

항세균성 항생물질을 생산하는 미생물의 분리, 동정 및 배양조건

유재홍* · 윤상홍 · 구본성 · 여윤수 · 박인철 · 이병무 · 류진창

농업과학기술원 생물자원부

요 약 : 식물에 세균성무름병(soft rot disease)과 검은반점병(blackleg)을 일으키는 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*의 생육을 저해하는 균주를 토양으로부터 분리하고, 그 중 항균 활성이 가장 좋은 균주를 선별하여 균주의 동정, 항생물질의 최적 생산조건 및 생산된 항생물질의 특성을 연구 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 분리 균주의 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성을 검토한 결과 *Bacillus* sp.로 판단되어 분리균주를 *Bacillus* sp. YR-1로 명명하였다. 항생물질 생산을 위한 최적 조건을 검토한 결과, sucrose 2.0%(w/v), peptone 2.0%(w/v), NaCl 0.1%(w/v), pH 7.0의 배지 35°C, 48시간 진탕배양 하였을 때, 항생물질의 생산성이 가장 좋았다.(1999년 5월 17일 접수, 1999년 7월 22일 수리)

Key words : *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, antibiotic.

서 론

식물에서 발병되는 세균성무름병(soft rot disease)은 한국에서 뿐 만 아니라 전 세계적으로 감자, 무우, 배추, 배론 등 주요한 작물에서 발병되어 연간 1,000 억원 이상의 경제적 손실을 유발한다고 보고되었다(Michel과 Arthur, 1980; 김 등, 1993; 이와 김, 1996). 세균성 무름병을 일으키는 세균들은 pectate lyase, cellulase 등을 생산하여 식물 세포의 1차 세포벽과 중층을 분해시켜 다른 병원균에 대한 식물의 저항성을 저하시키고 조직 팽창을 증가시켜 결과적으로 식물 조직의 연화, 부패를 유도시킨다고 보고되었는데 특히 pectate lyase가 가장 중요한 병원성 결정 요인으로 작용하고 있으며, 무름병을 유발하는 대부분의 세균들이 pectate lyase를 생산하는 것으로 알려져 있다(김 등, 1993; 이와 김, 1996).

세균성 무름병의 주요 원인균으로는 *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* 및 *Clostridium* 등이 있는데 (Rudd과 Dowson, 1950; Lund, 1979; Agrios, 1998), 특히 *E. carotovora* subsp. *carotovora*와 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*는 감자에서 무름병과 검은 반점을 유발하는 주 원인균으로 보고되었다(Jean 등, 1996; Stommel 등, 1996).

무름병과 검은 반점의 질병을 일으키는 *Erwinia* 속 세균들에 대한 방제 방법으로 streptomycin, kanamycin, agrimycin 등의 농용항생제가 이용되고

있다고 보고되었으나(김 등, 1993; 이와 김, 1996), *E. carotovora* subsp. *carotovora*와 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*에 대해 효과가 낮고, 생물계 방제약은 아직 연구가 초보단계에 머물러 무름병에 대한 특별한 방제책이 현재 구체적으로 마련된 것이 없는 실정에 있다(Lund, 1979; 김 등, 1993).

현재까지 재배 단계에서 무름병과 검은 반점의 질병을 일으키는 주요 세균인 *E. carotovora* subsp. *carotovora*와, 재배·운반·저장단계에서 발생하는 *E. carotovora* subsp. *atroseptica*에 의한 큰 피해가 보고된 바가 없어 이에 대한 연구와 대비책이 초보 단계에 머무르고 있는 실정이다(Michel과 Arthur, 1980; 김 등, 1993; 이와 김, 1996).

따라서 본 연구는 감자의 무름병과 검은 반점의 질병을 일으키는 주 원인균으로, 작물의 재배, 운반과정에서 뿐 만 아니라 저온저장 상태의 감자에도 질병을 유발하는 *E. carotovora* subsp. *carotovora*의 생육을 억제하는 미생물을 선별하여 동정을 행하였고, 항생물질의 최적 생산을 위한 배양조건을 검토하였다.

