

두유 응고효소 생산 곰팡이의 분리 및 동정

이철우 · 강창훈 · 하덕모*

동국대학교 공과대학 식품공학과

Isolation and Identification of the Fungi Producing a Soybean Milk Clotting Enzyme

Lee, Chul-Woo, Chang-Hoon Kang and Duk-Mo Ha*

Department of Food Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

Abstract— Twenty-five fungal strains producing an extracellular soybean milk clotting enzyme were isolated from 146 soil samples, and identified as 11 species belonging to six genera of *Aspergillus oryzae* (5 strains), *Aspergillus flavus* (2 strains), *Aspergillus parasiticus* (1 strain), *Aspergillus tamarii* (2 strains), *Aspergillus niger* (4 strains), *Aspergillus fumigatus* (2 strains), *Mucor hiemalis* (2 strains), *Wallemia sebi* (4 strains), *Scopulariopsis candida* (1 strain), *Fusarium redolens* (1 strain) and *Verticillium lecanii* (1 strain). Among them, *Aspergillus oryzae* 020 and *Aspergillus tamarii* 287 showed relatively high soybean milk clotting activity.

The coagulabilities of the enzyme from representative strains of those species decreased as the pH of soybean milk increased from 6.0 to 7.0. The optimum temperature for soybean milk clotting enzymes of those strains were 65°C.

서 론

두유를 이용하여 치즈와 유사한 새로운 식품을 제조하기 위한 연구(1-4)가 이루어지고 있으며, 두유의 curd 형성을 위해서는 두부 제조시와 같이 응고제로서 무기염류(Ca염, Mg염) 또는 δ -D-glucono lactone을 사용하는 방법 이외에 유기산을 직접 첨가하거나 발효에 의해서 생성되는 젖산으로 응고시키는 방법 등이 알려져 있으나, 근년에 이르러 두유가 ficin, bromelain 등의 단백질 분해효소에 의해서 응고된다는 것이 알려지게 되고(5-7), 젖산발효에 의해서 두유의 curd를 형성시킬 때 이들 효소를 첨가함으로써 응고시간이 단축되며 curd의 질도 향상된다는 보고(8)도 있다. 이와 같은 두유를 응고시키는 효소가 미생물에 의해서도 생성된다는 것이 Park 등(9)에

의해서 최초로 보고된데 이어서 Murata 등(10, 11)은 현재 산업적으로 생산되고 있는 각종 protease 중에서도 두유를 응고하는 종류가 있고 젖산발효에 의해서 curd를 형성시킬 때 첨가하는 두유응고효소로서는 subtilisin이나 bromelain보다 thermolysin이 적합하다는 것을 보고하고 있으며 저자 등도 전보(12, 13)에서 토양으로부터 두유응고효소를 생산하는 세균 17 균주를 분리, 동정하고 이들 분리균주 중 두유응고효소 생성능이 우수한 *Bacillus licheniformis* 192 균주를 이용한 두유응고효소 생산조건을 검토, 보고한 바 있다. 본 연구에서는 토양으로부터 두유응고효소를 생산하는 곰팡이 25 균주를 분리, 동정하고 이들 균주가 생산하는 두유응고효소의 활성, 작용최적온도 및 pH 등을 비교하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

Key words: Soymilk clotting enzyme, *A. oryzae*, *A. tamarii*

*Corresponding author

두유

전보(12)에서와 같이 미국산 대두(Yellow No. 1)를 침지, 마쇄한 다음 약 90°C에 가열, 여과하여 최종가수량 8~10배의 두유를 조제하여 다음 실험에 사용하였다.

두유응고효소 생산균주의 분리

전국 각 지역의 토양으로부터 두유응고효소를 생산하는 곰팡이 균주를 분리하였다. 분리방법은 전보(12)에서와 같이 Park 등(9)의 방법에 준하였다.

