

β -Glucosidase 생성 효모 *Rhodotorula* sp. GYP-1의 분리 및 특성

노현수^{1,*} · 권민영^{1,2} · 김솔비³ · 조재은³ · 한송이^{1,†}

¹목원대학교 미생물생명공학과, ²서울대학교 식품바이오전공, ³솔바이오(주)
(2023년 8월 23일 접수: 2023년 10월 30일 수정: 2023년 10월 30일 채택)

Isolation and Characterization of β -Glucosidase-Producing Yeast, *Rhodotorula* sp. GYP-1

Hyun-Soo Roh^{1,*} · Min-Young Kwon^{1,2} · Sol-Bi Kim³ · Jae-Eun Cho³ · Song-Ih Han^{1,†}

¹Department of Microbial Biotechnology, College of Mokwon University, Daejeon 35349, Korea,

²Department of Food Biotechnology, Graduate school of international agricultural technology,
Seoul National University, Kangwon-do, 25354, Korea,

³SOLBIO Co., LTD, Chungbuk, 29023, Korea.

(Received August 23, 2023; Revised October 30, 2023; Accepted October 30, 2023)

요약 : 인삼부산물 및 인삼밭 토양에서 분리한 9균주 중 β -Glucosidase 생성 균주 GYP-1과 GYP-3-3 균주를 선발하였다. 선발된 β -Glucosidase 생성 균주에 대하여 16S rRNA 유전자 염기서열과 ITS 염기서열을 기반으로 계통 분석을 실시한 결과, GYP-1 균주는 *Rhodotorula* 속에 속하며, GYP-3-3은 *Brachy bacterium* 속에 속하는 것으로 확인되었다. 특히, *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주는 호기성 효모 종으로 biomass 생산량이 높아 최종 우수 균주로 선발하였다. *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 β -Glucosidase의 온도 및 pH에 따른 효소 활성 및 안정성을 검정한 결과, 30 °C에서 6.7 unit/ml로 가장 높은 활성을 나타내었고, 20 °C ~ 40 °C에서 효소 활성의 약 70 % 이상을 유지하는 것으로 확인하였다. pH에 따른 효소의 활성 및 안정의 경우, pH 5에서 6.8 unit/ml로 가장 높은 활성을 나타내었고 pH 5~pH 8까지 93.3 % 이상의 효소 활성을 유지하는 것으로 확인하였다. *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 β -Glucosidase는 ginsenoside Rb1 minor 진세노사이드로 분해하는 것으로 확인되었다. 또한, 인삼 뿌리 병원균(*Botrytis cinerea*)에 대해 항진균능을 갖는 것으로 확인되었다.

주제어 : β -Glucosidase, *Rhodotorula* sp., 진세노사이드, 항진균활성, 효모

Abstract : Nine microbial strains were isolated from the byproduct of ginseng processing and field of ginseng cultivation. Two strains among them were confirmed. Phylogenetic analysis of these β -Glucosidase strains confirmed that strain GYP-1 belongs to the *Rhodotorula* and strain GYP-3-3 belong to genus *Brachy bacterium*. *Rhodotorula* sp. GYP-1 was finally selected due to its high biomass

†Corresponding author

(E-mail: h1882@mokwon.ac.kr)

production. The β -Glucosidase activity of *Rhodotorula* sp. GPY-1 was assessed at 30 °C, and Higher than 70% of the enzyme activity was maintained at the temperature range of 20–40°C. Although the optimum pH for the highest enzyme activity was pH 5.0, the enzyme was stable throughout the pH range of 5.0–8.0. In addition, *Rhodotorula* sp. demonstrated antifungal activity against the ginseng root rot disease caused by *Botrytis*.

Keywords : antifungal activity, ginsenoside, β -Glucosidase, *Rhodotorula* sp., yeast

1. 서론

고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 주 성분이 진세노사이드으로 밝혀지고 인삼사포닌의 약리효능으로 항암작용, 면역기능 조절, 항당뇨, 간 기능 강화 등이 알려지면서 그 수요가 점차 증가되고 있다[1-3]. 그러나, 인삼은 그 세대기간이 4~6년으로 길며 연작이 불가능한 실정으로 원료공급에 지장을 초래할 가능성이 높다[2]. 인삼의 잎이나 줄기 등 부산물에 대한 유효성과 약리효능이 밝혀지면서 인삼부산물에 대한 관심이 높아지고 이에 관한 연구가 시도되면서 새로운 자원으로서 인삼부산물의 이용가치가 새롭게 평가되고 있다[4]. 인삼사포닌의 주요 진세노사이드의 경우, 생체 내 흡수율이 매우 낮아 저분자 진세노사이드로 전환이 요구된다[5-6]. 진세노사이드의 전환을 위해 화학적 처리와 열처리를 이용하고 있으며, 최근에는 미생물 발효 및 효소 반응과 같은 생물학적 전환을 통한 사포닌 대사체 생산에 관한 연구가 이루어지고 있다[7-9].

