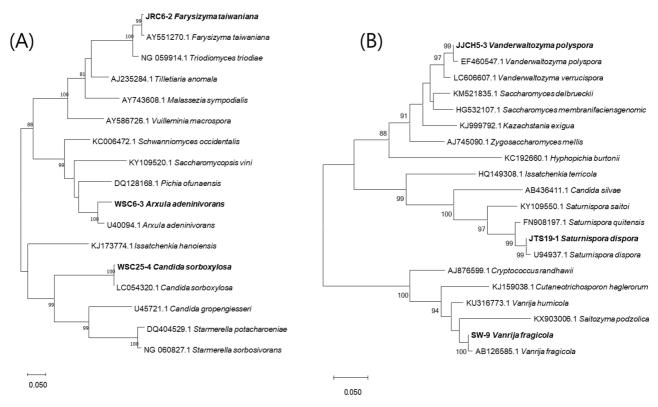


Fig. 1. Phylogenetic trees of unrecorded wild yeasts, *Farysizyma taiwaniana* JRC6-2, *Arxula adeninivorans* WSC6-3, *Candida sorboxylosa* WSC25-4 (A) and *Vanderwaltozyma polyspora* JJCH5-3, *Saturnispora dispora* JTS19-1, *Vanrija fragicola* SW-9 (B), based on the sequences of D1/D2 region of the large-subunit rDNA. The tree was generated by the neighbor-joining method, using MEGA X. The bar indicates the number of substitutions per position. (Bold: unrecorded yeasts).

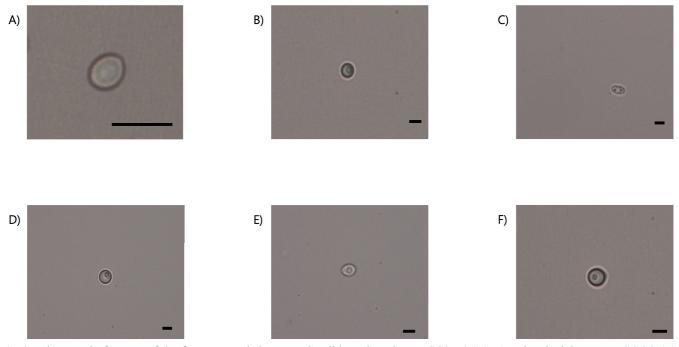


Fig. 2. Microscopic features of the five unrecorded yeasts, *Candida sorboxylosa* WSC25-4 (A), *Arxula adeninivorans* WSC6-3 (B), *Farysizyma taiwaniana* JRC6-2 (C), *Saturnispora dispora* JTS19-1 (D), *Vanderwaltozyma polyspora* JJCH5-3 (E), *Vanrija fragicola* SW-9 (F). (scale bar=1 µm).

한편, 이 미기록균 효모는 Nakase [40]가 자연계로부터 분리한 *C. Krusei* 등 76균주의 야생효모들을 탄소원의 자화성과 비타민 요구성, DNA의 G+C 함량등을 토대로 재동정한 균주 중 하나로처음 보고되었다.

Arxula adeninivorans WSC6-3

2022년 8월 경남 남덕유산 월성계곡 주변토양에서 분리된 국내 미기록 야생효모로 1.1-1.3 μm 크기의 구형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고, 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD, YM, PDA에서 잘 생육하였고 vitamin-free배지에서도 생육하였다. 또한, 40% 포도당을 함유한 YPD배지에서 생육하는 내당성이 있어 고농도 담금이 필요한 알콜발효산업 등에 유용할 것으로 사료된다. Ca, Cu, Li, Mg Zn, Fe 등의 중금속 이온들에 대하여 800 ppm까지 내성을 보였고 포도당과 fructose, galactose, mannose, sucrose, maltose, cellobiose, raffinose, starch, xylose, sorbitol 등을 자화시켰으나 대부분의 당류들을 발효시키지 못하였다. 한편, 이 미기록 효모는 계통분류학적으로 Saccharomycetes 목의 Dipodascaceae 과에 속하는 균이며, 특히 질산염을 자화시키는 내건성을 가진 효모로 처음 보고되었다[41].

