

전통메주에 증식하는 붉은 곰팡이의 특성

이상원*** · 박석규* · 김홍출**

*한국전통발효식품연구소, **진주산업대학교 미생물공학과, ***순천대학교 식품영양학과

Characteristics of Red Mold Isolated from Traditional *Meju*

Sang-Won Lee***, Seok-Kyu Park**** and Hong-Chul Kim**

*Korea Fermented Food Research Institute, Sancheong 666-962, Korea

**Department of Microbiological Engineering, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea

***Department of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract

Red mold was isolated from *meju* prepared by traditional method and characterized. The isolated red mold grew well on potato dextrose agar medium. In microscopic observation, it had a septum in mycelium and ellipsoidal spore. Optimal temperature and pH for growth were 30°C and 6.0, respectively. Enzyme activities such as protease, α -amylase and glucoamylase in red mold were lower than those in *Aspergillus oryzae*. A competitive growth between red mold and *Asp. oryzae* was greatly affected by cultivation temperature. The growth of isolated red mold on *meju* was predominant at below 30°C as compared with *Asp. oryzae*.

Key words : *meju*, red mold, enzyme activity, *Aspergillus oryzae*, competitive growth

서론

전통된장, 간장, 청국장은 고추장 및 김치와 마찬가지로 우리 나라의 대표적인 발효식품으로서 항암성(1), 항산화성(2,3), ACE저해능(4) 및 혈전용해능(5)과 같은 생리적 기능이 우수한 것으로 꾸준히 보고되고 있어 소비자들의 관심이 증대되고 있다. 최근 전통 장류 업체에서도 기능성이 우수한 고품질 장류를 제조하기 위하여 전통 장류 제조공정의 개선 및 산업화에 많은 노력을 기울이고 있다. 이와 같은 전통 발효식품의 우수한 기능성은 발효에 관여하는 다양한 미생물의 복합작용에

의해서 나타나는 것으로 알려져 있다.

전통 장류 중에 분포되어 있는 여러 가지의 유용 미생물은 대부분이 메주로부터 유래되므로 메주는 고품질의 전통 장류를 제조하는데 있어서 가장 중요한 발효원(starter cake)이다. 일반적으로 메주에 존재하는 미생물로는 습기가 많고 산소농도가 낮은 메주내부에는 세균(6,7)이 증식하고, 건조하고 산소농도가 높은 메주표면은 *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp. 및 *Aspergillus* sp. 등(8,9)이 생육하고 있는 것으로 보고되고 있으나, 메주를 발효시키는 지역의 기온이나 각 가정의 제조법에 따라 메주에 분포되어 있는 미생물의 종류나 균수가 다르기 때문에 장류의 맛, 향 및 기능성 등이 차이가 있는 것으로 알려져 있다(10). 이러한 미생물들은 메주가 발효되는 동안에 증식하여 protease, amylase 및 lipase 등의 효소가 생성되고 이들이 대두의 단백질, 탄

Corresponding author : Seok-Kyu Park, Department of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea
E-mail : bestmeju@suncheon.ac.kr

수화물 및 지방질에 작용하여 펩타이드, 아미노산, 당분 및 향기성분 등이 생성되며 결국 장류의 품질에 영향을 준다(11-13). 이와 같이 메주의 품질은 장류 발효식품의 품질과 직결되기 때문에 좋은 장류 발효식품을 제조하기 위해서는 우수한 품질의 메주를 선택하는 것이 무엇보다도 중요하다.

그러나 각 가정에서 전통적인 방법으로 제조하고 있는 메주의 경우 자연발효에 의존하고 있기 때문에 메주의 표면에는 여러 가지 유용 곰팡이가 생육하고 있지만 불합리한 환경조건에서는 푸른 곰팡이 및 검은 곰팡이 등이 많이 증식하여 메주의 품질을 저하시키는 경우가 빈번하게 발생하고 있다. 따라서 각 가정이나 전통장류 업체에서는 유해 곰팡이 번식이 없는 균일한 고품질의 메주를 지속적으로 확보하는 것이 상당히 어려운 문제점으로 대두되고 있다. 본 연구자들은 메주를 대량으로 자연발효시키는 과정에서 푸른 곰팡이나 검은 곰팡이 뿐만 아니라 붉은 곰팡이가 부분적으로 자주 발생하는 것을 확인하였는데, 이들 붉은 곰팡이의 동정 및 메주와 장류의 최종 제품에 어떤 영향을 미치는가를 현재 검토 중에 있다.