재료 및 방법

항생물질 생산균주의 분리

수원시 근교 토양으로부터 분리한 균주들을 NB 액체배지(meat extract 0.3%, peptone 0.5%)에 백금으로 1회 접종하고, 30°C에서 5일동안 진탕배양 하였다. 배양액을 12,000×g에서 20분간 원심분리한 후 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*를 피검균으로 사용하여

*연락처

paper disc method (Iwasa 등, 1971)로 배양 상징액의 항균활성을 측정하였다. 분리균 중에서 피검균에 대하여 가장 좋은 활성을 나타내는 균주를 선별하였다.

항생물질 생산균주의 동정

균주의 동정은 Bergey's manual of determinative bacteriology (Buchanan과 Gibbson, 1974), Microbiological methods(Collins와 Lyne, 1976), Manual of methods for general bacteriology (Gerhardt 등, 1981), Microbiology - a laboratory manual (Sneath 등, 1975), Bergey's manual of systematic bacteriology (Cappuccino와 Sherman, 1975) 및 식품공학실험(유 등, 1981)에 수록되어 있는 일반적인 세균동정법에 따라 행하였다.

항균활성의 측정

항균활성의 측정은 *E. carotovora* subsp. *carotovora*를 피검균으로 사용하여 cup method로 행하였다. NB 배지 15 mL를 멸균하여 45~50°C로 식힌 후, 여기에 피검균 현탁액 0.5 mL를 접종하여 30°C에서 48시간 배양한 후 증충하였다. 이와 같이 만든 평판 배지의 표면에 cup(6×8×10 mm)을 올려 놓고 분리균주의 배양 상징액을 넣어 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 형성된 생육 저지환의 직경을 측정하였다.

균체량의 측정

사면배양한 분리균주를 백금이로 1회 접종하고 30°C에서 진탕배양하였다. 배양액을 24시간 간격으로 취하여 12,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 균체를 증류수로 1회 세척하여 100~105°C에서 항량이 될 때까지 건조시킨 후, 무게를 측정하여 균체량을 측정하였다.

종균 배양

100 mL 삼각 플라스크에 NB 배지 20 mL를 첨가하고 사면 배양한 분리 균주를 백금이로 1회 접종한 후, 30°C에서 24시간 진탕배양한 균주를 본 실험의 종균으로 사용하였다.

항생물질의 생산 조건 검토

배양시간에 따른 영향을 검토하기 위하여 NB 배지 20 mL에 종균 배양액 1.0% (v/v)씩을 접종하고 진탕 배양하면서, 24시간 간격으로 6일간 배양액을 취하여 원심분리한 후 배양 상징액의 항균활성을 측정하였

고, 종균 배양액을 NB 배지 20 mL에 1.0% (v/v)되게 접종하고, 각각 온도 (20~40°C)를 달리하여 120시간 동안 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상징액의 항균활성을 측정하여 배양온도의 영향을 검토하였다.

또한 항생물질 생산을 위한 최적 pH를 검토하기 위하여 NB 배지의 pH를 4~10까지 조절하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상징액의 항균활성을 측정하였고, 탄소원에 따른 항생물질의 생산을 검토하기 위하여 기본배지에 각종의 탄소원을 1.0% (w/v)씩 첨가하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 48시간 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상징액의 항균활성을 측정하였다.

탄소원으로 sucrose 2.0%가 첨가된 기본배지에 각종의 유기질소원과 무기질소원을 각각 1.0% (w/v)씩 첨가하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 48시간 동안 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상징액의 항균활성을 측정하여, 질소원의 영향을 검토 하였다.

그리고 각종의 무기염류들을 탄소원 sucrose 2.0%, 질소원 peptone 2.0%가 첨가된 기본 배지에 각각 0.1% (w/v)씩 첨가하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여 35°C에서 48시간 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상징액의 항균활성을 측정하여 무기염류의 영향을 검토하였다.

항생물질의 발효

항생물질 생산 최적배지를 이용하여 35°C에서 120시간 진탕배양하여 pH의 변화, 생육 상태 및 항생물질의 생산량을 검토하였다.

