

한국의 야생화에서 분리한 효모의 종 다양성과 생리기능성

현세희 · 한상민 · 김하근 · 이종수*

배재대학교 바이오 · 의생명공학과

Yeasts Diversity of Wild Flowers in Mountains of Korea and Their Physiological Functionalities

Se-Hee Hyun, Sang-Min Han, Ha-Kun Kim and Jong-Soo Lee*

Department of Biomedical Science and Biotechnology, Paichai University, Daejeon 35345, Korea

ABSTRACT : This study focused on isolation of wild yeasts from natural flowers and elucidation of yeast diversity. Wild yeasts were isolated from various flowers collected from mountains on the islands including Jeju, Ulleungdo, Yokjido, and Seonyudo as well as inland including Gyeongju, Oseosan, Beakamsan, and Deogyusan in Korea. Isolated yeasts were identified by comparison of nucleotide sequences for polymerase chain reaction-amplified D1/D2 region of 26S rDNA or internal transcribed spacer 1 and 2 including 5.8S rDNA using BLAST. 289 strains belonging to 134 yeast species were isolated. *Cryptococcus* genus strains were the most frequently isolated species among the identified yeasts. *Metschnikowia reukaufii* was also frequently isolated. Twenty three species including *Cryptococcus aureus* were overlapped between those of mountains on islands and inland. Physiological functionalities such as antioxidant activity, xanthine oxidase inhibitory activity, and tyrosinase inhibitory activity for the 289 identified yeast strains were investigated using their supernatant and cell-free extracts. The supernatants of *Candida* sp. 78-J-2 and *Metschnikowia reukaufii* SY44-6 showed antioxidant activity of 22.5%, and anti-gout xanthine oxidase inhibitory activity of 49.6%, respectively.

KEYWORDS : Flowers, Mountains, Physiological functionality, Wild yeasts

서 론

효모는 미생물 분류학상 자낭포자와 일부 담자포자를 형성하는 유포자효모와 무포자효모로 크게 구분되고 일부를 제외한 대부분이 비병원성 진균들이다. 또한 몇 종은 아주 오래 전부터 알코올발효력 등이 강하여 주류 등의 전통발효식품 제조에 이용되어 오고 있고 근래에 빠른 생육 등의 이점을 이용하여 정미성 핵산과 그 유도체, 비타민류, 균체

와 사료 단백질 생산 자원 등으로도 이용되고 있다.

지금까지의 효모는 대부분 전통발효식품이나 누룩 등의 발효제, 기타 전분질 원료 등에서 분리되어 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Zygosaccharomyces rouxii* 등이 주류와 일부 장류 등에 응용되고 있다[1]. 그러나 우리나라 자연환경의 꽃이나 과일, 토양 등에 분포하고 있는 야생 효모들을 발굴하고 이들의 산업적 응용 연구는 실시되지 않았다.

효모의 생리기능성에 관한 주요 연구로는 필자 등이 효모로부터 항고혈압성 안지오텐신 전환효소 저해물질[2, 3], 항치매성 β -secretase저해물질[4]과 acetylcholinesterase 저해물질[5], 혈관신생억제물질[6], 미백성 tyrosinase 저해물질[7], 혈전용해 활성물질[8], 정미성 핵산물질[9] 등이 보고되었다. 그 밖에도 메주 등에서 분리한 효모들의 protease 등의 각종 효소활성[1]과 고온성 효모에 의한 알코올발효[10] 연구가 실시되었고 항고혈압활성을 가진 *Pichia burtonii* 등이 보고되었다[11].

이 총설에서는 전국 자연환경에 분포하고 있는 야생 효모들을 분리하여 한국의 효모 종 다양성을 확립하고 나아가 이들을 고부가가치의 의약이나 건강산업 등으로의 응용성을 검토하고자 필자 등이 최근 우리나라 주요 섬과 육지

Kor. J. Mycol. 2015 September, 43(3): 137-141
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.3.137
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: biotech8@pcu.ac.kr

Received September 3, 2015

Revised September 12, 2015

Accepted September 12, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

에 있는 산들의 다양한 꽃들로부터 효모들을 분리 동정한 결과들을 종합하여 이들의 종 다양성을 제시하였다. 또한, 이들의 몇 가지 생리기능성을 측정하여 고부가가치의 건강 소재생산 우수 효모들을 선별한 결과들을 기술하고자 한다.