본 연구에서는 전통적인 방법으로 메주를 대량 생산할 때, 포자 및 균사체 분해물이 공기중에 퍼짐으로 메주 전체에 빠르게 증식하는 붉은 곰팡이를 분리하여 최적 생육온도와 pH, 효소활성 및 황국균과의 생육경쟁을 조사하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 배지

공시균주로는 *Asp. oryzae* ATCC 14156과 한국전통 발효식품연구소에서 국산 대두(*Glycine max*)를 원료하여 12월 초순에 메주를 성형하여 저온건조(10°C, 3일)·황토방 발효(30°C, 7일)·자연 발효조건(45일)으로 제조된 전통메주에서 분리한 붉은 곰팡이를 사용하였고, 균주 분리를 위한 평판배지로는 potato dextrose agar (PDA; Difco Laboratories)에 triton X-100을 0.05% 농도로 첨가시켰으며, 생육조건을 검토를 위한 배지로는 PDB배지를 사용하였고, 생육 경쟁력 검토를 위한 콩배지는 경남 산청군 신안면에 소재한 한국전통발효식품연구소 직영농장에서 수확한 대두(태광, 2000년 수확)을 구입하여

침지, 수세 및 증자하여 사용하였다.

붉은 곰팡이의 분리

붉은 곰팡이가 번식한 메주 약 1 g를 tween 80이 함유된 멸균 생리식염수 10 mL가 들어 있는 소형시험관에 넣고 강하게 진탕하여 약 10분 동안 방치한 다음, 121°C에서 15분간 살균시켜 제조한 PDA평판배지에 균원 시료액 0.1 mL를 균일하게 도말한 후 30°C에서 3~4일간 배양한 후 균주의 성장 속도가 빠른 단일 콜로니를 선별하였다.

붉은 곰팡이의 생육조건

PDB배지에 분리균주의 포자를 8.0×10^5 spores/mL 접종하고, 20~45°C의 온도와 pH 4.5~7.0의 범위에서 배양한 후, 각 조건에서 배양한 배양액을 여과지로 여과하여 105°C 상압 건조법으로 건조 균체량을 측정하여 붉은 곰팡이의 생육조건을 비교하였다.

붉은 곰팡이와 황국균의 생육경쟁

150 g의 대두를 하루 밤 동안 냉수에 침지·수세하고 110°C에서 1시간 증자한 후 50°C정도까지 자연 냉각시킨 다음 플라스틱 통에 옮겨 으갠 후, *Asp. oryzae* 및 분리한 붉은 곰팡이의 포자를 8.0×10^5 spores/g 농도가 되도록 각각 첨가하여 잘 혼합하였다. 각각의 곰팡이 포자가 혼합된 대두를 일정비율(1 : 1)로 혼합하여 20~35°C의 여러 온도범위에서 5일간 정치 배양하면서 생육의 정도를 육안으로 관찰하여 생육 경쟁력을 판단하였다.

효소활성 측정

500 mL 삼각플라스크에 PDB배지 200 mL를 넣고 멸균한 다음 분리균주의 포자를 1.25×10^5 spores/mL 접종하여 30°C에서 배양하면서 24시간마다 일정량의 시료를 채취한 후 배양액을 8,000×g에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상청액을 조효소액으로 사용하였다.

Protease활성(14,15) 측정의 기질용액은 milk casein 1.8 g을 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.2) 300 mL에 용해하여 0.6% casein용액을 사용하였다. 기질용액 1 mL와 증류수 1 mL를 시험관에 넣고 항온수조에서 35°C로 도달시킨 후, 조효소액 1 mL를 가하여 35°C, 30분간 반응시킨 다음, 0.4 M trichloro acetic acid 3 mL를

가하고 35°C에서 30분간 방치하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 원심분리하여 얻은 상정액 2 mL에 0.5 M Na_2CO_3 5 mL와 Folin phenol 시약을 3배 희석한 1 mL를 가하여 35°C 항온수조에서 30분간 발색시킨 후 실온으로 냉각시킨 다음, UV/VIS spectrophotometer로서 660 nm에서 optical density를 측정하여 tyrosine ($\mu\text{g}/\text{mL}$)의 양으로 환산하여 protease활성을 나타내었다. Protease 1 unit는 조효소액 1 mL가 1분간에 1 μg 의 tyrosine을 생성하는 효소의 양으로 하였다.

