

한국산 *Aspergillus*의 아밀라아제 활성에 관한 연구

沈 雄 燮 · 尹 京 河 · 白 樂 柱 · 李 永 祿

(고려대학교 생물학과)

A Study on Amylase Activities of *Aspergillus* from Korea

SIM, Woong Seop, Kyung Ha YOON, Lack Ju BAEK, and Yung Nok LEE

(Dept. of Biology, Korea University)

## Abstract

Dextrinogenic amylase and glucoamylase activities of *Aspergillus* isolated from various habitat-substrates collected through South Korea are measured, and their amylase activities are surveyed in taxonomical and ecological viewpoints.

1. *A. flavus* group and *A. wentii* group exhibited higher activities for both amylases than others.
2. In the relations between amylase activity of *Aspergillus* and their habitat-substrates, the strains isolated from meju and cereals exhibited predominant dextrinogenic amylase activity.
3. Dextrinogenic amylase activity of *Aspergillus* is higher in the strains isolated from southern coast than the other regions.
4. Among the 601 strains of *Aspergillus* surveyed, strain No. 74 and strain No. 421 exhibited the most predominant activity for dextrinogenic amylase and glucoamylase, respectively.

## 緒 論

*Aspergillus*는 자연계에 널리 분포하고 효소생성능 특히 아밀라아제 생성능이 우수하다는 점에서 연구의 대상이 될 뿐만 아니라 효소공업에서도 중요시 되고 있다. 1941년 Tokuoka가 *Aspergillus oryzae*의 배양액에서 saccharifying amylase (glucoamylase)의 존재를 보고한 후 Watanabe(1965a, 1965b, 1966a, 1966b, 1966c, 1967a, 1967b) 등은 *Aspergillus awamori*에 의해서 생산되는 saccharogenic amylase를 정제하여 산의 안정성, 작용기작 등을 광범위하게 연구 보고 했고 Morita(1966, 1968), Miyoko(1966) 그리고 Lineback(1969) 등은 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus niger*에서 생

산되는 glucoamylase를 각각 분리 정제하여 효소의 화학적 조성과 특성을 밝힌 바 있다. 한편 Minoda(1962), Yamada(1963) 등은 산에 안정한 *Aspergillus*의 dextrinase에 관하여 연구했고 Goodmann(1950)은 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus terreus*의 아밀라아제 생성능에 미치는 탄소원을 조사보고 했다.

우리나라에서 *Aspergillus*에 관한 연구는 이(1968), 문(1974) 그리고 이(1975) 등이 메주와 누룩등 한정된 기질에서 *Aspergillus* 수집주를 분리하여 분류학적 측면에서 연구 보고 했고 이(1976) 등은 우리나라 중부이남에서 수집한 여러가지 표품으로부터 400여 균주를 분리하여 동정했다. 그리고 박(1968), 정(1968) 등은 *Aspergillus oryzae*



**Table 1-a.** The characteristics of conidial head, conidiophore and vesicle of each species groups.

Species groups	Conidial Head		Conidiophore		Vesicle
	Shape	Color	Marking	Color	Shape
<i>A. fumigatus</i>	compactly columnar	dark green	smooth	green	flask
<i>A. ochraceus</i>	split	dull yellow	rough	dull yellow	globose
<i>A. niger</i>	split	black	smooth	colorless	globose
<i>A. candidus</i>	split	yellow cream	smooth	yellow	globose
<i>A. flavus</i>	radiate	yellow green	rough	colorless	globose
<i>A. wentii</i>	loosely columnar	yellow brown	echinulate	colorless	globose, flask
<i>A. versicolor</i>	radiate	gray green	smooth	colorless	oval
<i>A. nidulans</i>	short columnar	green	smooth	brown	flask
<i>A. ornatus</i>	radiate	olive green	smooth	light brownish	spathulate
<i>A. glaucus</i>	radiate to loosely columnar	green	smooth	brownish	flask
<i>A. clavatus</i>	split	blue green	coarse or smooth	colorless	clavate
<i>A. ustus</i>	radiate	drab	smooth	brownish	flask or subglobose
<i>A. cremeus</i>	radiate	light brown gray-green	smooth	colorless	globose

**Table 1-b.** The characteristics of sterigmata, conidia, cleistothecia, sclerotia and Hüll cell of each species groups.