미생물의 종류에 따라 사포닌 전환산물 및 그 경로가 다양하다고 보고되면서 다양한 진세노사이드 전환 미생물들이 보고되어 왔다. 진균류인 *Rhizopus japonicus*, *Curvularia lunata*를 비롯하여 세균류인 *Bacillus* sp., *Leuconostoc fallax*, *Microbacterium esteraromaticum*, *Stenotrophomonas* sp. 등이 인삼의 사포닌을 전환시킬 수 있는 미생물로서 인삼에 직접 접목하는 연구들이 보고 되어왔다[10-12]. 본 연구에서는 인삼 부산물 및 인삼재배지 토양으로부터 β -Glucosidase 생성 균주를 탐색하고 이들 균주의 의약, 제약, 식품분야의 유전자원으로 활용을 목적으로 생리 생화학적 특성 및 계통학적 특성을 밝히고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. β -Glucosidase 생성 균주 분리

미생물이 생산하는 β -Glucosidase의 활용을 위해 인삼 부산물(줄기, 열매) 및 인삼 밭 토양(36.193271, 127.468021)을 채취하였다. 채취된 시료는 10 g 정량한 후 멸균된 증류수 90 ml에 희석하고 sonicator(SUZUKI Co., Japan)를 이용하여 30 W, 2 분 30 초 동안 분산처리하였다. 분산처리된 시료는 9 ml 멸균수에 순차적으로 희석을 진행한 후 R2A 고체배지에 접종하고 28 °C에서 배양하였다. 도말한 고체배지에서 단일 colony를 1차 선별하였다. 순수 분리된 균주를 Esculin agar(Kisan Bio Co., Seoul, Korea)에 배지에 각각 접종하고 esculin을 가수분해하여 배지를 흑갈색으로 변색시키는 균주를 β -Glucosidase 생성 균주로 판정하였다.

2.2. β -Glucosidase 생성 균주의 계통분석

순수 분리된 β -Glucosidase 생성 균주의 계통 분석을 위해 단일 콜로니로부터 분리된 genomic DNA를 주형으로 사용하여 16S rRNA 유전자와 ITS 유전자의 PCR 증폭을 수행하였다. 16S rRNA 유전자 PCR 증폭을 위해 *E. coli* 16S rRNA 유전자 부분의 conserved sequence를 기초로 한 universal primers인 27F(5'-AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')을 이용하였다. PCR 조건은 2X Master Mix (Biofact, Korea), PCR buffer, 0.2 μ M primer로 하였다. 16S rRNA PCR 조건에 따라 95 °C에서 2 분, 94 °C에서 30 초, 54 °C에서 40 초, 72 °C에서 1 분, 16S rRNA 유전자 증폭을 30

cycle 반복하고 72 °C 5 분 처리하여 PCR 증폭을 하였다. ITS 증폭을 위해 universal primers인 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')와 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 이용하였다. PCR 조건은 2X Master Mix (Biofact, Korea), PCR buffer, 0.2 μ M primer로 하였다. ITS PCR 조건은 94 °C에서 3 분, 94 °C에서 1 분, 56 °C에서 1 분, 72 °C에서 2 분, ITS 증폭을 35 cycle 반복하고 72 °C 7 분 처리하여 PCR 증폭을 하였다. PCR 증폭 산물은 1.2 %의 agarose gel, 0.5X TAE buffer (0.045 M Tris-borate, 0.001 M EDTA)에서 100 V, 25 mA로 30 분 전기영동하고 PCR purification kit (Qiagen Inc., Germany)를 이용하여 정제한 후 염기서열 분석을 수행하였다. 결정된 16S rRNA 유전자 염기서열은 EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>)을 이용하고 ITS 유전자 염기서열은 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)을 이용하여 상동성을 검색하고 homology를 비교하였다[13]. 각 염기서열은 CLUSTAL W program으로 multiple sequence alignment한 후, MEGA 5.0[14]을 사용하여 분자 계통수를 작성하였다.

2.3. β -Glucosidase의 효소 활성 측정

분리된 균주의 β -Glucosidase 활성을 측정하기 위해 R2A broth에서 28 °C에서 3일간 배양한 후 15,000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 상층액을 조효소액으로 사용하였다. 기질은 sodium acetate / acetic acid 완충액 (50 mM, pH 5.0)에 p-nitrophenyl- β -p-glucopyranoside (Sigma Chemical, USA)의 농도가 5 mM이 되도록 용해시킨 후, 70 μ l의 조효소액에 기질 용액을 30 μ l 첨가하여 37 °C에서 10 분동안 반응하였다. 100 μ l 0.5 M Na₂CO₃을 주입하여 반응을 종결시킨 후, 450 nm에서 흡광도를 측정하여 p-nitrophenol 농도를 측정하였다. 효소 활성(unit)은 1 분동안 1 μ M의 p-nitrophenol을 생성하는 효소의 양으로 산출하였다[11,15].