두유응고효소 생산균주의 1차 선별을 위하여 토양 시료로부터 Table 1의 A배지로 30°C에서 3일간 평판배양하여 순수분리하였다. 각 분리균주는 Table 1의 B배지에 이식하여 5°C에 보관하면서 다음 실험에 사용하였다. 1차 선별된 균주는 두유를 1M KH₂PO₄ 완충용액(pH 4.5)으로 pH 6.0에 조절하여 시험관에 10 ml씩 분주, 살균한 배지에 각각 접종하고 35°C에서 2일간 배양하여 두유배지를 응고시키게 되는 균주를 2차 선별하였다. 2차 선별된 각 균주의 두유응고효소 생성능을 확인, 비교하기 위하여 저자 등이 전보(13)에서 두유응고효소 생산용배지로 보고한 Table 1의 C배지를 50 ml씩 300 ml용 삼각플라스크에 분주, 살균하여 각 균주를 각각 접종하고 30°C에서 3일간 진탕배양(150 rpm)한 다음 배양액을 원심분리(11,000 ×g, 20분)하여 얻은 상정액을 효소액으로 하여 두유응고효소 활성을 측정하고 두유응고효소 생산균주를 최종적으로 선별하였다.

Table 1. Medium composition

| Components (g/l) | A | B | C |
|---------------------------------|------|------|-------|
| Soybean milk | 50.0 | | 20.0 |
| Dextrose | 2.0 | 10.0 | |
| Potato starch | | | 15.0 |
| Peptone | 2.0 | 2.0 | |
| Yeast extract | 2.0 | 1.0 | |
| Beef extract | | 1.0 | |
| Soybean meal extract* | | | 100.0 |
| KH ₂ PO ₄ | 2.0 | 10.0 | 6.0 |
| Agar | 13.0 | 15.0 | |
| pH | 6.1 | 5.6 | 6.1 |

A, medium for 1st screening; B, medium for preservation; C, medium for enzyme production.

*Defatted soybean meal was extracted with a 5-fold amount of 0.1 N NaOH at 95°C for 4 hours.

두유를 응고시키게 되는 균주의 배양액은 응고현상이 효소작용에 의한 것임을 확인하기 위하여 배양액을 100°C에서 10분간 가열하여 효소 활성의 실험 여부를 관찰하였다.

두유응고효소 활성의 측정

두유응고효소 활성은 전보(13)에서와 같이 Arima 등(14)의 방법에 준하여 측정하였다. 1M KH₂PO₄ 완충용액(pH 4.5)으로 pH 6.1에 조정된 두유 5 ml에 시험효소액 0.5 ml를 첨가하여 65°C에서 반응시켜 5 ml의 두유를 1분간에 응고시키는 효소량을 1두유응고단위로 나타내었다.

두유응고효소 생산균주의 동정

두유응고효소 생산균주는 Domsch 등(15), Raper 등(16) 및 기타(17-24)의 방법에 따라 형태학적 및 배양학적 특징을 조사하여 동정하였다.

두유응고효소 활성에 대한 pH 및 온도의 영향

분리균주 중 두유응고효소 생산능이 우수한 각 균종의 대표적인 균주의 배양액 상정액에 황산암모늄을 80% 포화시켜 얻은 침전을 소량의 물에 용해하여 20

Table 2. Soybean milk clotting enzyme production by the isolates

| Strain No. | Clotting activity* (unit/ml) | Strain No. | Clotting activity (unit/ml) |
|------------|------------------------------|------------|-----------------------------|
| 009 | 1.12 | 240 | 0.29 |
| 012 | 0.20 | 246 | 0.26 |
| 020 | 2.07 | 287 | 2.22 |
| 025 | 0.28 | 289 | 0.32 |
| 030 | 1.33 | 320 | 1.15 |
| 154 | 0.34 | 321 | 1.27 |
| 156 | 0.10 | 387 | 0.07 |
| 161 | 0.40 | 389 | 0.21 |
| 162 | 0.21 | 400 | 0.19 |
| 214 | 0.29 | 402 | 0.21 |
| 233 | 0.22 | 415 | 1.09 |
| 237 | 1.39 | 416 | 0.46 |
| 238 | 0.19 | | |

* One clotting activity unit was defined as the amount of enzyme that clotted 5 ml of soybean milk in 1 min. at 65°C.

배양의 0.04 M KH₂PO₄ 완충용액(pH 6.1)으로 투석한 것을 효소액으로하여 각 균주의 두유응고효소 활성에 대한 pH 및 온도의 영향을 비교하였다.