Species group	Sterigmata		Conidia	Cleistothecia	Sclerotia	Hüll Cell
	Series	Shape				
<i>A. fumigatus</i>	single	globose		not produced		
<i>A. ochraceus</i>	double	globose			some species produced	
<i>A. niger</i>	double	flattened			not produced	
<i>A. candidus</i>	double	globose			produced	
<i>A. flavus</i>	single & double	globose subglobose		some species	produced	
<i>A. wentii</i>	single & double	subglobose				
<i>A. versicolor</i>	double	globose			not produced	not produced
<i>A. nidulans</i>	double	globose		produced		
<i>A. ornatus</i>	single	subglobose		produced	not produced	not produced
<i>A. glaucus</i>	single	subglobose to globose		abundantly		
<i>A. clavatus</i>	single	elliptical				
<i>A. ustus</i>	double	globose to subglobose				produced
<i>A. cremeus</i>	single & double	elliptical		abundantly		produced

Table 2-a. Characteristics of *Aspergillus* species identified.

Species groups	Species	Conidial head			Conidiophore			Vesicle	
		Shape	Color	Size( $\mu$ )	Marking	Color	Shape	Size( $\mu$ )	
<i>A. flavus</i>	<i>A. flavus</i>	radiate	yellow green	150-600	rough	colorless	globose subglobose	10-60	
	<i>A. parasiticus</i>	radiate	dark yellow green	350-450	smooth & rough	colorless	flask	20-35	
	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	columnar	green	350-500	rough	colorless	subglobose	12-30	
<i>A. niger</i>	<i>A. phoenicis</i>	split	brown black	350-1100	smooth	colorless brown	globose	30-80	
	<i>A. ficcum</i>	split	brown black	200-700	smooth	brown	globose	22-70	
	<i>A. japonicus</i>	radiate & split	purple brown	120-800	smooth	colorless, yellow, brown	globose	up to 50	
<i>A. ochraceus</i>	<i>A. ochraceus</i>	split	ochraceous buff	300-900	coarsely rough	dull yellow	globose	25-50	
	<i>A. sulphureus</i>	split	pale yellow	up to 300	smooth	pale yellow	globose, elongate	9-15	
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>	split	cream	up to 700	smooth	colorless	globose subglobose	3-35	
<i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i>	split	blue green	up to 1000	smooth	colorless	clavate	200-340, 35-80	
	<i>A. giganteus</i>	split	blue green	150-380	smooth	colorless	clavate	120-240, 25-46	
<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i>	columnar	green	250-500	smooth	green	flask	12-25	
<i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i>	radiate	yellow green	up to 120	smooth	colorless yellow	elliptical	4-15	
	<i>A. sydowi</i>	radiate	blue green	60-130	smooth	colorless	elliptical	4-16	
<i>A. wentii</i>	<i>A. thomii</i>	radiate columnar	yellow subgle	up to 400	rough	colorless	globose pyriform	10-50	
<i>A. nidulans</i>	<i>A. nidulans</i>	columnar	green	50-80	smooth	brown	flask	6-12	
<i>A. ornatus</i>	<i>A. spinulosus</i>	radiate	olive green	70-170	smooth	brown	spathulate	8-20	
<i>A. glaucus</i>	<i>A. pseudoglaucus</i>	radiate	green	up to 1000	smooth	light brown	flask	10-20	
<i>A. flavipes</i>	<i>A. flavipes</i>	radiate	white	40-60	smooth	yellow brown	subglobose elliptical	10-22	
<i>A. cremeus</i>	<i>A. ilaonicus</i>	radiate	light brown	300-450	smooth	colorless	globose	30-40	



효소활성의 단위는 37°C에서 30도간에 청색옥소 증색을 10% 저하시키는 starch의 mg수로서 표시하였다.

$$DP_{\text{mg st/ml}}^{37^\circ\text{C } 30'} = 4 \times \frac{D_o - D}{D_o} \times 100 \div 10$$

2) Glucoamylase; glucoamylase의 활성은 Somogi-Nelson(1952)법으로 측정하였다. 용량 25ml 시험관에 기질용액 0.2% soluble starch 1ml와 0.4M acetate완충액 (pH 5.0) 0.5ml, 그리고 효소액 0.5ml을 넣고 37°C

에서 10분간 반응시킨 다음 Somogi의 low-alkalinity copper 시약 2ml을 가하고 30분간 끓인 후 냉각시켰다. 완전히 냉각시킨 후 Nelson의 arsenomolybdate 시약 1ml을 가하여 20분간 실온에서 방치한 후 20ml의 증류수를 가한 다음에 500m $\mu$ 의 파장에서 흡광도를 측정하였다. glucoamylase의 활성도는 효소액 1ml가 starch로부터 생성한 glucose양으로 표시하였다.

