

韓國麴子(Kock Ja)의 醱酵生産力에 關한研究 (第 1 報)

麴子中 含有絲狀菌의 分離와 其性狀

李 斗 永

(韓國醱酵化學研究所)

Studies on the industrialization of the Korean KockJa. (I)

It's Isolation and physiological characteristics of Mold from Kock Ja.

Lee, Doo Young

(Korean Fermentation Chemical Research Institute)

Abstract

Especially, we mainly dealt on the isolation of mold in the sample of the Korean products, Kock Ja. The kinds of the isolated strain are such as these, *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus oryzae* sp., *aspergillus niger* sp., *Penicillium* and *Fungi Imperfecti*.

The action of the starch saccharification of isolated strain and the order of liquefying action are follows:

The saccharification power was R-1>R-2>M-2> Kock Ja>M-1>O-2>N-1>O-4

The liquefying power was R-1, R-2>O-2>O-4>M-2, Kock Ja>M-1>N-1

We compared the pH's saccharification curve of each kind of strain with Kockja.

The most suitable pH value of R-1, R-2 was the closest to pH 4.0, close value with Kock Ja.

The *Rhizopus* species on the saccharification action of each kind of strain in regard to raw wheat starch was stronger than other kinds of strain.

We think that to generalize the above result, the *Rhizopus* species consists of an important strain of this Kock Ja, and is an important factor for the saccharification action of Kock Ja and the existence of *Mucor* species as well.

緒 論

古來로부터 韓國과 中國 東北 地方에서는 酒類 製造에 麴子를 使用하였다.

이 麴子에 關한 研究는 比較的 적은데 長西(1929), 小原(1941), 森本(1935), 山崎(1950), 等에 依하여 發表되었으나 이 發表는 大部分이 麴子에서 Isolation 한 strain 의 自體에 對한 形態의 生理的 研究에 不 過하였다. 元來 韓國 釀造의 宗主이던 麴子의 製造 方法은 現在까지 科學的인 檢討가 未及하여 至極히 原始的인 製造方法을 踏襲하는 狀態이므로 이것을 工業的으로 有効한 菌體酵素의 給源으로 利用하려는 見地에서 現在의 麴子製造方法인 自然狀態下의

空中 或은 原料等에서 由來되는 strain의 發生을 止揚하고 強力한 strain의 純粹化와 이것을 應用하는 釀造面에 그 效果의 增加를 期待하고 不良菌의 繁殖에 依하는 原料의 消耗과 製品의 低下를 防止하는 것이 極히 緊要한 것으로 생각하고 于先 現在의 麴子中에 存在하는 microorganism을 酵素化學的으로 探求하려한다. 以前부터 麴子中의 主體인 saccharification strain을 決定하는 것이 比較的 困難한 것으로 알려졌다. 即 麴子中의 strain의 spore와 spore mother cell의 發芽는 麴子の 新舊의 程度에 依하여 差異가 생김으로 strain에 따라서 Spore와 Hypha의 development가 PH와 온도等を 各各 달 리함으로 나타나는 차이로 strain의 Isolation에 考

慮하였다. 長西氏는 韓國麴子에서 Isolation 한 絲狀菌中에서 重要한 菌種에 對한 糖化曲線을 作成하여 麴子自體의 糖化曲線과 比較하고 重要糖化菌種을 推定하여 *Absidia* 屬 *Aspergillus oryzae* sp. 及 *Endomyces* 等이 麴子の 糖化作用에 큰 關聯이 있는것을 指摘하고 *Rhizopus* 屬의 糖化作用은 比較的 強하지만 其糖化曲線과 最適溫度等을 考慮하여 麴子の 主要糖化菌으로 認定하기는 困難하다고 結論하였다.

또 古來로부터 麴子製造에는 小麥의 生澱粉이 使用되었으나 麴子自體의 糖化曲線으로 檢討한다면 生澱粉의 資化能이 強한 菌種이 製成 麴子에서 優位를 維持할 것으로 생각이 된다. 過去 生澱粉에 對한 研究發表로서 山崎 上田等이 絲狀菌의 生澱粉에 對한 糖化作用이 黑麴菌이 黃麴菌 麥芽에 比하여 強하다고 하였다. 麴子の 使用形態가 open fermentation 인 點에서 雜菌에 對한 抵抗性이 있고 또 酸度 pH 4.0 附近에서 action 할 수 있는 生澱粉의 資化能이 強한 菌種이 要望되는 것이다.