주요 섬에 있는 산 지역 야생화들로부터 효모의 분리 및 동정

제주도 송악산과 성산일출봉에서 2012년 5월부터 7월에 수집한 41점의 야생화들로부터 모두 14종의 효모 32균주들을 분리하였고 이들 중 *Sporobolomyces ruberrimus*가 6균주, *Pseudozyma aphidis* 4균주를 포함한 *Pseudozyma*속 균주가 8균주 등으로 다수 분리 동정되었다[12].

울릉도 외륜산 나리분지 주위에서 2013년 6월에 수집한 섬말나리꽃 등 33점의 야생화들을 수집하여 이들로부터 효모들을 분리하여 동정한 결과 모두 효모 22종 48균주들을 분리 동정하였고, 이들 중 *Metschnikowia koreensis*와 *Metschnikowia reukaufii*가 각각 5균주, *Pichia mexicana* 5균주, *Pichia scolyti* 4균주, *Rhodotorula glutinis* 4균주, *Rhodotorula graminis*가 5균주로서 주를 이루었다[13, 14].

경남 통영 앞바다에 있는 육지도의 천황산에서 2013년 5월에 수집한 쭉대꽃 등 36점의 야생화들로부터 모두 효모 25종 60균주들을 분리하였고, *Metschnikowia reukaufii*가 13균주로 단일 균주로는 가장 많이 분리되었고 전체적으로 *Rhodotorula* 속 균이 7종 21균주로 가장 많이 분리되었다[13, 15].

전라북도 고군산열도의 선유도 망주봉과 장자봉 등에서 2014년 4월에 수집한 산자고 등 51점의 야생화들로부터 모두 21종의 효모들을 61균주 분리하였고, 이들 중 *Cryptococcus*속 균이 6종 30균주로 가장 많이 분리되었으며, 특히 *Cryptococcus aureus*와 *Metschnikowia reukaufii*가 각각 11균주씩 분리되었다[16, 17].

이 균들 중에서 *Occultifur externus* SY5-2와 *Yarrowia lipolytica* SY51-1 등은 다른 섬의 산에서는 분리되지 않은 선유도 산에 있는 야생화에서만 분리된 균주들이었다. 이는 아마도 선유도 야생화 수집 시 기온은 15°C 내외, 상대습도는 약 73%이었던 반면에 울릉도와 육지도, 제주도의 산 야생화 수집 시의 기온이 각각 25.5°C와 15.8°C, 24.8°C, 상대습도는 각각 78.0%와 66.4%, 80.0%로 서로 차이가 있었고 이외에도 강수량과 바람 등 자연 환경의 차이로 특정한 효모들이 독특하게 분리된 것으로 추정된다.

육지의 주요 산 지역 야생화들로부터 효모의 분리 및 동정

대전 계족산에서 2014년 7월에 수집한 야생화들로부터 *Rhodotorula*속 3균주를 포함한 10종의 효모 12균주들을 분리하였다[17].

또한, 충남 오서산에서 2012년 10월에 수집한 야생화들로부터 10종의 효모 17균주를 분리하였다. 이들 중 *Cryptococcus*속 균이 9균주로 가장 많이 분리되었고, 계족산에

서와 같이 *Rhodotorula*속 균이 3균주 분리되었다.

전북 정읍 백암산에서 2012년 10월에 수집한 21종의 야생화들로부터 모두 24종 37균주의 효모들을 분리하였다[17]. 이들 가운데 *Cryptococcus*속 균과 계족산과 오서산과는 달리 *Sporobolomyces*속 균들이 많이 분리되었다.

또한, 전라북도 덕유산 무주 구천동 일대에서 2014년 7월에 수집한 야생화들로부터 모두 8종 22균주의 효모들을 분리 동정하였다. 이들 가운데 *Cryptococcus magnus* 9균주, *Cryptococcus flavescent* 6균주 등으로 가장 많이 분리되었다[18].