Table 3. Distribution of *Aspergillus* species in each group.

Species groups	Species	No. of strain
<i>A. flavus</i>	<i>A. flavus</i>	210
	<i>A. parasiticus</i>	1
	<i>A. flavus var. columnaris</i>	2
	unidentified strains	85
<i>A. niger</i>	<i>A. phoenicis</i>	63
	<i>A. ficcum</i>	4
	<i>A. japonicus</i>	1
	unidentified strains	78
<i>A. ochraceus</i>	<i>A. ochraceus</i>	17
	<i>A. sulphureus</i>	1
	unidentified strains	8
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>	14
	unidentified strains	5
<i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i>	7
	<i>A. giganteus</i>	4
	unidentified strains	5
<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i>	31
<i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i>	13
	<i>A. sydowi</i>	3
	unidentified strains	4
<i>A. wentii</i>	<i>A. thomii</i>	18
	unidentified strains	6
<i>A. nidulans</i>	<i>A. nidulans</i>	9
	unidentified strain	1
<i>A. ornatus</i>	<i>A. spinulosus</i>	1
<i>A. ustus</i>	unidentified strain	1
<i>A. glaucus</i>	<i>A. pseudoglaucus</i>	1
<i>A. flavipes</i>	<i>A. flavipes</i>	1
<i>A. cremeus</i>	<i>A. itaconicus</i>	1
Unidentified group		6

結果 및 考察

1. 균종군과 종의 동정

분리한 601균주의 *Aspergillus*로부터 *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. nidulans*, *A. ornatus*, *A. glaucus*, *A. flavipes*, *A. cremeus* 등 13균종군과 *A. fumigatus*, *A. phoenicis*, *A. ficcum*, *A. japonicus*, *A.*

*ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. giganteus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. flavus* var. *columnaris*, *A. versicolor*, *A. sydowi*, *A. thomii*, *A. spinulosis*, *A. nidulans*, *A. pseudoglau-cus*, *A. flavipes*, *A. itaconicus* 등 20종을 동정했다. 동정된 균종군과 종의 특성을 Table 1-a, 1-b와 Table 2-a, 2-b에 표시하였다.

2. *Aspergillus*의 계통과 효소활성

Table 4. Mean amylase activities of *Aspergillus* species groups.

Species group	No. of strains	Amylase	
		Dextrinogenic amylase (DP)	Glucoamylase (mg/ml)
<i>A. flavus</i>	298	13,674.3	45.26
<i>A. niger</i>	146	2,636.78	26.12
<i>A. ochraceus</i>	26	2,452.95	7.86
<i>A. wentii</i>	24	9,303.35	35.11
<i>A. fumigatus</i>	31	1,835.52	9.83
<i>A. clavatus</i>	16	4,616.86	23.93
<i>A. versicolor</i>	20	4,219.26	21.86
<i>A. nidulans</i>	10	773.18	3.74
<i>A. candidus</i>	19	1,863.32	18.1
<i>A. ustus</i>	1	888.8	3.0
<i>A. glaucus</i>	1	78.4	0.6
<i>A. ornatus</i>	1	0	7.0
<i>A. flavipes</i>	1	1,618.8	4.2
<i>A. cremeus</i>	1	2,054.1	8.6
Unidentified	6	7,139.03	26.49

Table 5. Amylase activities of species in *Aspergillus flavus* group and *Aspergillus wentii* group.

Species group	Species	No. of strain	Amylase activities	
			Dextrinogenic amylase (DP)	Glucoamylase (mg/ml)
<i>A. flavus</i>	<i>A. flavus</i>	210	12,432.7	50.99
	<i>A. parasiticus</i>	1	2,666.4	52.2
	<i>A. flavus</i> var. <i>columnaris</i>	2	5,454.2	40.5
	Unidentified strains	85	16,918.3	46.02
<i>A. wentii</i>	<i>A. thomii</i>	17	8,095.3	35.25
	Unidentified strains	6	14,276.6	40.57

분리동정한 *Aspergillus*의 균종군과 종을 Table 3에 표시하고 균종군의 평균 amylase 활성을 Table 4에 표시했다. 분리동정한 *Aspergillus* 가운데 *A. flavus* 균종군에 속하는 균주가 가장 많고 다음이 *A. niger* 균종군에 속하는 균주들이다. 한편 균종군에 따른 amylase 활성에 있어서는 *A. flavus* 균종군과 *A. wentii* 균종군이 높게 나타났다. 이 두 균종군의 종별 amylase 활성을 Table 5에 표시하였다. Table 5에서 보는 바와 같이 *A. flavus*가 dextrinogenic amylase와

glucoamylase 활성에 있어서 높은 값을 나타냈다.