두유를 1 M KH₂PO₄으로 pH 6.0, 6.1, 6.4, 6.7 및 7.0의 각 단계로 조정하고 65°C에서 각각의 효소활성을 측정하여 pH의 영향을 비교하였으며, pH 5.9 이하에서는 효소의 첨가없이도 응고하게 되므로 효소활성의 측정, 비교는 불가능하였다. 또, pH 6.1으로 조정된 두유로 35, 45, 55, 65, 75 및 85°C의 각 온도에서 효소활성을 측정하여 온도의 영향을 비교하였다.

결과 및 고찰

두유응고효소 생산균주의 분리 및 그 효소 활성

146개의 토양시료로부터 최종적으로 두유응고효소 생산균주로 25균주가 분리되었다. 분리균주와 각 균주가 생산하는 두유응고효소 활성은 Table 2와 같으며 이들 중 287 및 020균주는 2.22 및 2.07 unit/ml의 비교적 높은 활성을 나타내었다.

균주의 동정

Table 3. Morphological and cultural characteristics of *Aspergillus* strains producing a soybean milk clotting enzyme

| Characteristics | Species and strain No. | | | | | |
|---------------------------------|--|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| | <i>A. oryzae</i> 009, 012, 020, 025, 030 | <i>A. flavus</i> 161, 162 | <i>A. parasiticus</i> 156 | <i>A. tamarii</i> 287, 289 | <i>A. niger</i> 233, 238, 240, 246 | <i>A. fumigatus</i> 320, 321 |
| Phialide and metula | | | | | | |
| Color | Green | Hyaline | Green | Brownish yellow | Brown | Green |
| Size (μm) | | | | | | |
| Phialides | 7-10 × 3-4 | 7.5-8.5 × 3.5-4.5 | 7-10 × 3-4 | 9-10 × 4 | 6-7.5 × 3-3.5 | 6-8 × 2-3 |
| Metulae | 8-10 × 4-5 | 6-10 × 4-5.5 | Absent | 12-15 × 4 | 18-25 × 4.5-5.5 | Absent |
| Conidial head | | | | | | |
| Shape | Radiate | Radiate | Radiate | Radiate | Radiate | Columnar |
| Color | Yellow-green | Yellow-green | Yellow-green | Olive-brown | Black | Greyish green |
| Size (μm) | 150-300 | 250-300 | 250-400 | 250-400 | 700-750 | 150-350 × 50 |
| Conidium | | | | | | |
| Shape | Subglobose | Subglobose | Subglobose | Subglobose | Globose | Subglobose |
| Wall character | Smooth | Rough | Rough | Rough | Rough | Rough |
| Color | Yellow-green | Yellow-green | Green | Olive-brown | Black | Greyish green |
| Size (μm) | 4.0-6.0 | 3.5-5 | 4.5-5 | 5.0-6.0 | 4.0-5.0 | 2.5-3.0 |
| Vesicle | | | | | | |
| Shape | Subglobose | Globose to subglobose | Globose | Subglobose | Globose | Flask |
| Fertile area | 3/4 | Whole to 3/4 | 3/4 | Whole | Whole | 1/2 |
| Diam. (μm) | 30-50 | 22.5-35 | 20-30 | 25-50 | 40-75 | 20-30 |
| Conidiophore | | | | | | |
| Length (μm) | 900-2,500 | 600-850 | 300-550 | 700-1,200 | 1,000-2,000 | 200-300 |
| Wall character | Rough | Rough | Smooth | Rough | Smooth | Smooth |
| Sclerotium | | | | | | |
| Shape | Globose | Globose | Not produced | Not produced | Not produced | Not produced |
| Color | Reddish brown | Reddish brown | | | | |
| Colonial color on Czapek's agar | Light brownish green | Yellow green | Greyish green | Brownish green | Black | Greyish green |

두유응고효소 생산균주의 형태학적 및 배양학적 특징은 Table 3~8과 같다.

두유응고효소 생산균주 중 009, 012, 020, 025, 030, 156, 161, 162, 233, 238, 240, 246, 287, 289, 320 및 321 균주는 격벽이 있고 유성생식기관을 볼 수 없으며 정낭과 phialide를 가지는 분생자두와 병축세포가 있는 *Aspergillus*속의 특징을 나타내었다.