Farysizyma taiwaniana JRC6-2

2022년 5월 대전광역시 갑천 상류인 논산 병암천 주변토양에서 분리한 야생효모로 1.1-1.6 μm 크기의 난형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고, 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD, YM, PDA에서 잘 생육하였지만, vitamin-free배지에서는 생육하지 못하였다. 또한, 40% 포도당을 함유한 YPD배지에서 생육하였고 Ca, Cu, Fe, Mg 등의 중금속 이온들에 대하여 800 ppm까지 내성을 보였다. 포도당과 mannose, maltose 등을 자화시켰으나 대부분의 당류들을 발효시키지 못하였다. 이 미기록 효모는 대만의 Nanjen-shan 자연보호구역에있는 큰도둑놈의갈고리 식물에서 무성세 대속 효모로 처음 보고되었다[42].

Saturnispora dispora JTS19-1

2021년 10월 대전광역시 갑천 상류인 장안호수 주변토양에서 분리한 야생효모로 0.7-0.8 μm 크기의 구형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD, YM, PDA에서 잘 생육하였으나 vitamin-free배지에서는 생육하지 못하였다. 또한, 40% 포도당을 함유한 YPD배지에서 생육하는 내당성을 가졌고 Ca, Cu, Fe, Li, Mg 등의 중금속 이온들에 대하여 800 ppm까지내성을 보였다. 포도당과 fructose, mannose, galactose, maltose, sucrose, lactose, raffinose, cellobiose, starch, xylose, sorbitol 등을 자화시켰고, 특이하게 mannose만을 발효시켰다. 국내 미기록 효모 Saturnispora dispora JTS19-1는 구형-난형으로 다극출아에 의한 영양증식과 1-2개의 자낭포자를 생성하는 효모로 처음 보고되었다[43].

Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3

2022년 9월 대전광역시 진잠천 하류인 진잠교 주변에서 분리한 야생효모로 0.8-1.4 μm 크기의 난형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고, 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD와 PDA에서 잘 생육하였으나 vitamin-free 배지에서는 생육하지 못하였다. 또한, 30% 포도당을 함유한 YPD배지에서 생육하였고 Ca, Cu, Fe, Li, Mg, Zn 등의 중금속이온들에 대하여 800 ppm까지 내성을 보였다. 포도당과 fructose, mannose, galactose, sucrose, lactose, raffinose, starch, xylose, sorbitol 등을 자화시켰다. 한편, 이 미기록 효모는 Van der Walt에 의하여 Kluyveromyces polyspora로 처음 보고되었으나[44], 후에 Vanderwaltozyma속으로 재명명되었다.

Vanrija fragicola SW-9

2022년 9월 대전광역시 진잠천 하류인 진잠교 주변의 작은 민물새우에서 분리한 야생효모로 1.1-1.4 µm 크기의 구형으로 출아에 의해 영양 증식을 하였고, 포자와 의균사를 형성하지 않았다. YPD와 YM, PDA에서 잘 생육하였고 vitamin-free배지에서도 생육하였다. 또한, 30% 포도당과 5% NaCl을 각각 함유한 YPD배지에서 생육하는 내당성과 내염성이 있어 발효산업에서 유용한 내삼투압성 대사산물을 생성할것으로 사료된다. Ca, Cu, Fe, Mg 등의 중금속이온들에 대하여 800 ppm 까지 내성을 보였고 포도당과 fructose, mannose, sucrose, maltose, lactose, cellobiose, raffinose, starch, sorbitol 등을 자화시켰으나 galactose, xylose, ribose 등을 자화시키지 못하였고, 대부분의 당류들을 발효시키지 못하였다. 이 효모는 처음 Cryptococcus fragicola 로 동정되었으나 현재 V. fragicola 로 재명명되었고, YM배지에서 구형-타원형으로 출아법으로 무성 생식하는 균으로 알려졌다[45].