2.4. β -Glucosidase의 효소학적 특성

2.4.1. 온도에 따른 β -Glucosidase 활성 및 안정성

온도에 따른 β -Glucosidase의 활성을 조사하기 위해 4 °C, 10 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35

°C, 40 °C 그리고 50 °C까지 각각의 온도에서 배양된 배양액을 조효소액으로 하여 기질 용액에 첨가하고 37 °C에서 20 분간 반응 후 효소활성을 측정하였다. 온도 안정성은 가장 높은 활성을 보인 온도의 조효소액을 배양된 기질 용액에 넣고, 4 °C, 10 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C 그리고 50 °C에서 반응 시킨 후 효소 활성의 변화율을 확인하였다.

2.4.2. pH에 대한 β -Glucosidase 활성 및 안정성

pH에 따른 β -Glucosidase의 활성을 조사하기 위해 pH 2~pH 9에서 배양된 배양액을 조효소액으로 하여 50 mM citrate-phosphate buffer (pH 2.0~6.0), 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.0~8.0) 및 50 mM glycine-NaOH buffer (pH 9.0~11.0)의 pH 완충 용액에 조효소액을 넣고 최적 온도에서 활성 반응을 측정하였다. pH에 따른 안정성은 가장 높은 활성을 보인 pH의 추출된 조효소액을 배양된 기질 용액에 넣고 pH 2~pH 9까지 각각의 다른 pH에서 반응 시킨 후 안정성을 측정하였다.

2.4.5. TLC (Thin Layer Chromatography) 분석

분리된 균주가 생성하는 β -Glucosidase의 진세노사이드 Rb1 전환능을 확인하기 위하여 분리 균주의 배양액으로부터 추출된 β -Glucosidase를 진세노사이드 Rb1 1 mM과 1:1로 혼합하고 30 °C에서 120 시간동안 반응시켰다. 반응액은 24 시간 간격으로 수포화 n-BuOH을 이용하여 사포닌 성분을 추출하고 TLC 분석하였다. TLC (60 F254 Silicagel, Merck)는 시료 당 간격을 1 cm로 점적하고, 전개 용매는 BuOH : Ethyl acetate : D.W (5 : 5 : 3, v/v/v 혼합 용매의 상층)를 사용하여 수행하였다. 전개한 TLC는 5 % 황산용액에 침지하고 105 °C에서 10 분간 방치하여 발색시켰다.

2.4.6. 항진균 활성 조사

식물 병원성 진균에 대한 항진균활성은 탄저병 병원균(*Colletotrichum acutatum*), 시들음병 병원균(*Fusarium oxysporum*), 잣빛곰팡이 병원균(*Botrytis cinerea*), 감자역병 병원균(*Phytophthora infestans*) 그리고 잎마름병 병원균(*Rhizoctonia*

solan)을 대상으로 disc plate diffusion method에 의거하여 항진균 활성능을 확인하였다. 각 식물병원성 진균은 PDA (Kisan Bio Co., Seoul, Korea) 고체배지에 또는 PDA (Kisan Bio Co., Seoul, Korea) agar에 1 cm²의 크기로 잘라 접종하고 분리 균주를 대치배양하여(25 °C, 7일) 생육 저해대(inhibition zone)의 유무를 확인하였다[16].

3. 결과 및 고찰

3.1 β -Glucosidase 생성 균주 분리

인삼 부산물 및 인삼 발 토양 시료를 R2A 고체배지에 접종하고 28°C에서 3일 동안 배양한 후 평판 배지 상에 형성된 colony 중 대표 콜로니 9 균주를 순수분리하였다. 이들 9균주의 β -Glucosidase 생성능을 확인한 결과 2균주가 β -Glucosidase를 생성하는 것으로 확인되었다(Fig 1).

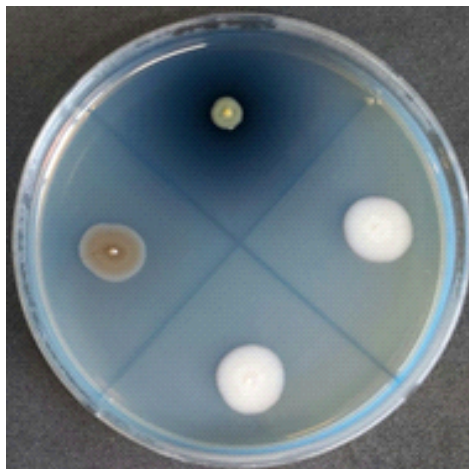


Fig. 1. Isolation of β -Glucosidase-producing strains.