이들 균주 중 009, 012, 020, 025, 030, 156, 161, 162, 287 및 289균주는 phialide외에 대부분 metula를 가진 분생자두가 황록색이고 전형적인 방사형이며 분생자병은 일반적으로 거칠어서 *A. flavus* group에 속하며 233, 238, 240 및 246균주는 phialide와 metula를 가지며 분자두가 특징적인 검은 색으로 *A. niger* group에 속하고, 320 및 321균주는 phialide뿐이며 metula가 없고 분생자두가 회록색의 원주모양으로 *A. fumigatus* group에 속하는 것으로 추정하였다.

A. flavus group의 균주 중 009, 012, 020, 및 025 균주는 phialide와 metula를 가지고 030균주는 phialide뿐이며 이들 균주는 모두 분생자가 활면이고 colony의 색은 옅은 갈녹색을 띠게 되어 *A. oryzae*에 대한 기재(15-19)와 잘 일치하였으며, phialide, 분생자두, 분생자, 정낭 및 분생자병의 크기에 있어서 009, 012 및 020균주는 같으나 이들 균주와 025 및 030 균주는 각각 차이를 나타내었다. 161 및 162균주는 phialide와 metula를 가지고 분생자에 가시가 있고 colony가 갈색으로 변하지 않으며, 156균주는 phialide뿐이고 분생자가 조면이며, 287 및 289균주는 phialide와 metula를 가지며 분생자가 조면이고 colony가 갈녹색이며 분생자두는 방사성으로 이들의 여러 특징은 각각 *A. flavus*, *A. parasiticus* 및 *A. tamarii*에 대한 기재(15, 16, 18, 19)와 잘 일치하였다.

A. niger group의 233, 238, 240 및 246균주는 분생자가 4~5 μm 크기의 조면, 구형이며 기타의 여러 특징도 *A. niger*에 대한 기재(15, 16, 18)와 잘 일치하였고, *A. fumigatus* group의 320 및 321균주는 폐자낭각이 없고 분생자병의 길이는 200~300 μm 로 짧으며 분생자는 조면의 플라스크형으로 여러 특징이 *A. fumigatus*에 대한 기재(15, 16, 18)와 일치하였다.

387 및 389균주는 균사에 격벽이 없으며 중축이 있고 가근, 포복지가 존재하지 않은 등 *Mucor*속의 특징을 나타내었고, 후막포자가 존재하지 않으며 포자낭 포자가 타원형이고, 포자낭의 크기가 100 μm

이하이며 포자낭병은 sympodio형으로 조금씩 분기하고 colony의 색이 흰색으로 그 특징이 *M. hiemalis*에 대한 기재(15, 17-19)와 잘 일치하였으며 두 균주는 포자낭포자, 중축 및 포자낭의 크기에 있어서 차이가 있었다.

400, 402, 415 및 416균주는 내진성이며, colony의 생육은 극히 느리고 작은 갈색의 colony를 형성하며

Table 4. Morphological and cultural characteristics of *Mucor hiemalis* strains* producing a soybean milk clotting enzyme

| | |
|-------------------------|-------------------|
| Sporangiospore | |
| Shape | Ellipsoidal |
| Wall character | Smooth |
| Size (μm) | 5.7×3.5 |
| Sporangiophore | |
| Branching | Slightly branched |
| Diam. (μm) | 10 |
| Columella | |
| Shape | Subglobose |
| Color | Hyaline |
| Diam. (μm) | 20-38 × 25-35 |
| Sporangium | |
| Shape | Globose |
| Color | Grey |
| Diam. (μm) | 55-75 |
| Colony | Light grey |

*Strains No.; 387, 389

Table 5. Morphological and cultural characteristics of *Walleimia sebi* strains* producing a soybean milk clotting enzyme

| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Conidium | |
| Shape | Cylindrical, subglobose |
| Wall character | Rough |
| Color | Pale brown |
| Diam. (μm) | 3.5-4.5 |
| Formation | Quartet by division |
| Conidiophore | |
| Shape | Cylindrical |
| Wall character | Smooth |
| Color | Pale brown |
| Colony on MEA** | |
| Growth | Slow |
| Color | Orange-brown |

*Strains No.; 400, 412, 415, 416

**MEA; malt extract agar

분열에 의해서 4개의 분생자(meristem arthrospore)를 형성하며 여러 특징이 *Wallemia sebi*에 대한 기재(15, 17, 19, 22)와 같았다.