주요 섬과 육지의 산 야생화들로부터 분리된 효모의 종 다양성

제주도 등 4개의 우리나라 주요 섬들에 있는 산과 계족산 등 육지에 있는 4개의 산들로부터 야생화에서 공통적으로 *Candida* sp., *Cryptococcus aureus*, *Cryptococcus flavescent*, *Cryptococcus flavus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus magnus*, *Debaryomyces hansenii*, *Metschnikowia koreensis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia guilliermondii*, *Pseudozyma aphidis*, *Pseudozyma rugulosa*, *Rhodosporidium fluviale*, *Rhodosporidium paludigenum*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula nothofagi*, *Rhodotorula* sp., *Sporidiobolus pararoseus*, *Sporobolomyces carnicolor*, *Sporobolomyces ruberrimus* 등 23종의 효모들이 분리되었다(Fig. 1). 이들 가운데 특히 *Cryptococcus*속(5종)과 *Rhodotorula*속(6종) 효모들이 많았고, 단일 균주로는 *Metschnikowia reukaufii*가 30균주로 가장 많이 분리되었다(Table 1).

위와 같은 결과로 미루어 볼 때 전통 주류나 장류처럼 비슷한 발효조건으로 제조되는 전통발효식품이나 이들의 주, 부원료에서는 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Zygosaccharomyces rouxii* 등 특정한 몇몇 효모들이 주로 분리되어[1] 비교적 단순한 종 다양성을 보이는 반면에 섬이나 육지의 산들은 온도, 강수량과 습도, 바람 등 자연 환경이 위치에 따라 다르고, 따라서 이들 지역의 야생화들은 종류와 개화시기 및 꽃 자체의 영양성분 역시 차이가 있기 때문에 독특하고 복잡한 효모 종 다양성을 나타내는 것으로 추정된다.

4개의 섬지역 산들과 4개의 육지의 산들로부터 분리된 효모들 가운데 많이 분포하고 있던 *Cryptococcus*속 균들은 대체로 점성의 협막을 갖고 있으며 발효능이 없고, 공기 중에 많이 존재하면서 *Cryptococcus neoformans*처럼 사람이나 가축에 감염하여 Cryptococcosis를 일으키는 병원성균으로 알려져 있다[19]. 또한 *Rhodotorula*속 균은 카로티노이드 색소 등을 생산하며 침채류 등의 오염균과 지방생산 효모균 등으로 알려져 있다[20].

야생 효모들의 생리기능성

제주도, 육지도, 울릉도, 선유도 등의 섬지역 산에서 분리



Fig. 1. Yeast diversity of wild flowers collected from mountains in islands and inland, Korea.

Table 1. Ranking of yeasts isolated from mountains in islands and inland, Korea

Region	Ranking	Genus (Isolates)	Strains (Isolates)	Remarks
Total region	1	<i>Cryptococcus</i> spp. (86)	<i>Metschnikowia reukaufii</i> (30)	Mountains in islands and inlands
	2	<i>Rhodotorula</i> spp. (49)	<i>Cryptococcus flavescens</i> (20)	
	3	<i>Metschnikowia</i> spp. (43)	<i>Cryptococcus magnus</i> (20)	
Mountains in islands	1	<i>Cryptococcus</i> spp. (47)	<i>Metschnikowia reukaufii</i> (30)	Mts. of Jeju-do, Ulleungdo, Yokjido, Seonyudo
	2	<i>Rhodotorula</i> spp. (39)	<i>Cryptococcus aureus</i> (14)	
	3	<i>Metschnikowia</i> spp. (37)	<i>Rhodotorula mucilaginoso</i> (13)	
Mountains in inland	1	<i>Cryptococcus</i> spp. (39)	<i>Cryptococcus flavescens</i> (17)	Gyejoksan, Oseosan, Beakamsan, Deogyusan in inlands
	2	<i>Rhodotorula</i> spp. (10)	<i>Cryptococcus magnus</i> (10)	
	3	<i>Sporobolomyces</i> spp. (9)	<i>Metschnikowia</i> sp. (5)	