3.2 β -Glucosidase 생성 균주의 계통분석

인삼 부산물 및 인삼 발 토양에서 분리된 β -Glucosidase를 생성하는 2균주의 계통 분석을 위해 16S rRNA 유전자 염기서열과 ITS 염기서열을 확인한 결과 세균 1균주, 진균 1균주로 확인되었다. 세균으로 확인된 GYP-3-3 균주의 16S rRNA 유전자 염기서열 분석 결과 *Actinobacteria*문, *Actinomycetia*강, *Derma-*

*bacteriales*목, *Dermabacteraceae*과, *Brachybacterium* 속에 속하며, *Brachybacterium paraconglomeratum* LMG 19861^T와 98.7 %, *Brachybacterium conglomeratum* NCIB 9859^T와 98.55 %, *Brachybacterium saurashtrense* JG 06^T와 98.27 %의 상동성을 나타내어 *Brachybacterium* sp.로 동정되었다.

진균으로 확인된 GYP-1 균주의 ITS 분석 결과 *Basidiomycota*강, *Microbotryomycetes*강, *Sporidiobolales*목, *Sporidiobolaceae*과, *Rhodotorula* 속에 속하며, *Rhodotorula glutinis* IFM 55305^T 99.84 %, *Rhodotorula babjevae* CBS 7808^T 99.83 %, *Rhodotorula graminis* CBS 2826^T 99.02 %의 상동성을 나타내어 *Rhodotorula* sp.로 동정되었다.

Rhodotorula 속에 속하는 종들은 대수기 동안 glycogen을 생산하는 능력과 정지기 동안 많은 양의 지질 및 carotenoid 색소를 생성하는 독특한 대사 특성을 가진 호기성 효모이다[17]. *Rhodotorula* 종은 공기, 토양, phyllosphere(잎 표면)에서 발견되며, 우유와 치즈 제품에서도 발견된다[18-19]. *Rhodotorula*의 일부 종은 β -carotene, torulene 및 torularhodin의 합성이 우수한 주요 카로티노이드 생산 미생물이다[19]. 또한 단백질, 지질 및 비타민의 좋은 공급원으로 널리 알려져 있다[20]. 그 중 *Rhodotorula glutinis*는 식품 산업에서 특히 중요하며, 화합물 중에서도 지질, carotenoid, 효소를 합성하는 이 점이 있으므로 산업적으로 매우 중요하다. 본 연구에서는 *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주가 생성하는 β -Glucosidase 특성을 확인하고 이들의 산업적 활용을 위해 기초 특성평가를 수행하고자 GYP-1 균주를 우수균주로 선발 하였다.

3.3. *Rhodotorula* sp. GYP-1의

β -Glucosidase의 효소학적 특성

선발된 *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주가 생성하는 β -Glucosidase의 온도 및 pH에 따른 효소 활성 및 안정성을 검정하였다. 온도에 따른 β -Glucosidase 효소 활성을 측정한 결과, 30 °C에서 6.7 unit/ml로 가장 높은 활성을 나타내었고, 20 °C~35 °C의 범위에서 4.2~6.7 unit/ml의 효소 활성을 나타냈으며, 50 °C에서 효소 활성이 즉시 감소하는 것으로 나타났다. 온도에 따른 β -Glucosidase효소의 안정성을 조사하기 위해 30 °C에서 배양된 조효소액을 4 °C~50 °C

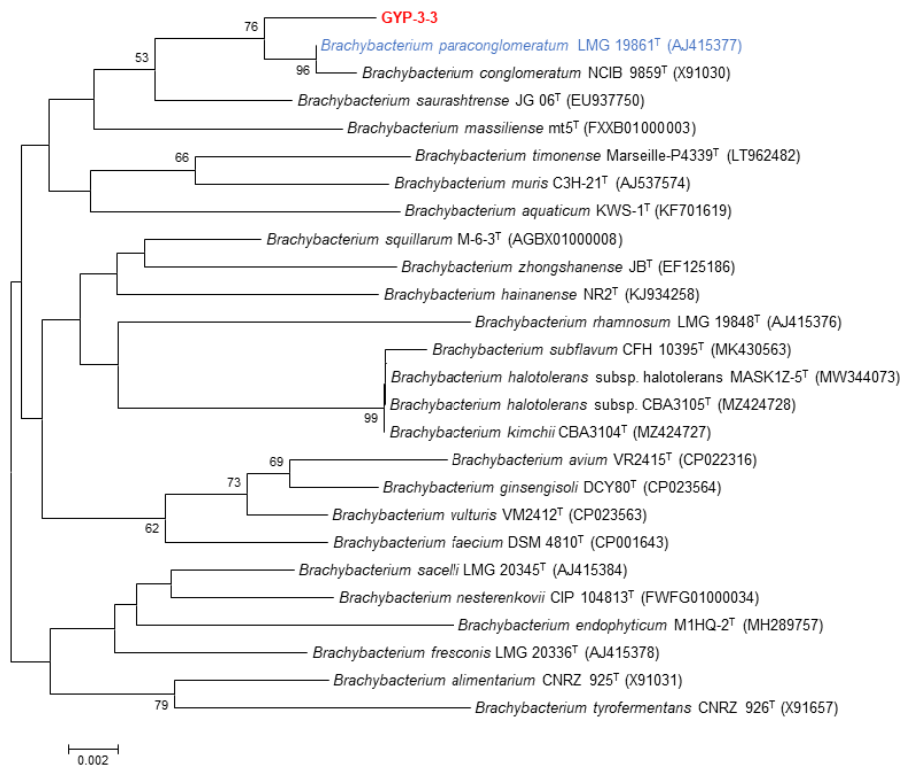


Fig. 2. Phylogenetic tree showing the location of bacterial strain GYP-3-3 in the phylum Actinobacteria based on 16S rRNA gene sequence analysis.