결과 및 고찰

형태학적 특성

분리 균주는 표 1에서 나타난 바와 같이 단간균 형태이었고 Gram 양성이었으며 운동성이 있었다. 분리 균주의 전자현미경 사진은 그림 1과 같다.

배양학적 특성

분리 균주의 배양학적 특성을 살펴보면, nutrient 한천 평판배지에서의 colony 형태는 원형이었고, 색깔은 크림색이었으며, 표면은 광택이 나면서 매끄러운 상태였다. Nutrient 액체배지에서 균체의 생육은 좋았고 pellicle은 형성하지 않았으며 균체의 침전현상이 나타났다.

Table 1. Morphological characteristics of strain YR-1

Factor	Characteristic
Shape	Rod
Cell size	1.6 μ m \times 5.6 μ m
Motility	Motile
Flagella	Positive
Spore stain	Negative
Gram stain	Positive

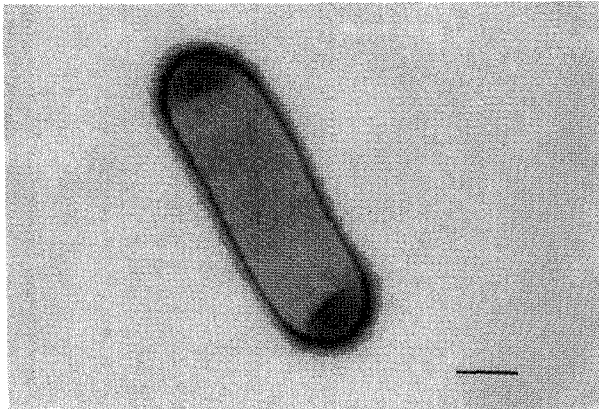


Fig. 1. Electron micrograph of YR-1.
 ※ Bar represents 1 μ m strain
 TEM : phosphotungstate negative staining

생리학적 특성

분리 균주의 생리학적 특성을 검토한 결과는 표 2와 같다. 생육온도 범위는 15 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ C 이었고, 생육 pH 범위는 pH 5~9이었다. 또한 염농도가 3% 까지 생육이 가능하였으며, catalase 양성 및 starch, casein, cellulose, esculin 분해능이 있었다.

이상과 같은 분리균주의 형태학적 특성, 배양학적 특성 및 생리학적 특성을 검토한 결과 *Bacillus* 속으로 판단되어 분리 균주를 *Bacillus* sp.YR-1로 명명하였다.

항생물질의 생산조건의 검토

Nutrient 액체배지에서 배양시간에 따른 *Bacillus* sp.YR-1 균주의 생육과 항생물질 생산을 검토한 결과는 그림 2와 같다. 균체의 생육은 1일 이후에서 정지기에 도달하였다. 이에 비하여 항생물질 생산은 균체의 정지기가 1일이 경과한 후인 2일에서 최대를 나타내었고 2일 이후에는 점차 감소하였다. 따라서 이후의 실험에서는 1일간 배양한 균체를 종균으로 사용하였으며, 항생물질 생산을 위한 배양은 2일동안 행하였다. 또한 배양온도에 따른 *Bacillus* sp. YR-1 균주

Table 2. Physiological characteristics of strain YR-1

Factor	Characteristic
Temperature range for growth	15~50 $^{\circ}$ C
pH range for growth	5~9
NaCl tolerance for growth	\leq 3%
Catalase	+
Oxidase	-
Urease	-
Lecithinase	-
Lipase (Tween 80 hydrolysis)	+
β -Galactosidase	+
Arginine dihydrolase	+
Phenylalanine deaminase	-
Hydrolysis of Starch	+
Casein	+
Cellulose	+
Esculin	+
Indole production	-
H ₂ S Production on TSI agar	+
Levan formation from sucrose	+
NH ₃ production from arginine	-
NH ₃ production from peptone	-
Gelatin liquefaction	-
Utilization of citrate	-
Methyl red test	+
Voges-Proskauer reaction	+
Nitrate reduction	+
Denitrification	+
Action on milk ; Coagulation	+
Peptonization	+
O-F test	Fermentation