Table 2. Superior yeast strains for each functionalities

Antioxidant activity (%)		Xanthine oxidase inhibitory activity (%)		Tyrosinase inhibitory activity (%)	
Supernatant	Cell-free extract	Supernatant	Cell-free extract	Supernatant	Cell-free extract
<i>Candida</i> sp. 78-J-2	<i>Pseudozyma aphidis</i> 94-J-3	<i>Metschnikowia reukaufii</i> SY44-6	<i>Sporobolomyces ruberrimus</i> 121-Z-1	<i>Metschnikowia reukaufii</i> SY44-6	<i>Metschnikowia reukaufii</i> SY38-2
22.5 ± 1.0	18.1 ± 0.4	49.6 ± 0.3	48.3 ± 0.7	38.4 ± 0.3	37.0 ± 0.8

동정한 효모 82종 201균주와 오서산, 계족산, 백암산, 덕유산 등 육지의 산에서 분리 동정한 52종 88균주들의 생리기

능성들을 배양상등액과 무세포추출물로 구분하여 측정한 결과 *Metschnikowia reukaufii* SY44-6의 배양상등액과 *Spo-*

robolomyces ruberrimus 121-Z-1의 무세포추출물에서 항통풍성 xanthine oxidase 저해활성이 각각 49.6%와 48.3%로 비교적 높았다[16, 21] (Table 2).

이들 xanthine oxidase 저해활성은 Hyun 등[12]이 서울 구로동 주택 화단의 야생화에서 분리한 *Pseudozyma hubiensis* 228-S-1의 무세포 추출물의 저해활성(19.6%)보다는 높은 저해활성이었고 *Sporobolomyces ruberrimus* 121-Z-3의 무세포추출물(48.3%)[21]과는 비슷한 저해활성이었다. 그러나 신령버섯과 느타리버섯 자실체의 물추출물들의 저해활성(72.9%, 78.3%)[22, 23]보다는 낮은 활성이었다.

통풍은 일반적으로 xanthine oxidase에 의해 xanthine으로부터 요산이 생성되어 발생하는 만성 소모성 질환으로 근래에 발병률이 크게 증가하고 있다. Xanthine oxidase 저해기작을 응용하여 allopurinol 등 일부 항통풍제제가 시판되고 있으나 치료제 내성 등의 부작용이 있어 새로운 항통풍제의 개발이 필요한 시점이다[22]. 따라서 본 연구의 야생 효모가 생성하는 xanthine oxidase 저해물질은 배양이 비교적 용이하고 값이 저렴한 배지에서 잘 생육하는 등의 산업적 이점이 있는 generally recognized as safe (GRAS) 효모에서 생산할 수 있다는 이점이 있어 앞으로 새로운 항통풍제 생산균주로서의 산업적 응용성이 기대된다.

한편, 이들의 산업적 응용을 위한 자료를 얻고자 xanthine oxidase 저해물질 생산 우수 균주인 *Metschnikowia reukaufii* SY44-6를 이용한 xanthine oxidase 저해물질 생산 조건을 검토한 결과 *Metschnikowia reukaufii* SY44-6를 yeast peptone dextrose (YPD) 배지에 접종하여 30°C에서 30시간 배양하여 얻은 배양상등액이 51.9%로 가장 높은 xanthine oxidase 저해활성을 보였다[22].

적 요

우리나라 야생화들의 효모 종 다양성을 확립하고 이들을 고부가가치의 건강산업에 응용하기 위한 자료를 얻고자 한국의 제주도, 울릉도, 옥지도와 선유도 등 4개의 섬지역 산들과 계족산, 오서산, 백암산과 덕유산 등 4개의 내륙지역 산에서 개화한 야생화들을 2012년에서 2014년 사이에 수집하여 효모 134종 289균주를 분리 동정하였다. 분리한 289균주 중에서 *Cryptococcus*속 균주들이 가장 많이 분리되었고 *Cryptococcus aureus*를 포함하는 23균주들이 섬과 내륙 산지역에서 공통적으로 분리 동정되었다. 또한 단일 균주로는 *Metschnikowia reukaufii*가 전체 균주 중 10.3%인 30균주로 가장 많이 분리되었다. 분리한 균주들을 yeast peptone dextrose (YPD) 배지에서 24시간 배양하여 각각의 배양상등액과 무세포추출물을 제조한 후 이들의 주요 생리기능성을 측정한 결과, *Candida* sp. 78-J-2의 배양상등액이 22.5%의 항산화활성, *Metschnikowia reukaufii* SY44-6의 배양상등액이 49.6%의 항통풍성 xanthine oxidase 저해활성과 38.4%의 미백성 tyrosinase 저해활성을 보였다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the National Institute of Biological Resources (NIBR), funded by the Ministry of Environment