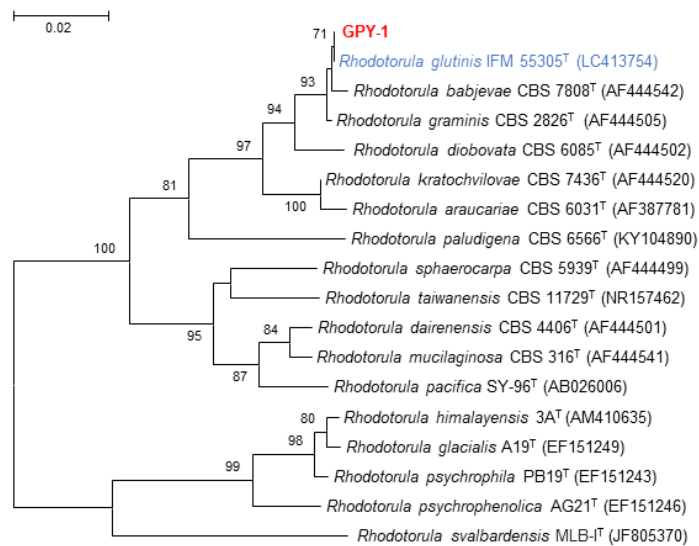


Fig. 3. Phylogenetic tree showing the location of yeast strain GYP-1 in the phylum Actinobacteria based on ITS sequence analysis.

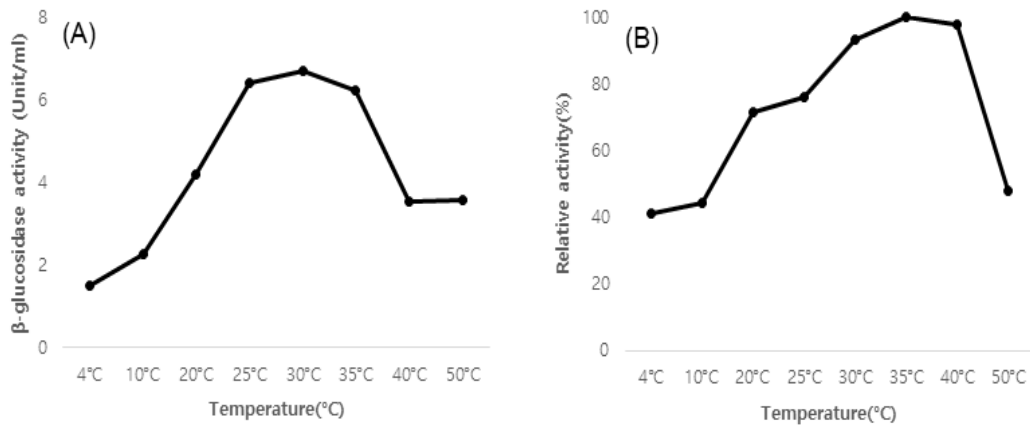


Fig 4. (A) Effect of temperature on β -Glucosidase activity, (B) Stability of β -Glucosidase enzyme according to temperature.

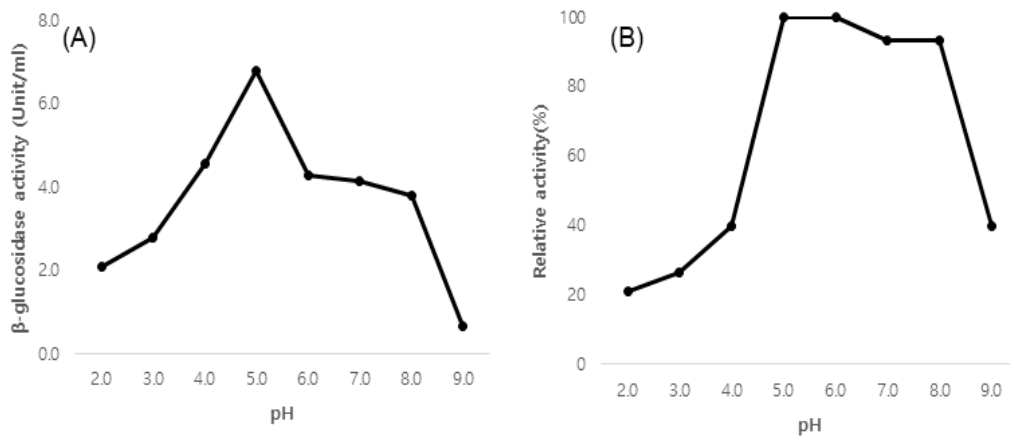


Fig 5. (A) Effect of pH on β -Glucosidase activity, (B) Stability of β -Glucosidase enzyme according to pH.