의 생육과 항생물질 생산을 검토한 결과를 그림 3에 나타내었다. 이 결과 균체의 생육은 25 $^{\circ}$ C에서 가장 좋았으나 항생물질의 생산은 35 $^{\circ}$ C에서 최대가 되었다. 따라서 *Bacillus* sp. YR-1 균주의 생육과 항생물질 생산은 배양온도에 따라 다른 것을 알 수 있었다. 반면에 sorbistin 생산 균주의 생육과 항생물질 생산의 최적온도는 각각 37 $^{\circ}$ C와 28 $^{\circ}$ C로 보고된 바있다(Tomita 등, 1976).

그리고 항생물질 생산에 미치는 초기 pH의 영향을 그림 4에 나타내었다. 초기 pH를 4~10 까지 변화시키면서 항생물질 생산을 검토한 결과 pH 7에서 가장 좋았다. Chung 등(1985)은 aridicine 생산은 초기 pH 6.0에서 가장 좋았다고 보고하였다.

항생물질 생산에 미치는 각종 탄소원의 영향을 검

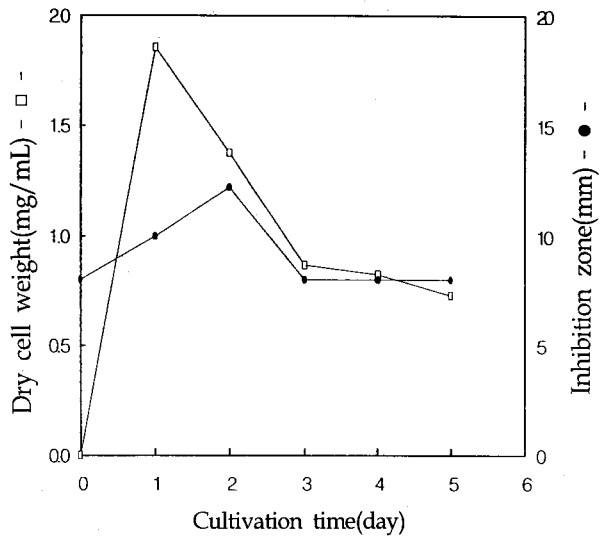


Fig. 2. Profiles of the cell growth and the antibiotic production against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

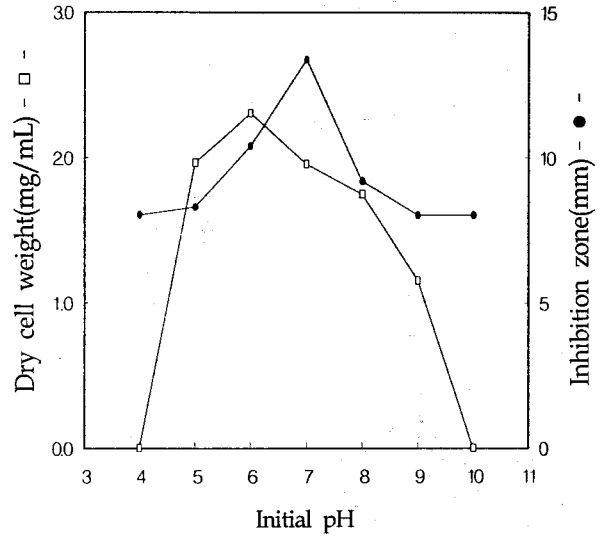


Fig. 4. Effect of initial pH on the cell growth and the antibiotic production.

