

후라빈生産性 *Aspergillus oryzae*의 人工突然變異種에依한 醱酵飼料의 製造에 關한 研究

金 浩 植
曹 憲 鉉

(서울大學校 農科大學)

緒 論

麵菌의 어떤 系統은 多量의 Riboflavin을 生産할 能力이 있으며 또한 麵薯은 適當한 有機炭素源만 있으면 硫安과 같은 無機窒素를 잘 同化하여서 蛋白質을 合成할 수가 있다. 고구마 澱粉粕과 같은 農産廢物은 여기에 硫安을 添加하므로 優秀한 후라빈 生産性麵菌을 接種하여 고-지를 製造하면 炭水化合物과 蛋白質의 均衡이 잡히고 Riboflavin이 強化되고 닭等에 對해서 嗜好性이 좋은 醱酵飼料를 만들 수가 있다. (1, 2). 筆者等(3)은 前般 優秀한 Riboflavin 生産性 *Aspergillus oryzae*를 自然에서 分離하고 또한 이에 紫外線照射로 至極히 多量의 Riboflavin을 生産하는 能力을 갖은 人工突然變異種 *Aspergillus oryzae* #612를 얻는데 成功하였으므로 이 人工突然變異種을 利用하여서 고구마 澱粉粕으로 부터 후라빈強化 醱酵飼料를 製造하는 研究를 하고 良好한 結果를 얻었으므로 이에 報告하는 바이다.

實 驗 方 法

1. 材 料 — 主原料인 고구마 澱粉粕은 全北 井邑産의 것을 使用하였으며 風乾한 澱粉粕을 20메쉬에서 레보라트리밀로 粉碎하여 使用하였다. 炭酸石灰及 硫安은 化學藥品이다.
2. 製麵法 — 澱粉粕 50g에다 所要量의 硫安及 炭酸石灰를 잘 混合하고 60mls의 물을 加해서 골고루 섞어 한 30分 放置한다.

이때 使用하는 물의 量은 原料의 반죽 狀態에 影響을 주므로서 結果的으로는 製麵의 良否에 影響을 준다. Riboflavin 生産量을 指示針으로 해서 가장 適當한 添加水量을 이 경우에 實驗한 結果 澱粉粕 50g當 60mls의 添加水量이 가장 좋은 結果를 보여 주었다.

150mls의 에루렌 마이어 후라스크에 이같이 만들어 놓은 添加水量에 따른 B₂ 生産量 硫安은 3% 添加함.

原料는 15 lbs.로 30分 殺菌한다음 *Aspergillus oryzae* #612의 胞子를 接種 30°C의 定溫器에 넣고 其後 24, 48, 72 時間마다 잘 섞어 주고 96時間 後에 出麵한다. 出麵한 製品은 風乾하고 이 風乾物을 分析의 原料로 삼았다.

3. 分析法 —

- (a) 蛋白質 — 風乾物 2g에 對하여 Kjeldahl法에 依해 세 마이마이크로法으로 N을 測定하고 6.25 倍해서 粗蛋白質量으로 하고 純蛋白質은 Stutzer法에 依해서 N을 測定하고 蛋白質量을 計算하였다.

添加水量 原料에 對한%	B ₂ 生産量 mg/風乾物100g
80	1.054
100	1.154
120	1.164
160	0.750
200	0.677

- (b) 아미노酸組成——麴菌의 菌體를 構成하는 蛋白質의 榮養價를 調查할 目的으로 本實驗에 使用한 麴菌 *Aspergillus oryzae* 井612의 菌體蛋白質의 아미노酸組성을 調查하였다. 500 mls의 에루렌 마이어 후라스크에 200 mls의 Nageli 培養液 (4)을 넣고 10日 間 液面培養을 한 다음 菌蓋를 濾紙上에 濾過하고 蒸溜水로 數次洗滌한 다음 乾燥시키고 이 菌體物量의 2~3倍의 濃鹽酸으로 水浴上에서 1~2時間 샌드바-스上에서 12~24 時間 蛋白質을 加水分解한 다음 鹽酸을 蒸發시켜 버리고 濃縮한다. 濾紙上에 이 濃縮液 스폿트를 찍고 BuOH/AcOH/H₂O 및 Phenol/H₂O 溶媒를 展開液으로 한 一次元 및 二次元的 페-퍼크로마토그래피로서 組成아미노酸을 同定한다.
- (c) 澱粉——試料 2g에 25% HCl 20ml. 물 200 ml 를 加하고 沸水中에서 2時間 加熱 分解한 後 Somogyi 法으로 葡萄糖을 計算하고 다음 澱粉量으로 換算하였다.
- (d) VB₂——試料 2g에 對하여 “The Association of Vitamin Chemist” (S)의 fluorometry 法에 依하여 測定하였다.

實驗結果及考察

以上과 같은 方法에 依하여 澱粉粕에다 硫安만을 添加해서 코-지를 만들고 그것을 分析한 結果는 第1表와 같은 것이 었다. 原料中の 硫安의 量이 增加함에 따라 顯著하게 蛋白質의 量이 增加하고 反面 澱粉의 量은 減少한다. 또한 粗蛋白과 純蛋白의 量이 大略 一致하는 것으로 보아 無機窒素源인 硫安은 大略 이 全量이 蛋白質로 合成되는 것이라고 볼 수가 있다. 그러나 菌의 發育狀態, VB₂의 生産量 등으로 미루어 보아 硫安의 添加量은 3~4%를 限界로 하고 있다.