의 효소 활성을 측정한 결과, GYP-1가 생산하는 β -Glucosidase는 20 °C~40 °C에서 효소 활성의 약 70 % 이상을 유지하는 것으로 확인되었다. 고온인 50 °C에서는 효소 활성이 급격히 감소하는 것으로 나타났다(Fig 4). pH에 따른 효소 활성을 측정한 결과, pH 4~pH 8의 범위에서 3.8~6.8 unit/ml의 효소 활성을 나타냈으며, pH 5에서는 6.8 unit/ml로 가장 높은 활성을 나타내었고, 반면에 pH 9에서는 효소 활성이 1 이하로 급격히 감소하는 것으로 나타났다. pH에 따른 β -Glucosidase 효소의 안정성을 조사하기 위해 온도 30 °C, pH 5에 배양된 조효소액을 pH 2

~pH 9까지의 효소 활성을 측정하여 안정성을 확인한 결과, GYP-1가 생산하는 β -Glucosidase는 pH 5~pH 8까지 93.3 % 이상의 효소 활성을 유지하는 것으로 확인되었다.

3.4. *Rhodotorula* sp. GYP-1의 진세노사이드 생물전환능 분석

주요 진세노사이드는 의학적 치료 가능성이 크지만 분자량이 커서 혈액 순환에 잘 흡수되지 않아 생체 이용률이 낮다. 반면 저분자의 진세노사이드는 분자량이 작아 세포막 투과성이 높아 주요 진세노사이드 보다 높은 약리작용을 보인다

[21]. 주요 진세노사이드는 aglycone 구조에 따라 dammarane과 oleanane로 나뉜다. dammarane-type 진세노사이드는 protopanaxadiol(PPD)과 protopanaxatriol(PPT)로 분류되며, ocotillol-type 진세노사이드는 oleanolic acid 전구체(화합물)에서 파생된다[22]. 선발된 *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 β -Glucosidase의 진세노사이드의 Rb1 전환능은 TLC 방법으로 확인한 결과, *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 β -Glucosidase는 Rb1을 저분자의 진세노사이드로 분해하는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주는 진세노사이드를 활용하여 저분자의 진세노사이드로 생물전환 하는 것으로 확인되어 추후 저분자의 진세노사이드의 정성, 정량 분석을 수행하여, 의약, 식품, 화장품 등 생명산업의 기능성 원료로 개발할 필요가 있다고 판단된다.

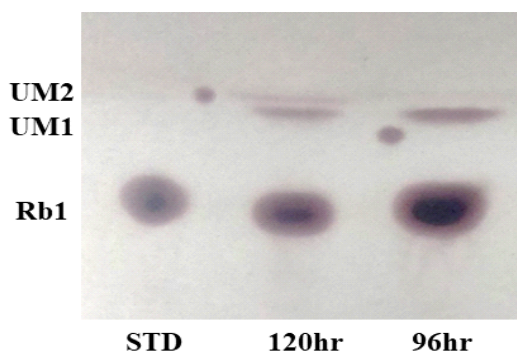


Fig. 6. TLC profile of conversion of 진세노사이드 Rb1 by *Rhodotorula* sp. GYP-1. TLC analysis of time-course transformation (STD, standard, UM, Unknown Minor 진세노사이드).

3.5. *Rhodotorula* sp. GYP-1의 생리·생화학적 특성

선발된 β -Glucosidase 생성 효모 *Rhodotorula* sp. GYP-1의 생리·생화학적 특성을 확인하기 위해 API 20E, 50CHB kit (bioMerieux)를 사용하여 당 발효·이용능을 조사하였다. *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주는 L-arginine, urea, L-tryptophan(tryptophan deaminase), L-tryptophan(indole production), D-glucose, L-rhamnose, D-sucrose, amygdalin

를 이용하는 것으로 확인되었으며, glycerol, D-arabinose, D-ribose, D-xylose, D-adonitol, D-galactose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, L-sorbose, L-rhamnose, inositol, D-mannitol, D-sorbitol, arbutin, esculin ferric citrate, salicin, D-saccharose, D-raffinose, D-lyxose, L-fucose, D-arabitol, potassium 5-ketogluconate을 이용하여 발효가 가능한 것으로 확인되었다. 이와 같은 결과는 추후, *Rhodotorula* sp. GYP-1의 대량배양의 기초 자료로 활용 가능하리라 판단된다.