미기록 효모균주들의 주요 효소 및 생리활성

선발된 6 균주의 국내 미기록 효모들의 건강 기능성 소재로서의 다양한 응용성을 알아보기 위해, 이들 효모균주들의 배양 상등액에 대한 탄수화물 분해관련 효소들과 단백질분해효소 활성 등을 측정하였다(Table 2).

이들 미기록 야생효모들의 배양 상등액들 중 A. Adeninivorans WSC6-3 과 F. taiwaniana JRC6-2, V. firagicola SW-9 등의 glucoamylase 활성이 각각 58.0%, 59.0%, 59.0% 로 비교적 높아 이들 균주들이 포도당 생산에 매우 유용할 것으로 사료된다. 그러나 invertase 활성이 약 2.0-20%의 활성을 보였을 뿐 여타의 효소활성은 없거나 1% 미만의 낮은 활성을 보였다. 또한 C. Sorboxylosa WSC25-4 균 주의 배양 상등액의 알칼리성 단백질 분해효소 활성이 높아 이 균주의 세재산업 등에 대한 추가 적인 응용 연구가 필요하다.

이들 미기록 효모들의 배양 상등액에 대한 항노화 및 주름생성 억제 등에 관련된 생리기능성을 조사한 결과는 Table 2와 같이 노화억제 관련 항산화 활성과 SOD-유사활성이 6균주 모두 70-98%로 매우 높았고 *S. dispora* JTS19-1과 *V. fragicola* SW-9의 항통풍성 잔틴산화효소 저해활성도 각각 70%와 80%로 높게 나타났다. 따라서 이들 미기록 균주들은 노화억제와 통풍예방을 위한 건강소재 개발에 매우 유용할 것으로 사료된다. 한편, 주름생성억제에 관련된 elastase와 collagenase저해활성은 없거나 20%미만으로 낮았다.

Table 2. Enzyme activity and physiological functionality of unrecorded wild yeasts.

Functionality/Enzyme activity	Candida sorboxylosa WSC25-4	Saturnispora dispora JTS19-1	Arxula adeninivorans WSC6-3	Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3	Vanrija fragicola SW-9	Farysizyma taiwaniana JRC6-2
α-Amylase activity	_a	-	-	-	-	-
Glucoamylase activity	14.0 (±0.2)	8.0 (±1.0)	58.0 (±0.6)	11.5 (±0.4)	59.0 (±0.4)	59.0 (±0.4)
β-Glalactosidase activity	-	-	-	-	-	-
Invertase activity	1.93 (±0.2)	20.8 (±0.3)	2.24 (±0.9)	2.0 (±2.0)	20.9 (±0.3)	20.9 (±0.6)
Cellulase activity	-	-	-	-	-	-
Protease activity						
neutral P	-	-	-	-	-	-
alkaline P	++	+	-	+	+	-
Antioxidant activity	66.0 (±2.0)	59.4 (±2.0)	77.1 (±0.9)	55.4 (±1.5)	$70.7 (\pm 2.0)$	79.8 (±1.7)
SOD-like activity	98.3 (±0.8)	98.6 (±1.1)	98.5 (±0.1)	95.1 (±1.0)	99.5 (±0.6)	99.3 (±1.2)
XOD inhibitory activity	66.5 (±2.0)	79.0 (±2.0)	3.8 (±2.0)	35.2 (±1.0)	80.0 (±2.0)	26.0 (±2.0)
Collagenase inhibitory activity	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Elastase inhibitory activity	20.1 (±0.1)	21.9 (±0.5)	14.5 (±0.6)	15.1 (±1.1)	22.2 (±2.2)	22.5 (±0.1)

^a-, n.d: not detected; +: growth, -: no growth.