材料 및 方法

I. Sample(麴子) :

釜山市內 H 釀造場서 入手한 것임

培地 : 5%葡萄糖,

5%麴子抽出液

2%寒天添加

麴子の 各部分에서 無菌的으로 小量式 採取 粉末한 것을 均質하여 各各 殺菌한 flask 中에 貯藏 其中 一定量을 滅菌水中에 懸濁하여 一白金耳式 各各 平板培養을 하였다. 發生한 colony 를 顯微鏡으로 觀察하여 形狀을 區分하고 다시 pure culture 를 하였다. 또 少量의 麴子 粉末을 pH=3.0 peffer synth-

etic medium 을 使用한 平板培養에서는 *Aspergillus oryzae* sp., *Aspergillus niger* sp.가 多數分離 되었다.

그런데 *Absidia* 屬 *Endomyces* 屬及 *Mucor* 屬等은 Isolation 이 안되었다. *Penicillium* sp. *Fungi Imperfecti* 도 分離되었다. (分離된 菌種에 對한 菌學的 研究는 後報에 믿고 本報에서는 省略한다)

豫備實驗에서 生理的 檢索을 하지않고 顯微鏡으로 形態의 考察로 分離에 多數 出現된것을 選擇하여 다음 實驗을 하였다.

II. Sample : 麴子及 麴子에서 分離 한絲狀菌의 糖力曲線과液力化力

가) 使用한 菌株

O-1, O-2, O-3, O-4. (*Asp. oryzae* sp.)

N-1. (*Asp. niger* sp.)

M-1, M-2 (*Mucor* sp.)

을 加하여 2時間室溫에 放置하였다가 濾過한 것을 酵素液으로 使用하였다.

R-1, R-2. (*Rhizopus* sp.)

上記의 麴子에서 分離한 9株을 使用하였다.

나) 製 麴

穀5g, 水道水4.5ml 을 300ml 容의 三角 flask 에 넣고 15lbs 20 分殺菌한 後各菌株을 接種하여 30°C 日間 培養하였다.

다) 酵素液

前記의 9 菌株로 製麴한(酵5g)에 水道水 4.5ml

라) 澱粉糖化力의 測定

共栓1000ml 容의 test tube 에 各各의 Hydrogen-ion concentration 을 調節한 buffer solution 20 %, 2% 可溶性澱粉50ml 蒸溜水25ml 酵素液5ml. 을 加하여 計100ml. 로 한 後 이것을 50°C 의 恒溫槽에서 2時間 糖化한 後 5ml 式을 Bertrand 法으로 reducing power 를 N/10 KMnO₄ 溶液

Table 1. The relationship between saccharifying action and pH.

Strain strain No. PH	<i>Asp. oryzae</i> sp.		<i>Mucor</i> sp.		<i>Rhizopus</i> , sp.		<i>Asp. niger</i>	Kock Ja
	O-2	O-4	M-1	M-2	R-1	R-2	N-1	
3.2	1.49	1.77	4.48	7.52	9.52	9.33	6.60	7.98
3.6	4.32	3.13	6.11	—	10.28	9.84	—	8.63
4.0	5.22	4.17	6.53	9.24	—	10.41	6.46	8.95
4.4	6.70	4.69	7.01	9.42	10.53	10.39	—	—
4.8	5.71	4.71	7.32	9.37	10.57	10.16	—	8.21
5.2	5.89	4.57	6.99	—	10.47	—	5.89	7.95
5.6	5.47	4.42	6.68	8.43	—	9.65	5.15	7.61
6.0	5.07	4.04	5.95	7.49	9.56	9.25	3.97	6.73
6.4	4.71	3.62	5.02	6.90	8.68	—	2.84	6.41

Table 2. Saccharifying action of Kock Ja and other microorganisms.

Strain	<i>Asp. oryzae</i> sp.		<i>Mucor</i> sp.		<i>Rhizopus</i> sp.		<i>Asp. niger</i>	Kock Ja
	O-2	O-4	M-1	M-2	R-1	R-2	N-1	
t(time)	2.0	2.5	7.0	4.5	1.5	1.5	11.0	4.5
D _{30'} ^{40°}	750	600	212	333	1,000	1,000	1.46	333

의 滴定數(c.c 數)로 表示하였다.

나) 澱粉液化力の 測定

前記分離菌株로 製麵한 것을 Wohlgemuth 法 照井變法으로 液化力을 測定하였다.