α -amylase활성 측정(16)은 수용성 전분을 기질로 하여 다음과 같이 측정하였다. 조효소액 1 mL에 1% 수용성 전분을 함유한 0.1 M acetate buffer(pH 4.8) 10 mL를 가하여 30°C에서 10분간 반응시켰다. 그 후에 반응액 1 mL를 취한 후, 0.1 N HCl 10 mL를 가하여 반응을 정지시킨다. 그 반응액 0.5 mL에 0.005% iodine과 0.05% potassium iodine을 함유한 발색액 10 mL를 가한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. α -amylase 1 unit는 amylose-iodine complex의 blue color가 10% 감소되는 효소량으로 하였다.

Glucosylase의 활성측정(16)은 1% 수용성 전분을 함유한 0.05 M acetate buffer(pH 4.8) 5 mL에 동일한 완충액 2 mL를 가하고 30°C에서 수분간 보온하였다. 여기에 조효소액 1 mL를 가하고 30분간 반응시킨 후, 그 액 1 mL를 취하여 3,5-dinitrosalicylic acid법(17)에 따라 반응 전후 액 중 환원당의 양을 측정하고 양자의 차이로부터 효소반응에서 생성된 환원당의 양을 산출하였다. Glucosylase의 1 unit는 1분간에 1 μM 의 glucose를 생성하는 효소의 양으로 하였다.

결과 및 고찰

붉은 곰팡이의 분리

우리 나라의 전통된장 및 간장 등과 같은 대두 발효식품을 만드는 과정을 살펴보면 먼저 대두를 수세한 후 증자하여 메주를 만들어 장기간 자연 발효시킨 후, 소금물과 혼합하여 장류 발효식품을 제조하고 있다. 이 과정에서 메주의 품질은 장류 발효식품의 맛과 바로 직결되기 때문에 메주의 발효상태는 매우 중요한 것으로 생각된다. 그런데 본 연구자들은 메주의 발효과정 중에 메주의 표면에 붉은 곰팡이가 증식하는 것을 발견하고 메주

로부터 그 곰팡이를 분리한 다음, 그 형태를 전자현미경 및 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다.

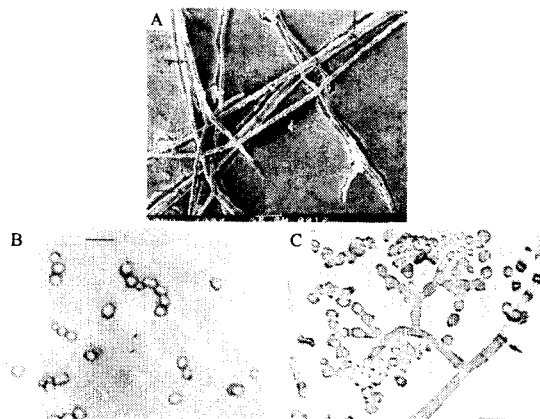


Fig. 1. Electro-micrograph(A) and light-micrographs(B, C) of red mold isolated from traditional meju. Arrow indicates a septum of mycelium.

전통메주의 발효 조건에서 직접 분리한 곰팡이의 균사 성장은 매우 왕성하였는데, 특히 외부의 기온이 30°C보다 낮을수록 메주에 서식하는 다른 곰팡이의 증식 속도보다 빠르게 나타났다. 곰팡이의 균사는 격막을 가지고 있었으며(Fig. 1-A, C의 화살표 부분), 붉은 색의 외생포자를 형성하였고, 그 형태는 타원형이었다. Cho 등(18)은 전국에서 수집한 메주로부터 한국 재래식 메주의 발효 미생물군을 조사한 결과 메주 내부에서는 곰팡이를 분리할 수 없었지만 메주표면에서 4속의 7종류 곰팡이를 분리한 것으로 보고하였는데, 본 연구에서 분리한 곰팡이도 메주의 내부에는 증식하지 않고 메주의 외부에만 증식하였다.