154균주는 penicillus로부터 바닥이 평면인 구형의 annelospore를 형성하고 colony는 백색으로 여러 특징이 *Scopulariopsis candida*의 기재(15, 17-19, 22)와 같았고, 214균주는 colony가 크림색이고 macroconidia보다 많은 microconidia를 볼 수 있으며, macroconidia는 격벽이 있는 낫모양의 특징을 나타내고, 황토색의 균핵을 형성하는 등 *Fusarium redolens*의 기재(15, 17, 18, 22)와 잘 일치하였다.

237균주는 윤생상으로 분기한 긴 phialide위에 형성된 타원형의 분생자가 응집하여 구형을 나타내고 velvet상의 백색 colony를 형성하는 등 여러 특징이 *Verticillium lecanii*에 대한 기재(15, 17, 18, 22)와 같았다.

이상의 결과로부터 009, 012, 020, 025 및 030균주는 *Aspergillus oryzae*, 161 및 162균주는 *A. flavus*, 156균주는 *A. parasiticus*, 287 및 289균주는 *A. tamaris*, 233, 238, 240 및 246균주는 *A. niger*, 320 및 321균주는 *A. fumigatus*, 387 및 389균주는 *Mucor hiemalis*, 400, 402, 415 및 416균주는 *Wallemia sebi*, 154균주는

Table 6. Morphological and cultural characteristics of *Scopulariopsis candida* strain* producing a soybean milk clotting enzyme

| | |
|-------------------------|---------------------------------|
| Conidium | |
| Shape | Subglobose with a truncate base |
| Type | Annelospores |
| Wall character | Smooth |
| Size (µm) | 4.5-6 × 4-5 |
| Conidiophore | |
| Branching | Branched |
| Wall character | Smooth |
| Color | Hyaline |
| Colony on Czapek's agar | |
| Color | |
| obverse side | White |
| reverse side | Light brown |
| Appearance | Velvety to powdery |
| Colony on MEA** at 24°C | |
| Diam. in 7 days (mm) | 30 |

*Strains No.; 154

**MEA; malt extract agar

Scopulariopsis candida, 214균주는 *Fusarium redolens*, 237균주는 *Verticillium lecanii*로 각각 동정하였다.

Table 7. Morphological and cultural characteristics of *Fusarium redolens* strain* producing a soybean milk clotting enzyme

| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Macroconidium | |
| Shape | 3-septate falcate-shape |
| Color | Hyaline |
| Size | 25-30 × 4.0-5.0 |
| Microconidium | |
| Shape | Ellipsoidal |
| Color | Hyaline |
| Size | 10-15 × 3.0-4.0 |
| Chlamydospore | |
| Wall character | Smooth |
| Diam. (µm) | 8-13 |
| Sclerotium | |
| Shape | Globose |
| Color | Ochreous |
| Colony on Czapek's agar | |
| Color | |
| obverse side | Pale beige |
| reverse side | Ochreous |
| Appearance | Fasciculate |
| Diam. in 7 days (mm) | 58 |

*Strain No.; 217

Table 8. Morphological and cultural characteristics of *Verticillium lecanii* strain* producing a soybean milk clotting enzyme

| | |
|-------------------------|------------------------|
| Conidium | |
| Shape | Ellipsoidal |
| Color | Hyaline |
| Size | 3.5-7.0 × 2.0-2.9 |
| Phialide | |
| Shape | Long awl-shape, whorls |
| Color | Hyaline |
| Size (µm) | 20-30 × 2-3 |
| Colony on MEA** at 20°C | |
| Color | |
| obverse side | White |
| reverse side | Slightly yellow |
| Appearance | Cottony |
| Diam. in 7 days (mm) | 23 |