液化力(D)은 次式으로 表示한다.

$$D_{30'}^{40^\circ} = a/e \times 30/t \times N$$

a : 1% 可溶性澱粉液의 使用 5ml. 數

(本表에서는 5)

e : 酵素液의 使用 ml 數(本表에서는 1)

t : 赤紫色이 되기까지의 必要한 時間

(本表에서는 分) 30 恒數

N : 酵素液의 稀釋倍數

(本表에서는 50/5=10)

알아서 $D_{30'}^{40^\circ} = 5/1 \times 30/t \times 10 = 150/t$

實驗結果

pH 變化와 各種菌株의 糖化力의 變化는 第1表 第1圖에 表示하였다. 澱粉液化力의 測定値는 第2表와 같다.

第一表는 各 pH에 對한 各菌株의 糖化力을 N/

10 N. KMnO₄(f=0.9364)의 滴定價를 表示한 것이다. 이 表에서 보면 *Aspergillus oryzae* sp. O-2, O-4. 의 最適 pH는 4.8 附近이며 中性에 接近되어도 糖化力의 減少는 적으나 pH가 酸性側이 될수록 急激히 糖化力이 低下되며, pH 3.2 附近에서는 其作用이 微弱하여진다.

Aspergillus niger sp.는 反對로 pH 3.2 附近에서도 活潑한 糖化力을 表示하고 中性側에 接近되면 力價는 減少한다.

第二表는 各菌株과 麴子의 液化力을 wohlgemuth 法 照井變法으로 表示한 것이며 液化力은 *Rhizopus* 屬 2株가 強力하였으며 *Asp. Oryzae* 屬 *Mucor* 屬 2株 *Asp. niger* 屬의 順이었다. 麴子는 *Mucor* 屬의 M-2와 同一하였다.

III. 生澱粉에 對한 各分離菌及 麴子의 糖化作用

麴子의 製造 條件으로 考察할때 使用原料에 含有한 生澱粉을 資化할 수 있는 微生物이 麴子에 繁殖되는 것을 麴子의 糖化曲線으로 推定하고 各分離菌에 對하여 生澱粉資化能을 試驗하였다.

가) 使用菌株 II의 實驗에서 使用한 麴子分離菌株 9株

나) 製麴 數10g 水道水 7ml.를 300ml.容의 flask에 넣고 15 lbs. 20分 殺菌한後 各菌株을 接種 4日間 30°C Incubator 中에서 培養한 것을 使用하였다. (生黴을 使用하려하였으나 無菌의 處理가 煩雜함으로 加壓殺菌하였다.)

다) 酵素液, 前記製麵한것을 水道水 100ml을 加하여 攪拌後 室內에 5時間 放置한後 濾過하여 溫 酵素液으로 하였다.

라. 操作, 共 300ml 容 三角 flask에 小麥澱粉(市販品을 水洗後에 80% Ethanol로 洗滌한 것을 乾燥한것) 1g, 水120ml, walhole buffer solution 20 ml(pH 3.6), 酵素液20ml을 加하여 37°C의 Incubator 中에서 1日 2回 攪拌하던서 所定時間後에 其一部를 採取하여 濾過한 濾液을 Somoggi 法에 依하여 生成糖을 定量, 1g의 生澱粉에서 生成한 糖量을 glucose, mg 數로 表示하였다.

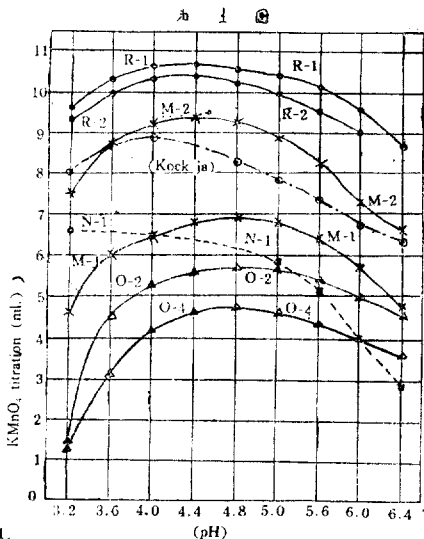


Fig. 1. Saccharifying activity of microorganisms as influenced of ion-concentration.

結果 糖化 21時間과 44時間後의 結果는 第3表와 같다.