적요

남덕유산 월성계곡과 대전광역시 진참천 등지로부터 분리한 야생효모들 중 국내 미기록 야생효모들을 선별한 후, 이들의 균학적 특성과 효소활성 및 생리활성 등을 조사하였다. 이들 야생효모들 중 Candida sorboxylosa WSC25-4 (NNIBRFG47336), Arxula adeninivorans WSC6-3 (NNIBRFG47335), Farysizyma taiwaniana JRC6-2 (NNIBRFG47339), Saturnispora dispora JTS19-1 (NNIBRFG47334), Vanderwaltozyma polyspora JJCH5-3 (NNIBRFG47337)과 Vanrija fragicola SW-9 (NNIBRFG47338) 등 6균주들을 국내 미기록 야생효모들로 최종 선별하였다. 이들 균주들은 대부분 구형으로 출아에 의해 영양증식을 하였고, 모두 자낭포자와 의균사들을 형성하지 않았다. V. polyspora JJCH5-3외 5 균주들이 YPD, YM, PD등의 배지에서 잘 생육하였고, A. adeninivorans WSC6-3와 S. dispora JTS19-1 균주들은 40% 포도당을 함유한 YPD 배지에서 잘 생육하는 내당성을 보였으며, V. fragicola SW-9 균주는 5% NaCl을 함유한 YPD배지에서 생육하는 호염성 효모로 확인되었다. 국내 미기록 야생 효모들의 배양 상등액들 중 A. adeninivorans WSC6-3과 F. taiwaniana JRC6-2, V. fragicola SW-9 등의 glucoamylase 활성이 각각 58.0, 59.0, 59.0% 로 비교적 높았고, C. sorboxylosa WSC25-4 균주는 알칼리성 단백질분해효소 활성이 높아 세재 산업에 유용할 것으로 사료된다. 또한, 미기록 효모들의 모든 배양 상등액은 항산화 활성과 SOD-유사활성이 70-98%로 매우 높았고, S. dispora JTS19-1과 V. fragicola SW-9의 항통풍성 잔틴산화효소 저해활성도 각각 70%와 80%로 높았다.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no competing interests.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from the Nakdonggang National Institute of Biological Resources (NNIBR), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea.

REFERENCES

- Lee JS, Choi YJ, Kwon SJ, Yoo JY, Chung DH. Screening and characterization of osmotolerant and gas-producing yeasts from traditional Doenjang and Kochujang. Food Biotechnol 1996;5:54-8.
- 2. Lee JS, Lee SH, Kwon SJ, Ahn C, Yoo JY. Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1997;25:448-53.
- Kim JH, Kim NM, Lee JS. Physiological characteristics and ethanol fermentation of thermotolerant yeast Saccharomyces cerevisiae OE from traditional meju. Kor J Food Nutr 1999;12:490-5.
- 4. Lee DH, Lee JS. Characterization of a new antidementia β-secretase inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme Microbiol Technol 2007;42:83-8.
- 5. Jeong SC, Lee DH, Lee JS. Production and characterization of an anti-angiogenic agent from *Saccharomyces cerevisiae* K-7. J Microbiol Biotechnol 2006;16:1904-11.
- Han SM, Lee JS. Production and its anti-hyperglycemia effects of gamma-aminobutylic acid from the wild yeast strain *Pichia silvicola* UL6-1 and *Sporobolomyces carnicolor* 402-JB-1. Mycobiology 2017;45:199-203.
- Kim JY, Lee SY, Han SM, Lee JS. Production of anti-dementia acetylcholinesterase from the wild yeasts Saccharomyces cerevisiae WJSL0113 and Wickerhamomyces anomalus JSF0128. Kor J Mycol 2018;46:447-57.
- Moon JE, Heo W, Lee SH, Lee SH, Lee HG, Lee JH, Kim YJ. Trehalose protects the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* against oxidative stress-induced cell death. J Microbiol Biotechnol 2020;30:54-61.
- Han SM, Park SJ, Jang JE, Lee JS. Production of an anti-dementia butyrylcholinesterase inhibitor from non-pathogenic wild yeast, *Saccharomyces cerevisiae* WJSL 0113. Kor J Mycol 2021;49:243-8.
- Park SJ, Lee JS. Production and characterization of the beneficial β-glucuronidase inhibitor from non pathogenic wild yeast, *Candida oleophila* WP5-19-1, and its effects on gut microbes. Kor J Mycol 2022;50:31-40.
- 11. Ryu HY. Advanced technologies and mechanisms for yeast evolutionary engineering. Mycobiology 2020;48:423-8.
- 12. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolataion and identification of yeasts from wild flowers in Gyejoksan, Oseosan and Baekamsan of Korea. Kor J Mycol 2013;41:47-51.
- 13. Hyun SH, Mun HY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyonggi-do province and Jeju island in Korea and the production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. Kor J Microbiol Biotechnol 2013;41:383-90.
- Hyun SH, Lee JK, Park WJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of yeasts from fruits and flowers of orchard in Sinam-myeon of Yesan-gun, Chungcheongnam-do, Korea. Kor J Mycol 2014;42:21-7.