*Strain No.; 217

**MEA; malt extract agar

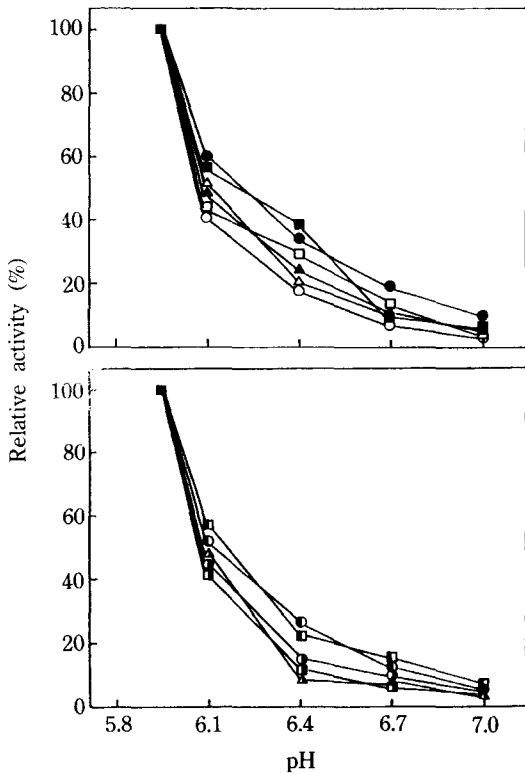


Fig. 1. Effect of pH on the activity of soybean milk clotting enzyme from isolates.

□, *Aspergillus oryzae* 020; ○, *A. flavus* 161; △, *A. parasiticus* 156, ●, *A. tamarisii* 287; ▲, *A. niger* 240; ■, *A. fumigatus* 287; ⊙, *Mucor hiemalis* 389; ▣, *Wallemia sebi* 415; ▤, *Scopulariopsis candida* 154; ⊕, *Fusarium redolens* 214; △, *Verticillium lecanii* 237.

두유응고효소 활성에 대한 pH 및 온도의 영향

각 균종의 대표적인 생산균 11균주의 두유응고효소 활성에 대한 pH 및 온도의 영향을 비교한 결과는 Fig. 1,2와 같다.

이들 균주의 효소 활성은 모두 pH 6.0 이상에서는 pH가 높아질 수록 크게 저하되는 경향을 나타내었고 Murata 등(10)의 각종 protease 제재에 대한 결과나 저자 등(12)의 *Bacillus pumilus* 및 *B. licheniformis*에 대한 결과와 같은 경향이었다.

각 균주의 두유응고효소 작용최적온도는 모두 65°C였으며 Murata 등(10)이 두유응고효소의 작용최적온도는 효소원에 따라 차이가 있는 것으로 보고하고 있으나 저자 등이 전보(12)에서 보고한 *Bacillus pumilus* 및 *B. licheniformis*의 응고효소와 같은 65°C의

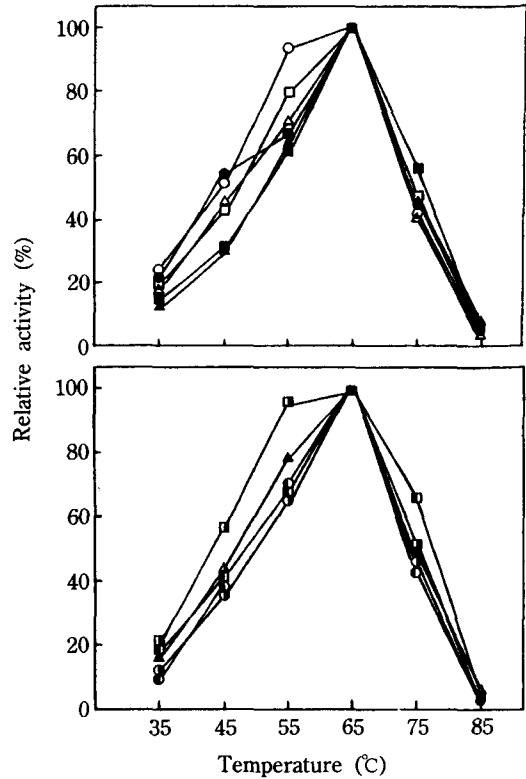


Fig. 2. Effect of temperature on the activity of soybean milk clotting enzyme from isolates.