### 3. 생태학적 요인과 효소활성

*Aspergillus*의 지역적 분포와 지역적 효소 활성을 Table 6과 Table 7에 각각 표시하고 서식기질에 따른 균주의 효소활성을 Table 8에 표시하였다. 지역에 따른 균종군의 분포는 Table 6에서 보는 바와같이 *A. flavus* 균종군과 *A. niger* 균종군이 전지역에 널리 분포하고 있으며 지역별 효소활성에 있어서는 dextrinogenic amylase가 남해안 지역에

Table 6. Distribution of *Aspergillus* species groups in each region.

Species group	Region	Middle inland	Southern inland	Western coast	Southern coast	Che-ju island	Total
<i>A. flavus</i>		62	36	71	128	1	298
<i>A. niger</i>		46	22	31	47	0	146
<i>A. ochraceus</i>		10	2	5	9	0	26
<i>A. wentii</i>		4	3	11	6	0	24
<i>A. versicolor</i>		2	1	0	17	0	20
<i>A. clavatus</i>		10	2	3	1	0	16
<i>A. fumigatus</i>		1	5	12	13	0	31
<i>A. candidus</i>		6	0	7	6	0	19
<i>A. nidulans</i>		0	0	7	3	0	10
<i>A. glaucus</i>		0	0	0	1	0	1
<i>A. ornatus</i>		0	1	0	0	0	1
<i>A. ustus</i>		0	0	0	1	0	1
<i>A. flavipes</i>		0	1	0	0	0	1
<i>A. cremeus</i>		0	0	0	1	0	1
Unidentified		0	1	2	3	0	6

Table 7. Amylase activities of Korean wild strains of *Aspergillus* from different regions.

Region	No. of strain	Amylase activities	
		Dextrinogenic amylase (DP)	Glucoamylase (mg/ml)
Middle inland	141	6,861.8	36.03
Southern inland	73	8,585.7	34.22
Western coast	151	6,800.2	33.99
Southern coast	235	10,143.1	28.99
Che-ju island	1	3,134.8	34.60
Mean	601	8,332.55	32.54



서 가장 높은 활성을 나타냈고 glucoamylase 활성은 지역적 차이를 별로 나타내지 않았다.

서식기질에 따른 균종군의 분포와 효소활성을 Table 8, Table 9에 각각 표시하였다.

Table 8에서 보는 바와 같이 균종군의 분포는 *A. flavus* 균종군, *A. niger* 균종군, *A. wentii* 균종군이 다양한 기질에 분포하고 있다. 서식기질에 따른 야생균주의 효소활성은 Table 9에서 보는 바와 같이 glucoamy-

Table 8. Distribution of isolates according to the species group and the habitat-substrates.

Species group	Items						Total
	Bread and Korean cake	Meju	Fruit	Cereal	Others		
<i>A. flavus</i>	114	103	11	27	43	298	
<i>A. niger</i>	79	27	7	11	22	146	
<i>A. ochraceus</i>	18	4	0	1	3	26	
<i>A. wentii</i>	10	3	2	5	4	24	
<i>A. versicolor</i>	1	9	3	0	7	20	
<i>A. clavatus</i>	11	1	0	3	1	16	
<i>A. fumigatus</i>	12	10	2	0	7	31	
<i>A. candidus</i>	8	5	1	0	5	19	
<i>A. nidulans</i>	3	1	0	0	6	10	
<i>A. glaucus</i>	0	0	1	0	0	1	
<i>A. ornatus</i>	0	0	0	0	1	1	
<i>A. ustus</i>	0	0	1	0	0	1	
<i>A. flavipes</i>	0	0	0	0	1	1	
<i>A. cremexs</i>	0	1	0	0	0	1	
Unidentified	2	2	0	0	2	6	

Table 9. Amylase activities of Korean wild strains of *Aspergillus* based on habitat-substrates from which the strains were isolated.