REFERENCES

1. Lee JS, Yi 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.
2. Kim JH, Lee DH, Jeong SC, Chung KS, Lee JS. Characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Microbiol Biotechnol* 2004;14:1318-23.
3. Jeong SC, Kim JH, Kim NM, Lee JS. Production of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Malassezia pachydermatis* G-14. *Mycobiology* 2005;33:142-6.
4. Lee DH, Lee DH, Lee JS. Characterization of a new anti-dementia β -secretase inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb Technol* 2007;42:83-8.
5. Lee DH, Lee JS, Yi SH, Lee JS. Production of the acetylcholinesterase inhibitor from *Yarrowia lipolytica* S-3. *Mycobiology* 2008;36:102-5.
6. 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.
7. Jang IT, Kim YH, Kang MG, Yi SH, Lim SI, Lee JS. Production of tyrosinase inhibitor from *Saccharomyces cerevisiae*. *Kor J Mycol* 2012;40:60-4.
8. Jang IT, Kim YH, Yi SH, Lim SI, Lee JS. Screening of a new fibrinolytic substances-producing yeast. *Kor J Mycol* 2011;39:227-8.
9. Lee JS, Hyun KW, Jeong SC, Kim JH, Choi YJ, Miguez CB. Production of ribonucleotides by autolysis of *Pichia anomala* mutant and physiological activities. *Can J Microbiol* 2004;50:489-92.
10. Kim JH, Kim NM, Lee JS. Physiological characteristics and ethanol fermentation of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* OE-16 from traditional Meju. *Kor J Food Nutr* 1999;12:490-5.
11. Min JH, Kim YH, Kim JH, Choi SY, Lee JS, Kim HK. Comparison of microbial diversity of Korean commercial Makgeolli showing high β -glucan content and high antihypertensive activity, respectively. *Mycobiology* 2012;40:138-41.
12. Hyun SH, Mun HY, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Isolation of yeasts from wild flowers in Gyeonggi-do province and Jeju island in Korea and the production of anti-gout xanthine oxidase inhibitor. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2013;41:383-90.
13. 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.
14. Hyun SH, Min JH, Lee HB, Kim HK, Lee JS. Characteristics of two unrecorded yeasts from wild flowers in Ulleungdo, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:170-3.
15. Hyun SH, Lee JS. Microbiological characteristics and physiological functionality of new records of yeasts from wild flowers in Yokjido, Korea. *Mycobiology* 2014;42:198-202.

16. 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.
17. Min JH, Ryu JJ, Kim HK, Lee JS. Isolation and identification of yeasts from wild flowers in Gyejoksan, Oseosan and Beakamsan of Korea. *Kor J Mycol* 2013;41:47-51.
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.
19. Chan M, Lye D, Win MK, Chow A, Barkham T. Clinical and microbiological characteristics of cryptococcosis in Singapore: predominance of *Cryptococcus neoformans* compared with *Cryptococcus gattii*. *Int J Infect Dis* 2014;26:110-5.
20. Zhang Z, Zhang X, Tan T. Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* under irradiation/high-temperature and dark/low-temperature cultivation. *Bioresour Technol* 2014;157:149-53.
21. Han SM, Hyun SH, Kim NM, Lee JS. Antioxidant activity and inhibitory activities of xanthine oxidase and tyrosinase of yeasts from wild flowers in Korea. *Kor J Mycol* 2015;43:99-103.
22. Zanaabaatar B, Song JH, Seo GS, Noh HJ, Yoo YB, Lee JS. Screening of anti-gout xanthine oxidase inhibitor from mushrooms. *Kor J Mycol* 2010;38:85-7.
23. Jang IT, Hyun SH, Shin JW, Lee YH, Ji JH, Lee JS. Characterization of an anti-gout xanthine oxidase inhibitor from *Pleurotus ostreatus*. *Mycobiology* 2014;42:296-300.