Table 3. Saccharifying actions on raw starch to produce glucose

Saccharifying time (hrs.)		21	44 (mg/ 140ml)
Strain No.			
Microorganism			
<i>Asp. oryzae</i> sp.	O-2	28.72	64.80
	O-4	44.73	46.49
<i>Mucor</i> sp.	M-1	24.49	33.09
	M-2	11.30	24.63
<i>Rhizopus</i> sp.	R-1	134.20	250.42
	R-2	133.00	—
<i>Asp. niger</i>	N-1	53.73	66.93
Kock Ja		28.98	

第3表의 結果에 依하면 生澱粉에 對한 糖化作用은 R-1, R-2, 即 *Rhizopus* 屬이 他菌種에 比하여 斷然 強力하였고 可溶性澱粉에서는 糖化력이 弱하였던 *niger* 屬이 *Mucor* 屬, *Asp. Oryzae* sp. 보다는 강한 結果를 表示하였다.

考 察

麴子是 製造原料의 生産地別差와 製造工程에 따라서 分離되는 微生物에 많은 差異가 있을 것이다.

摘 要

1. 韓國產麴子の sample에서 特히 絲狀菌의 分離를 實施하였다. 分離한 菌種은 *Rhizopus* 屬 *Mucor* 屬 *Asp. oryzae* sp. *Asp. niger* sp. *Penicillium* 屬及 不完全菌類 등이었다.
2. 分離한 菌種의 澱粉糖化作用 및 液化作用의 順位는 糖化력이 R-1>R-2>M-2> 麴子>M-1>O-2>N-1>O-4, 液化力은 R-1, R-2>O-2>O-4>M-2. 麴子>M-1>N-1 이었다.
3. 各菌種의 pH의 糖化曲線과 麴子를 比較하였다. R-1 R-2의 最適 pH 値는 麴子와 近似한 pH4.0 附近이다.
4. 生小麥澱粉에 對한 各菌種의 糖化作用은 *Rhizopus* 屬이 他菌種에 比하여 強力함을 알았다.
5. *Rhizopus* 屬이 麴子の 主要菌이었으며, *Mucor* 屬과 같이, 麴子の 糖化作用에 主要役割을 하는 것으로 思料된다.

References.

1. 李斗永, 1954. 麴子製造法, 大韓民國特許. No. 46.
2. 李斗永, 1954. 麴製造法, 大韓民國特許. No. 47.
3. 李斗永, 1955. 種麴製造法, 大韓民國特許. No. 110.
4. 森本嚴, 1935. 朝鮮酒造視察後記, 釀造學會誌.

主要糖化力을 營爲하는 菌種도 當然히 差異가 있을 것으로 生覺된다.

單1種의 麴子에 對한 微生物의 分布狀況을 調査하는 것은 實用的研究로서는 困難할것으로 生覺됨으로, 多種의 麴子를 對象으로 檢索하여 麴子製造에 適合한 菌種을 選擇하여 目的하는 糖化力이 強力하고 製品에 惡影響을 주지않고 他雜菌에 抵抗할 수 있는 純粹한 麴子製造研究를 試圖하였다. 이런 見地에서 多數의 麴子試料에서 目的하는 菌種의 選擇을 目的으로 本研究를 進行하였던 것이다.

처음 平板培養에서 發生한 Colony 數는 *Rhizopus* 屬이 多數이고 *Mucor* 屬, *Asp. Oryzae*, *Asp. niger* 屬 *Penicillium* 屬 *Fungi Imperfecti* 등이 分布하였다. 分離菌으로서 糖化作用이 강한 順位는 R-1>R-2>M-2, 麴子>M-1>O-2>N-1>O-4 이다. 第1圖의 糖化曲線(對 pH)로부터 麴子の 糖化曲線과 相似한 形狀으로서는 R-1, R-2의 *Rhizopus* 屬이다. 이 結果로 본다면 R-1, R-2, M-1, M-2 등의 *Rhizopus* 屬 *Mucor* 屬이 強力한 action을 하는것으로 生覺된다.

液化力은 *Rhizopus* 의 R-1, R-2의 2種의 菌株가 強力하였다. *Asp. oryzae*, *Mucor* 屬 *Asp. niger* 屬의 順으로서 *Rhizopus* 屬이 液化力이 強하였다. 이 結果는 長西氏의 *Rhizopus* 屬이 糖化力은 強하나 糖化曲線, 最適溫度 最適 pH 등을 考察하여, 麴子の 主要 糖化菌이 될 수 없다고 結論한 것과는 全적으로 다른 現象이다.

7, 271. 日本.

5. 長西廣輔, 1929. 朝鮮產 麴子の 研究, 釀造學會誌 6, 717. 日本.

6. 小原嚴, 1941. 朝鮮麴子の 研究, 釀造學會誌 17, 66.

7. 照井堯造, 1950. 酵素反應速度에 對する 溫度効果의 解析 並びに 絕對 最適溫度에 就いて, 釀造工學誌. 18, 289. 日本.