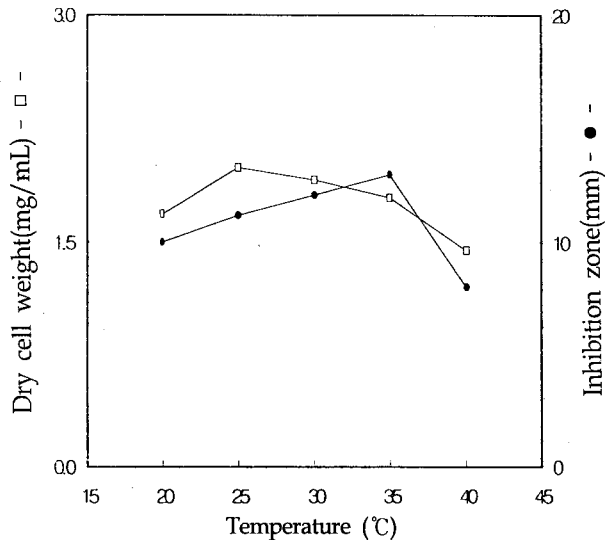


Fig. 3. Effect of temperature on the cell growth and the antibiotic production.

또한 결과 표 3과 같이 sucrose를 탄소원으로 사용하였을 때 생산이 가장 좋았다.

또한 항생물질 생산을 위한 sucrose 농도를 검토한 결과 그림 5에서 보는 바와 같이 sucrose의 농도를 2.0%(w/v) 첨가하였을 때 가장 좋았으며, 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 나타내었다.

한편 다른 *Bacillus* sp.가 생산하는 항생물질의 생산량을 살펴보았을 때 본 실험과 같은 경향을 나타내었다(Dabbs 등, 1995; Patel 등, 1995).

Table 3. Effect of carbon sources on the antibiotic production and growth by *Bacillus* sp. YR-1

Carbon source	Dry cell weight (mg/mL)	Inhibition zone size (mm)
Control	1.68	13.5
Arabinose	2.77	12.3
C.M.C	3.89	10.0
Dextrin	7.86	11.0
Fructose	1.41	10.4
Galactose	2.91	10.8
Glucose	2.97	14.4
Lactose	3.83	10.2
Maltose	2.53	11.2
Mannitol	2.82	12.0
Raffinose	3.58	11.2
Soluble starch	5.48	11.3
Sucrose	2.63	16.0
Xylose	2.42	11.5

각종 질소원에 따른 항생물질 생산을 검토한 결과를 표 4에 나타내었다. Peptone과 malt extract를 제외한 대부분의 유기질소원과 무기질소원들은 항생물질 생산에 효과가 없었으며 특히 무기질소원들을 사용하였을 경우 항생물질 생산이 현저하게 저하됨을 알수있었다. 유기질소원인 peptone을 사용한 결과 항생물질 생산에 가장 좋은 효과를 나타내었다.

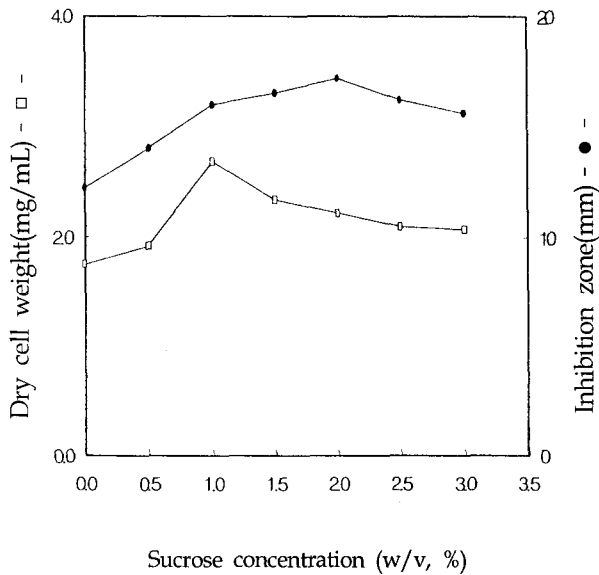


Fig. 5. Effect of sucrose concentration on the cell growth and the antibiotic production.