無機窒素의 同化力과 VB₂의 生産量을 增加시키기 爲해서 澱粉粕의 約 4/1量의 밀기울과 過磷酸石灰를 硫安에 附加하여 醱酵飼料를 만든 結果는 第2表와 같은 것이 었다. 硫安의 同化率도 이 경우에는 6%까지는 增加시킬 수가 있었으며 따라서 飼料中の 蛋白質과 VB₂의 量도 增加시

第1表 醱酵飼料成分分析表

試驗區 硫安%	澱粉粕	硫安	炭酸 石灰	製 品 風 乾 物	風 乾 物 中 %						乾 物 中 %			
					水分	乾物	VP ₂ mg	澱粉	粗蛋白	純蛋白	VP ₂ mg	澱粉	粗蛋白	純蛋白
澱粉粕					15.47	85.53	0.14	54.54	3.96	3.62	0.17	64.53	4.68	4.28
1	50	0.5	0.35	31.1	10.54	89.46	0.46	34.92	6.96	6.00	0.52	39.04	7.78	6.71
2	50	1.0	0.70	26.3	12.49	87.51	0.93	20.95	9.97	8.82	1.06	23.93	11.39	10.68
3	50	1.5	1.05	26.1	11.64	88.36	1.12	17.63	11.90	10.06	1.26	19.93	13.46	11.38
4	50	2.0	1.40	26.0	12.05	87.94	1.29	13.64	14.01	10.94	1.47	15.62	15.93	12.44
5	50	2.5	1.75	27.4	12.25	87.75	1.21	12.97	15.07	11.47	1.33	14.78	17.18	13.07

킬 수가 있다. 특히 VB₂는 顯著하게 增加된다. 이 두가지 醱酵飼料의 어느 경우에 있어서나 澱粉의 量이 특히 多量 減少되는데 結果적으로 얻는 蛋白質과 VB₂의 量과 關聯하여서 이 점이 飼料로서의 이 醱酵飼料에 어떠한 영향을 가져오는지는 飼養實驗結果에 依據해야 할 것이다.

이 醱酵飼料의 蛋白質의 構成體인 麴菌의 蛋白質의 榮養價를 吟味하기 爲하여 그 아미노酸組成을 調查한 結果 Leucine, Isoleucine, phenylalanine, methionine, tyrosine, alanine,

第2表 醱酵飼料成分分析表

硫安 %	澱粉 柏	밀 기	過 燐 酸 石 灰	硫安	炭 酸 石 灰	製 品 乾 物 量	風 乾 物 中 %						乾 物 名 %			
							水分	乾物	VB ₂	澱粉	粗蛋白	純蛋白	VB ₂	澱粉	粗蛋白	純蛋白
	24	6					16.06	83.94	0.21	55.91	6.14	4.94	0.26	66.61	7.32	5.89
4	24	6	0.3	1.2	0.84	16.0	10.79	89.21	1.45	13.00	17.97	12.00	1.62	14.57	20.14	13.45
6	24	6	0.3	1.8	1.26	16.8	10.52	89.48	1.97	11.70	20.44	13.77	2.20	13.19	22.85	15.38
8	24	6	0.3	2.4	1.68	18.5	10.43	89.57	2.07	9.75	22.55	12.88	2.31	10.89	25.18	14.38

lysine, arginine, glutamic acid, aspartic acid 가 페-페크로 마토 그라취로 同定되었 으며 優秀한 蛋白質源인 이 判明되었다.

摘 要

1. 澱粉粕에다 硫安을 添加하고 VB₁ 生産性 麹菌을 利用해서 高-지를 만들어 蛋白質及 VB₂가 豊富한 醱酵飼料를 만들었다.

2. 硫安의 添加量이 增加함에 따라 飼料의 蛋白質及 VB₂ 量도 增加하나 모든 條件으로 보아 3~4%를 그 限界量으로 한다. 澱粉粕에 그 4/1量의 밀가울을 混合하면 硫安의 同化率을 6%까 지 增加시킬수가 있다. 이같은 飼料는 乾物中의 純蛋白質量이 15%, VB₂ 量이 2.20 mg%가 된다.

3. 蛋白質給源으로서의 麹菌의 아미노酸組成을 調査한 結果 10個의 아미노酸이 判明되었으며 飼料로서 良好함이 明白히 되었다.

이 研究는 檀紀4293年度 原子力研究 補助費로서 그 研究費의 一部가 充當된 것으로서 이제 論文을 完成함에 있어서 同院에 對하여 深甚한 謝意를 表하는 바이다.

參 考 文 獻

- (1) 坂口, 岡崎 (1950) 農化, 24, 77
- (2) 芥田, 伊福 (1955) 兵庫縣立農事試報, 2, 100
- (3) 金治權, 曹應茲 (1959) 未發表
- (4) 宮路 (1949) 應用菌學, 實施篇, 46pp
- (5) The Association of Vitamin Chemists (1951) Method of Vitamin Assay, 170 pp

Resume

Riboflavin and protein fortified, fermented feed were prepared by cultivating koji mold of riboflavin producibility on sweet potato starch waste with addition of ammonium sulfate. Progressive riboflavin and protein yield were obtained in the feed with additive amount of ammonium sulfate up to 4%. The effect was further enchanced by mixing 1/4 amount of wheat bran and 2~3% calcium superphosphate with starch waste. The best fermented feed were fortified with 15% protein and 2.2 mg % of riboflavin while the starch content was decreased to 13%. The amino acid composition of mold body was studied.