3.6. *Rhodotorula* sp. GYP-1의 항진균 활성

본 연구에서 선발된 β -Glucosidase 생성 효모 *Rhodotorula* sp. GYP-1을 대상으로 식물 병원성 진균에 대한 항진균능을 검정하였다. Disc plate diffusion method를 이용하여 식물 병원성 진균에 대한 *Rhodotorula* sp. GYP-1의 항진균능을 확인한 결과, 탄저병 병원균(*Colletotrichum acutatum*), 시들음병 병원균(*Fusarium oxysporum*), 잿빛곰팡이 병원균(*Botrytis cinerea*), 잎마름병 병원균(*Rhizoctonia solani*)에 대해 항진균능을 갖는 것으로 확인되었다. 특히, 잿빛곰팡이병 병원균(*Botrytis cinerea*)은 인삼의 잎, 줄기, 열매, 뿌리 등 모든 조직에서 병을 일으키는 균으로 추후, *Rhodotorula* sp. GYP-1을 이용한 병 방제가 가능하리라 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 인삼 부산물 및 인삼 발 토양으로부터 β -Glucosidase 생성 균주를 분리하고 이들의 계통을 해석한 결과, *Brachybacterium* sp. 과 *Rhodotorula* sp. 속에 속하는 균주로 확인되었다. 특히, *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주는 호기성 효모 중으로 biomass 생산량이 높은 특징을 가지고 있어, 우수균주로 선발하였다. *Rhodotorula* sp. GYP-1 균주가 생산하는 β -Glucosidase 효소의 온도 활성 및 안정성을 확인한 결과, 30 ° C에서 6.7 unit/ml로 가장 높은 β -Glucosidase 활성을 나타내었으며, 20 ° C~40 ° C에서는 효소 활성의 약 70 % 이상을 유지하는 것으로 확인되었다. 또한 GYP-1 균주가 생산하는 β -Glucosidase 효소의 pH 따른 활성 및 안

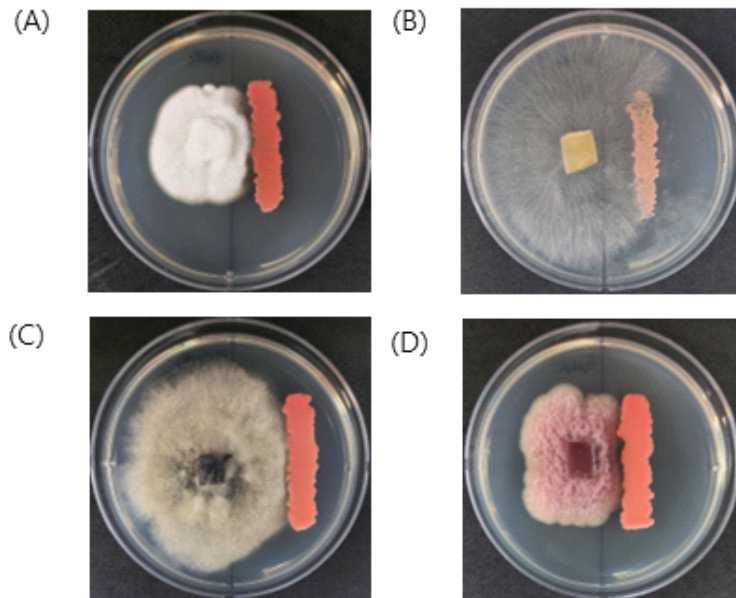


Fig 7. (A) Antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*, (B) Antifungal activity against *Rhizoctonia solani*, (C) Antifungal activity against *Botrytis cinerea*, (D) Antifungal activity against *Fusarium oxysporum*

정성을 확인한 결과, pH 5에서 6.8 unit/ml로 가장 높은 β -Glucosidase 활성을 나타내었고, pH 5~pH 8까지 93.3 % 이상의 효소 활성을 유지하는 것으로 확인되었다. 최적의 β -Glucosidase 활성을 나타내는 조건에서 생산된 효소는 진세노사이드 Rb1을 minor 진세노사이드로 생물전환 시키는 것으로 확인되었다. 또한 식물 병원성 진균 5종에 대해 항진균능을 검정한 결과 탄저병 병원균(*Colletotrichum acutatum*), 시들음병 병원균(*Fusarium oxysporum*), 꺾꽂이 병원균(*Botrytis cinerea*) 그리고 잎마름병 병원균(*Rhizoctonia solani*)에 대한 항진균능을 확인할 수 있었다. 이에, 본 연구에서 분리된 *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 β -Glucosidase는 의약품, 식품 그리고 화장품 등의 기능성 원료로 활용 가능하며, *Rhodotorula* sp. GYP-1가 생성하는 항균활성물질은 인삼 병방제제로 이용 가능하리라 사료된다.