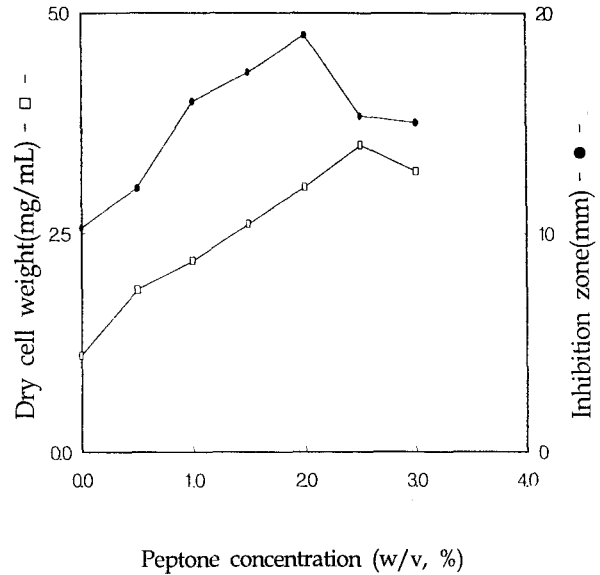


Fig. 6. Effect of peptone concentration on the cell growth and the antibiotic production.

Table 4. Effect of nitrogen sources on the antibiotic production and growth by *Bacillus* sp. YR-1

Nitrogen source	Dry cell weight (mg/mL)	Inhibition zone size (mm)
Control	2.12	16.2
Beef extract	5.30	11.1
Malt extract	1.30	17.0
Peptone	2.22	18.0
Tryptone	5.61	14.8
Soybean meal	6.51	13.3
Yeast extract	1.12	11.0
KNO ₃	0.71	11.0
NaNO ₂	0.67	11.0
NH ₄ Cl	0.70	11.0
NH ₃ CO ₂	0.65	10.0
NH ₄ NO ₃	1.01	11.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.80	12.2

분리 균주의 항생물질 생산을 위해 peptone의 농도를 변화시켜 비교한 결과 그림 6에 표시한 바와 같이 2.0%(w/v)를 첨가하였을 때 항생물질 생산이 가장 좋았으며 그 이상의 농도에서는 항생물질의 생산이 현저하게 낮아지는 경향을 나타내었다.

따라서 이 후의 실험에서는 배지의 질소원으로 peptone을 2.0%(w/v) 첨가하여 행하였다.

Sucrose 2.0%(w/v), peptone 2.0%(w/v)를 첨가한 배지에 각종의 무기염류를 달리하여 항생물질 생산에 미치는 영향을 검토한 결과 표 5에 나타난 바와 같이 NaCl이 생산성 향상에 가장 좋은 효과를 나타내었으며 대부분의 무기염류들에서는 생산이 현저하게 저해되었다. 항생물질 생산을 위한 NaCl의 농도별 영향을 검토한 결과 그림 7에 나타난 바와 같이 0.1% (w/v)에서 항생물질 생산이 가장 높게 나타났고 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향이 나타났다. 반면에 *Bacillus cereus*가 생산하는 azoxybacilin 항생물질의 생산성 향상을 위하여 무기염류로 NaCl 0.1%(w/v)를 사용하였다고 보고된 바 있다(Fujiu 등, 1994).

Table 5. Effect of the mineral source on the antibiotic production and growth by *Bacillus* sp. YR-1

Mineral source	Dry cell weight (mg/mL)	Inhibition zone size (mm)
Control	3.30	18.9
BaCl ₂ · 2H ₂ O	2.82	15.0
NaCl	4.05	20.0
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	1.15	16.0
KCl	3.85	14.5
CuSO ₄ · 7H ₂ O	6.35	10.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5.09	12.3
K ₂ HPO ₄	3.90	12.7
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1.14	11.0
CaCl ₂	6.21	14.4