- 15. Hyun SH, Min JH, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of yeasts from wild flowers in Ulleungdo and Yokjido, Korea. Kor J Mycol 2014;42:28-33.
- 16. Hyun SH, Min JH, Kim SA, Lee JS, Kim HK. Yeasts associated with fruits and blossoms collected from Hanbat arboretum, Daejeon, Korea. Kor J Mycol 2014;42:178-82.
- 17. Hyun SH, Han SM, Lee JS. Isolation and physiological functionality of yeasts from wild flowers in Seonyudo of Gogunsanyeoldo, Jeollabuk-do, Korea. Kor J Mycol 2014;42:201-6.
- 18. Han SM, Hyun SH, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Deogyu mountain and their physiological functionalities. Kor J Mycol 2015;43:47-52.
- Han SM, Hyun SH, Lee HB, Lee HW, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers collected around Jangseong lake in Jeollanam-do, Republic of Korea, and characterization of the unrecorded yeast *Bullera coprosmaensis*. Mycobiology 2015;43:266-71.
- Han SM, Han JW, Bae SM, Park WJ, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from soils of paddy fields in Daejeon metropolitan city and Chungcheongnam-do, Korea. Kor J Mycol 2016;44:1-7.
- 21. Han SM, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from soils of an herb park in Seoul metropolitan city and characteristics of unrecorded yeasts. Kor J Mycol 2016;44:108-12.
- 22. Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Characterization of wild yeasts Isolated from leaves obtained from Mt. Daedun and Mt. Chilgap, Korea. Kor J Mycol 2017;45:31-42.
- 23. Kim JS, Lee M, Kim JY, Heo J, Kwon SW, Yun BS, Kim SJ. Distribution and species diversity of wild yeasts isolated from flowers in Korea. Kor J Mycol 2020;48:475-84.
- 24. Han SM, Lee JS. Characterization of unrecorded yeasts Isolated from leaves of trees of Oknyeobong peak and Yeonjasan mountain in Daejeon, Korea. Kor J Mycol 2017;45:23-30.
- 25. Han SM, Kim JY, Kim CM, Lee JS. Characteristics of unrecorded wild yeasts obtained from the soil of spices plant fields and its physiological functionality. Kor J Mycol 2019;47:75-81.
- 26. Kim HK, Kim JY, Han SM, Kim CM, Lee JS. Microbiological characteristics and physiological functionalities of unrecorded wild yeast strains in the soils of Hajodae and Gyungpodae beaches in Korea. Kor J Mycol 2019;47:249-58.
- 27. Kim JY, Han SM, Park SJ, Jang JE, Lee JS. Isolation and characterization of unrecorded wild yeasts obtained from soils of spice fields and mountains. Kor J Mycol 2020;48:151-60.
- 28. Han SM, Kim HK, Lee HB, Lee JS. Isolation and identification of wild yeasts from freshwaters and soils of Nakdong and Yeongsan river, Korea, and characterization of two unrecorded yeasts. Kor J Mycol 2016;44:350-4.
- Han SM, Lee SY, Kim HK, Lee JS. Isolation and diversity of wild yeasts from the waters and bank soils of Daejeoncheon, Gapcheon, and Yedeungcheon in Daejeon city, Korea. Kor J Mycol 2017;45:259-69.
- Han SM, Kim JY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation and characterization of wild yeasts from water and riverside soils of Geumgang midstream in Gongju city, Korea. Kor J Mycol 2018;46:98-104.
- 31. Han SM, Park DJ, Kim JY, Lim HJ, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts obtained from waters and soils of riversides in Sangjubo of Nakdong river and Daechung dam of Geumgang midstream, Korea and characterization of unrecorded wild yeasts. Kor J Mycol 2020;48:237-49
- 32. Jeon YJ, Park S, Hwang H, Park YH, Cheon W, Goh J, Chung N, Mun HY. Seven yeast strains isolated from freshwaters for the first record in Korea. Kor J Mycol 2020;48:523-31.