References

1. Y. Kikuchi, H. Sasa, T. Kita, J. Hirata, T. Tode, I. Nagata, "Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation in vitro by ginsenoside-Rb2 and adjuvant effects of cisplatin in vivo", *Anticancer Drug*, Vol.2, pp. 63-67, (1991).
2. H. Oura, S. Hiai, T. Nakajima, "Color reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid", *Planta Medica*, Vol.29, pp. 116-122, (1976).
3. J. H. Han, S. J. Park, C. N. Ahn, J. J. Wee, K. Y. Kim, S. H. Park, "Nutritional composition, ginsenoside content and fundamental safety evaluation with leaf and stem extract of *Panax ginseng*", *Journal of Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.33, No.5 pp. 778-784, (2004).

4. D. C. Yang, H. Y. Choi, Y. H. Kim, K. Y. Yun, D. C. Yang, "Growth and ginsenosides production of hairy root via light energy", *Journal of Ginseng Research*, Vol.20, No.3 pp. 318-324, (1996).
5. H. K. Chang, "Effect of processing methods on the saponin contents of *Panax ginseng* leaf-tea", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.16, No.1 pp. 46-53, (2003).
6. J. W. Lee, J. H. Do, "Antioxidative activity of ethanol extraction fraction from the Korean red tail ginseng", *Korean J Food Sci Technol*, Vol.33, No.4 pp. 497-500, (2001).
7. H. Kitazawa, T. Harata, J. Uemura, T. Saito, T. Kaneko, T. Itoh, "Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*", *Int. J. Food Microbiol*, Vol.40, No.3 pp. 169-175, (1998).
8. Y. J. Chen, M. Nose, Y. Ogihara, "Alkaline cleavage of ginsenoside", *Chem. Pharm. Bull*, Vol.35, No.4 pp. 1653-1655, (1987).
9. H. Chi, B. H. Lee, H. J. You, M. S. Park, G. E. Ji, "Differential transformation of ginsenoside from *Panax ginseng* by lactic acid bacteria", *J. Microbiol. Biotechnol*, Vol.16, No.10 pp. 1629-1633, (2006).
10. H. G. Kim, K. Y. Kim, C. J. Cha, "Screening for ginseng fermenting microorganisms capable of biotransforming ginsenosides", *Kor. J. Microbiology*, Vol.43, No.2 pp. 142-146, (2007).
11. M. H. Jang, M. D. Kim, "Exploration of β -Glucosidase activity of lactic acid bacteria isolated from Kimchi", *Food Engineering Progress*, Vol.14, No.3 pp. 243-248, (2010).
12. I. H. Jeon, G. Y. Cho, S. I. Han, S. K. Yoo, K. S. Whang, "Conversion of ginsenoside Rb1 and taxonomical characterization of *Stenotrophomonas* sp. 4KR4 from ginseng rhizosphere soil", *Korean Journal of Microbiology*, Vol.49, No.4 pp. 369-376, (2013).
13. O. S. Kim, Y. J. Cho, K. Lee, S. H. Yoon, M. Kim, "Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species", *Microbiology*, Vol.62, pp.716-721, (2012).
14. K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, S. Kumar, "MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0", *Molecular Biology and Evolution*, Vol.30, No.12 pp. 2725-2729, (2013).
15. J. R. Na, Y. J. Kim, S. H. Kim, H. B. Kim, J. S. Snim, S. Y. Kim, D. C. Yang, "Conversion of ginsenoside Rb1 by ginseng soil bacterium *Cellulosimicrobium* sp. Gsoil 235 according to various culture broths", *Kor. J. Microbiol. Biotechnol*, Vol.37, No.1 pp. 55-61, (2009).
16. S. Loqman, E. A. Barka, C. Clément, Y. Ouhdouch, "Antagonistic actinomycetes from Moroccan soil to control the grapevine gray mold", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol.25, No.1 pp. 81-91, (2009).
17. B. Dworecka-Kaszak, M. Kizerwetter-Swida, "Pseudomycelium forming *Rhodotorula* - unusual picture of biofilm", *Food Bioscience*, Vol.5 pp. 64-72, (2014).
18. E. Reiss, H. Jean, G. Marshall-Lyon, "Fundamental medical mycology", *Wiley-Blackwell*, pp. 656, (2012).
19. I. Marova, M. Carnecka, A. Halienova, M. Certik, T. Dvorakova, A. Haronikova, "Use of several waste substrates for carotenoid-rich yeast biomass production", *Journal of Environmental Management*, Vol.95 pp. S338-S342, (2012).
20. M. Roadjnakamolson, W. Suntornsuk, "Production of β -carotene-enriched rice bran using solid-state fermentation of *Rhodotorula glutinis*", *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol.20, No.3 pp. 525-531, (2010).

21. Y. Ke, L. Huang, Y. Song, Z. Liu, L. Liang, L. Wang, T. Wang, "Preparation and pharmacological effects of minor ginsenoside nanoparticles: a review", *Front Pharmacol*, Vol.13, pp. 974274, (2022).
22. B. K. Shin, S. W. Kwon, J. H. Park, "Chemical diversity of ginseng saponins from *Panax ginseng*", *Journal of Ginseng Research*, Vol.39, No.4 pp. 287-298, (2015).