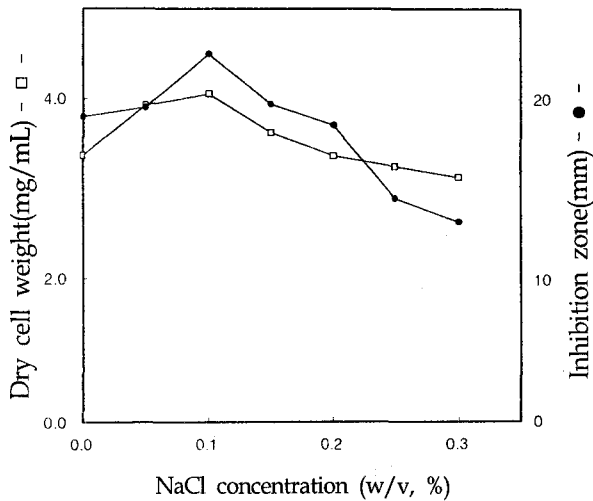


Fig. 7. Effect of NaCl concentration on the cell growth and the antibiotic production.

이상과 같이 배양조건을 검토한 결과 *Bacillus* sp.YR-1 균주의 항생물질 생산을 위한 최적조건을 살펴보면 sucrose 2.0%(w/v), peptone 2.0%(w/v), NaCl 0.1%(w.v) 및 pH 7.0의 배지를 사용하여 35°C에서 48시간 진탕배양하였을 때 항생물질의 생산성이 가장 좋게 나타났었다.

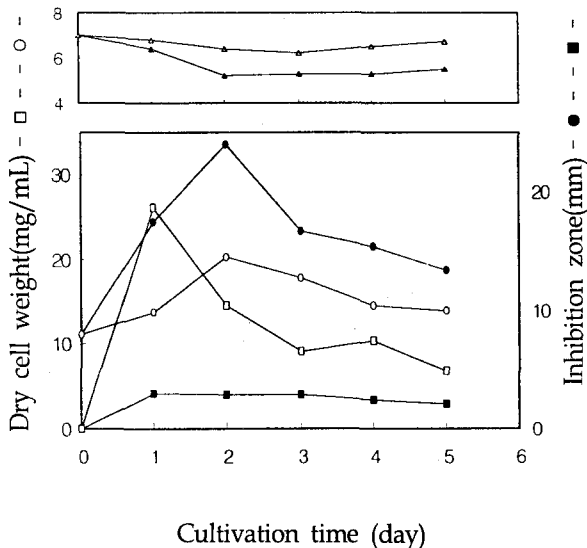


Fig. 8. Profiles of the cell growth and the antibiotic production against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Open : TSB medium. Black : Optimal medium.

항생물질의 발효 생산

그림 8에서는 *Bacillus* sp.YR-1 균주에 의한 항생물질의 생산을, tryptic soy broth(TSB)배지와 최적배지를 사용하여 비교 검토한 결과를 나타내었다.

최적배지를 사용하여 35°C에서 *Bacillus* sp. YR-1 균주를 배양하였을 때 균체의 생육은 배양시간 1일 이후에 정지기에 도달하였으며, 항생물질의 생산은 2일이 경과하였을 때 최대가 되었다. TSB 배지 그리고 최적 배지 모두에서 균체의 생육은 1일 이후에 정지기에 도달하였으며 항생물질의 생산도 모두 배양시간이 2일이 경과하였을 때 가장 좋았다. TSB배지보다 최적배지에서 약 2배 정도의 항생물질 생산성이 향상되었다. 이러한 결과로 볼 때 균체의 생육에 따른 항생물질의 생산은 균체의 생육과는 관계가 없는 경향을 나타내는 것을 알 수 있다.

인용문헌

Agrios, G. N. (1998) Plant pathology, 3rd., pp.552~558, p.803. Academic Press, San Diego.

Buchanan, R. E., and N. E. Gibbson (1974) Bergey's manual of determinative bacteriology, pp.529~550. 8th ed. Williams and Wilkins, Baltimore.

Cappuccino, J. G., and N. Sherman (1975) Microbiology a laboratory manual. Benjamin and Cummings, California.

Collins, C. H., and P. M. Lyne (1976) Microbiological methods, pp.169~180. Butterworths, London.

Chung, S. K., Y. K. OH, P. Taylor, R. Gerber, and L. J. Nisibet (1985) Biosynthetic studies of ardicin antibiotics. J. Antibiotics 39:652~659.