The symbols are the same as those of Fig. 1.

최적온도를 나타내었다.

요 약

146개의 토양시료로부터 두유응고효소를 생산하는 사상균 25균주를 분리하였으며 이들 균주는 *Aspergillus oryzae*(5균주), *A. flavus*(2균주), *A. parasiticus*(1균주), *A. tamarisii*(2균주), *A. niger*(4균주), *A. fumigatus*(2균주), *Mucor hiemalis*(2균주), *Wallemia sebi*(4균주), *Scopulariopsis candida*(1균주), *Fusarium redolens*(1균주) 및 *Verticillium lecanii*(1균주)의 6속 11종으로 동정하였다. 이들 두유응고효소 생산균주 중 *Aspergillus oryzae* 020 및 *A. tamarisii* 287균주가 비교적 높은 효소활성을 나타내었다. 각 균종의 대표적인 생산균주의 효소활성은 pH 6.0~7.0의 범위에 있어서 pH가 높을 수록 저하되며 그 최적온도는 모두 65°C였다.

참고문헌

1. Hang, T.D. and H. Jackson: *Food Technol.*, **21**, 1033 (1967)
2. 福島男兒: 日本特許公告, 昭 **40**, 21228 (1965)
3. 川口 豊: 日本食品工業學會誌, **15**, 103 (1968)
4. 松岡博厚, 笹子謙治, 關口正勝: 日本食品工業學會誌, **15**, 103 (1968)
5. 伊藤 寛: 大豆開發, **30**, 9 (1975): 蛋白質の高度利用技術および資源の開發に關する研究, 日本農林水産技術會議事務局, 51 (1976)
6. Fuke, Y. and H. Matsuoka: *J. Food Sci.*, **43**, 312 (1984)
7. Mohri, M. and S. Matsushita: *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 486 (1984)
8. 福家洋子, 松岡博厚: 日本食品工業學會誌, **27**, 275 (1980)
9. Park, Y.W., I. Kusakabe, H. Kobayashi and K. Murakami: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3215 (1987)
10. Murata, K., I. Kusakabe, H. Kobayashi, M. Akaike, Y.W. Park and K. Murakami: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 385 (1987)
11. Murara, K., I. Kusakabe, H. Kobayashi, M. Akaike, Y.W. Park and K. Murakami: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **36**, 417 (1989)
12. 하덕모, 이철우: 産業微生物學會誌, **17**, 109 (1989)
13. 이철우, 하덕모: 産業微生物學會誌, **18**, 76 (1990)
14. Arima, K., S. Iwasaki and G. Tamura: *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 540 (1967)
15. Domsh, K.H. and W. Gams: *Compendium of Soil Fungi*, Academic Press, London, Vol. 1 (1980)
16. Raper, K.B. and D.I. Fennell: *The Genus Aspergillus*, Robert E. Krieger Publ. Co., New York (1973)
17. Samsons, R.A., E.S. Hoekstra and C.A.N. Van Oorschot: *Introduction to Food-Borne Fungi*, Centraalubureau Voor Schimmelcultures, Baarn (1981)
18. Fassatiova, O.: *Moulds and Filamentous Fungi in Technical Microbiology*, Amsterdam (1986)
19. Pitt, J.I. and A.D. Hocking: *Fungi and Food Spoilage*, Academic Press, Sydney (1985)
20. 宇田川峻一, 椿 啓介, 堀江義一, 三浦宏一郎, 箕浦之兵衛, 山奇幹夫, 横山龍夫, 渡辺昌平: 菌類圖鑑, 講談社サイエンティフィック, 東京, 上, 下 (1978)
21. 宇田川候一, 室井哲夫: カビの分離, 培養と同定, 醫齒薬出版株式會社, 東京, (1984)
22. Barnett, H.L. and B.B. Hunter: *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, Macmillan, New York, 4th ed., (1987)
23. Koneman, E.W., G.D. Roberts and S.F. Wright: *Practical Laboratory Mycology*, The Williams & Wilkins, Baltimore, 2nd ed., (1979)
24. 杉山純多: 醸酵と工業, **35**, 902 (1977)

(Received December 13, 1990)