- 33. Park SJ, Jang JE, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts from riversides in Geumgang upstream, Taean and Suncheonman seashores and microbiological characteristics of the unrecorded wild yeasts. Kor J Mycol 2021;49:67-79.
- 34. Jang JE, Park SJ, Moon JS, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts from freshwaters and soils in Nonsan stream and Sapgyoho in Chungcheongnam-do, Korea, and microbiological characteristics of the unrecorded wild yeasts. Kor J Mycol 2021;49:337-49.
- 35. Park SJ, Jang JE, Moon JS, Lee HB, Lee JS. Isolating and characterizing the unrecorded wild yeasts from seawater and soil in Haeundae and Mongdol beaches on the southern coast of, Korea. Kor J Mycol 2022;50:65-73.
- 36. Moon JS, Lee HB, Lee JS. Isolation and determination of microbiological characteristics of unrecorded wild yeasts from waters and soils of Haegeumgang in the southern sea, and from Namdaecheon and Geumsancheon upstream of Geumgang, Korea. Kor J Mycol 2022;50:149-60.
- 37. Lee DH, Seo MH, Shin DH, Kim YS. Isolation and identification of *Bacillus* sp. with high protease and amylase activity from Sunchang traditional kochujang. Food Sci Biotechnol 2008;17;519-26.
- 38. Kim JH, Kim NM, Kim DW. Biosynthetic regulation of invertase from thermophilic and alkalophilic *Bacillus* sp. TA-11. Kor J Food & Nutr 2002;23;126-30.
- 39. Soeka YS, Suharna N, Triana E, Yulinery T. Characterization of cellulase enzyme produced by two selected strains of *Streptomyces macrosporeus* isolated from soil in Indonesia. Makara J Sci 2019;23;65-71.
- Nakase T. New species of yeasts resembling Candida krusei (CAST.) berkhout. J Gen Appl Microbiol 1971;17;383-98.
- Böer E, Gellissen G, Kunze G. Arxula adeninivorans. Production of recombinant proteins: novel microbial and eukaryotic expression systems. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2005. p. 89-110.
- 42. Inácio J, Landell M, Valente P, Wang P, Wang Y, Yang S, Manson J, Lachance M, Rosa C, Fonseca Á. *Farysizyma* gen. nov., an anamorphic genus in the *Ustilaginales* to accommodate three novel epiphytic basidiomycetous yeast species from America, Europe and Asia. FEMS Yeast Res 2008;8:499-508.
- 43. Kurtzman C. *Saturnispora* Liu & Kurtzman. The yeasts, a taxonomic study. Amsterdam: ELSEVIER; 1991. p. 768-9.
- 44. Walt V. *Kluyveromyces*–a new yeast genus of the *Endomycetales*. Pretoria: Springer; 1956. p. 265-72.
- 45. Fonseca Á, Boekhout T, Fell J. The yeasts, a taxonomic study. Amsterdam: ELSEVIER; 1991. p. 1661-737.