Dabbs, E. R., K. Yazawa, Y. Tanaka, Y. Mikami, and M. Miyaji (1995) Rifampicin inactivation by *Bacillus* species. J. Antibiotics 48:815~819.

Fujiu, M., S. Sawairi, H. Shimada, H. Takaya, Y. Aoki, T. Okuda, and K. Yokose (1994) Azoxybacilin, a novel antifungal agent produced by *Bacillus cereus* NR2991: production, isolation and structure elucidation. J. Antibiotics 47:833~835.

Gerhardt, P., R. G. E. Murry, R. N. Costilow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Krieg, and G. B. Phillips (1981) Manual of methods for general bacteriology, pp.410~441. American Society for

- Microbiology, Washington, D.C.
- Iwasa, T., E. Higashide, and M. Shibata (1971) Studies on validamycins, New antiotics III. Bioassay methods for the determination of validamycin. *J. Antibiotics* 26:114~118.
- Jean, G. P., M. Lacroix, D. Page, and L. Vezina (1996) Identification of *Erwinia carotovora* from soft rot diseased plants by random amplified polymorphic DNA(RAPD) analysis. *Plant disease* 80:494~499.
- Lund, B. M. (1979) Bacterial soft-rot of potatoes. In *Soc. Appl. Bacteriol. Tech. Ser. 12. Plant Pathogens*. D. W. Lovelock, and R. Davies, pp.14~49. Academic Press, London.
- Michel, C. M. P., and K. Arthur (1980) Ecology of the soft rot *Erwinia*. *Ann. Rev. Phytopathol* 18:361~87.
- Patel, P. S., S. Huang, S. Fisher, D. Pirnik, C. Aklonis, L. Dean, and E. Meyers (1995) Bacillaene, a novel inhibitor of procaryotic protein synthesis produced by *Bacillus subtilis*: Production, taxonomy, isolation, physico-chemical characterization and biological activity. *J. Antibiotics* 48:997~1003.
- Rudd, J. D., and W. J. Dowson (1950) On the bacteria responsible for soft rot in stored potatoes, and the reaction of the tuber to invasion by *Bacterium carotovorum*(Jones) Lehmann and Neumann. *Ann. Appl. Biol.* 37:563~569.
- Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Hot (1989) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Stommel, J. R., R. W. Goth, K. G. Haynes, and K. H. Seong (1996) Pepper(*Capsicum annum*) soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Plant Disease* 80:1109~1112.
- Tomita, K., H. Kawaguchi, T. Hoshiya, Y. Uenoyama, and H. Tsukiura (1976) Sorbistin, a new antibiotic complex of bacterial origin. *J. Antibiotics* 26:1147~1151.
- 김영철, 송동업, 조백호, 정갑채, 김기청 (1993) 식물 세균성 연부병균 *Erwinia carotovora* sp. *carotovora*의 Tn5 유발 약병원성 돌연변이주의 선발. *한국식물병리학회지* 9:63~69.
- 이영근, 김영희 (1996) *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*에 의한 매론의 세균성무름병 발생. *한국 식물병리학회지* 12:116~120.
- 유주현, 양응, 양한철, 정동호 (1981) *식품공학실험서 II*, pp.139~163. 탐구당.

Isolation, identification, and culture conditions of the strain producing antibacterial antibiotic

Jaehong Yoo*, Sanghong Yoon, Bonsung Koo, Yunsoo Yeo, Incheol Park, Byungmoo Lee, Jinchang Ryu(Dept. of Molecular Genetics, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea)

Abstract : The strain with antibacterial activity was isolated among soil samples collected in Suwon area. The isolated strain was identified as *Bacillus* sp. YR-1 with respect to its morphological, cultural, and physiological characteristics. Optimal medium for the highest production of antibiotic was composed of sucrose 2.0%(w/v), peptone 2.0%(w/v) and NaCl 0.1%(w/v). The maximum production of antibiotic was shown at 35°C for 48 hours with the initial pH 7.0.

*Corresponding author (Fax : +82-331-290-0392, E-mail : jhyoo@niast.go.kr)