Habitat-substrates	No. of strain	Amylase activities	
		Dextrinogenic amylase (DP)	Glucoamylase (mg/ml)
Bread & Korean cake	250	6,759.1	34.58
Meju	163	10,852.6	32.24
Cereal	49	10,708.1	37.33
Fruit	30	8,368.7	32.38
Others	109	6,524.3	26.46
Mean	601	8,332.55	32.59

lase활성의 경우 큰 차이를 나타내지 않았지만 dextrinogenic amylase 활성에서는 메주와 곡류에서 분리한 균주들이 높은 활성을 나타냈다.

4. 우량균주의 선정

분리한 *Aspergillus* 601 균주의 dextrino-

genic amylase와 glucoamylase의 활성을 각각 측정 비교하여 dextrinogenic amylase 생성능이 우수한 균주와 glucoamylase 생성능이 우수한 균주 5주씩을 각각 선정하였다. 선정된 10균주와 그들의 효소활성을 Table 10-a 와 10-b에 표시하였다. Table

Table 10-a : Selected strains having predominant amylase activity strains for dextrinogenic amylase.

Strains number	Species	Substrate	Collection area	Activity (DP)
74	<i>A. flavus</i>	bread	Pusan	38,856
304	<i>A. flavus</i>	meju	Kwangju	37,333
487	<i>A. flavus</i>	fruit	Kunsan	36,604
21	<i>A. flavus</i>	bread	Pyungtaik	30,243
263	<i>A. wentii</i>	fruit	Jeonju	29,760

Table 10-b Selected Strains having predominant amylase activity strains for glucoamylase.

strains number	Species	Substrate	Collection area	Activity(mg/ml)
421	<i>A. flavus</i>	Korean cake	Kunsan	111.0
122	<i>A. flavus</i>	Korean cake	Suweon	104.0
369	<i>A. flavus</i>	meju	Samcheonpo	101.6
282	<i>A. flavus</i>	bread	Kwangju	94.8
438	<i>A. flavus</i>	bread	Kunsan	93.6

10-a와 10-b에서 보는 바와 같이 dextrinogenic amylase 생성능이 우수한 균주 가운데 균주번호 74가 가장 강력한 효소활성을 나타냈고 glucoamylase 생성능이 우수한 균주 가운데서 균주번호 421이 가장 강력한 효소활성을 나타냈다.

摘 要

우리나라 중부이남에서 수집한 여러가지 표품으로부터 *Aspergillus* 601균주를 분리하여 그들의 dextrinogenic amylase와 glucoamylase 활성을 측정 비교하여 아밀라아제 생산우수균주를 선정하는 한편 효소의 활성과 균주의 계통 및 생태적 요인과의 상관관계를 조사하였다.

1. *A. flavus* 균종군과 *A. wentii* 균종군이 dextrinogenic amylase와 glucoamylase 활성에 있어서 다른 균종군보다 높은 활성을 나타냈다.
2. 서식기질에 따른 *Aspergillus*의 아밀라아제 활성은 메주와 곡물류에서 분리한 균주들이 높은 dextrinogenic amylase 활성을 나타냈다.
3. 지역 분포적에 따른 *Aspergillus* 균주의 효소활성은 남해안지방에서 분리한 균주들이 다른 지역에서 분리한 균주에 비하여 높은 dextrinogenic amylase 활성을 나타냈고 glucoamylase 활성에 있어서는 지역적 차이가 없었다.
4. 순수배양한 *Aspergillus* 601 균주중 균주번호 74와 균주번호 421은 dextrinogenic amylase와 glucoamylase 생성능에 있어서 가장 강력한 효소생산균주로 각각 선정되었다.

引 用 文 獻

1. Chung, K.T. and Yu, T. S., 1938. Effects of gibberellin on alpha- and beta- amylase activities of *Aspergillus oryzae*. *Kor. Jour. Microbiol.* 6(2), 68-74.
2. Goodmann, J. J., 1950. *Science*, 112, 176. in *Kor. Jour. Microbiol.* 6(3), 81-86(1968)
3. Han, M.H., 1975. *Kor. Food Sci.* 6 241. in *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 3(2), 101-107 (1975).
4. Kim, S.J., B.H. Lee and Y.W. Lee, 1971. A study on dextrinogenic amylase in the *Aspergillus niger* group. *Kor. Jour. Micro-*