붉은 곰팡이의 생육조건 검토

메주에서 분리한 붉은 곰팡이의 최적 생육온도 및 pH를 검토하기 위해서 300 mL 삼각플라스크에 PDB 액체배지를 100 mL 첨가하고 붉은 곰팡이의 포자를 8.0×10^5 spores/mL 농도로 접종하여 여러 가지 배양조건에서 120시간 배양한 결과는 Fig. 2 및 Fig. 3과 같다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 배양온도를 20, 25, 30, 35, 40 및 45°C로 변화시켰을 때 20°C에서는 붉은 곰팡이의 생육이 약간 느렸지만, 35°C이상의 배양온도에서는 붉은 곰팡이의 생육이 매우 느려 건조 균체량이 급격하게 감소하였다. 그러나 25~35°C의 범위에서는 생육에 거

의 변화가 일어나지 않아 배양 120시간째에 약 6 g/L의 건조 균체량을 얻었다(Fig. 2). 따라서 이하의 실험은 최적 생육온도를 25~30°C에서 행하였다. Park(19)이 과실류에서 분리한 *Asp. niger*의 생육 최적온도가 27°C인 것과는 유사하지만, Kim(20)이 천연자원에서 분리한 *Asp. fumigatus* H 702 균주는 최적 온도가 50°C의 고온성으로 보고한 것과는 상당한 차이를 나타내었다.

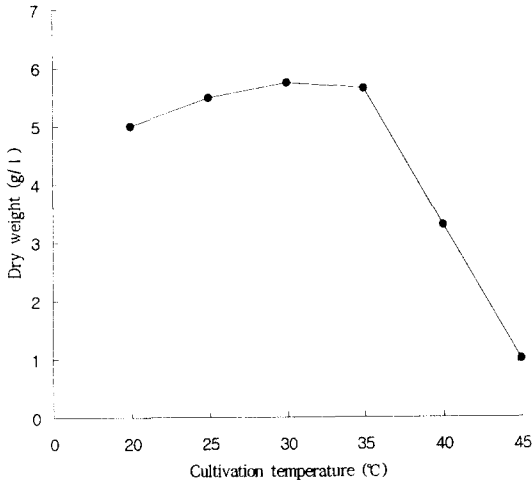


Fig. 2. Optimal temperature for the growth of red mold isolated from traditional meju.

한편, 배양온도를 30°C로 설정하고 배지의 pH를 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0으로 조절한 후, 최적생육온도의 검토 방법과 동일한 방법으로 최적 생육 pH를 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 pH 5.0 이하와 pH 6.5 이상에서는 배양액 중의 건조 균체량이 급격히 감소하여 pH 4.5에서는 3.1 g/L, pH 7.0에서는 3.9 g/L이었다. 그러나 pH 5.5-6.5에서는 균체량의 변화가 거의 없이 생육이 왕성하여 pH 6.0에서 5.8 g/L의 균체량을 얻었다. 이상의 결과로 본 연구에서 순수 분리한 붉은 곰팡이의 최적 생육온도 및 pH는 메주에 잘 번식하는 황국균의 곰팡이와 생육조건과 거의 일치함을 알 수 있었다. Kim 등(21)이 부엽토양으로부터 분리한 *Rhizopus oryzae*는 최적 생육온도가 30°C이고 최적 pH는 4.0으로 보고한 것에 비하여 pH가 약간 낮게 나타났다.

붉은 곰팡이의 효소활성

대두 발효식품에서는 단백질분해효소 및 전분분해효

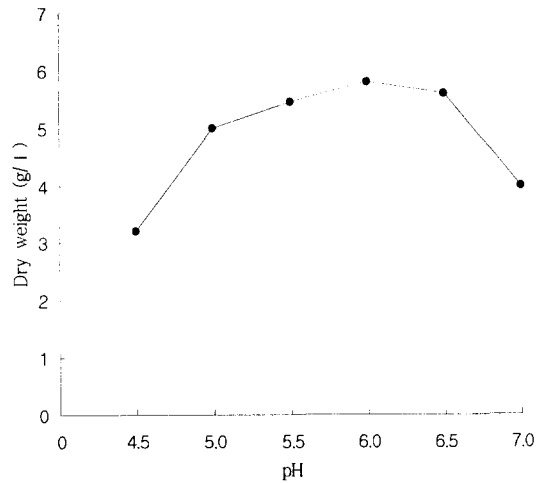


Fig. 3. Optimal pH for growth of red mold isolated from traditional meju.

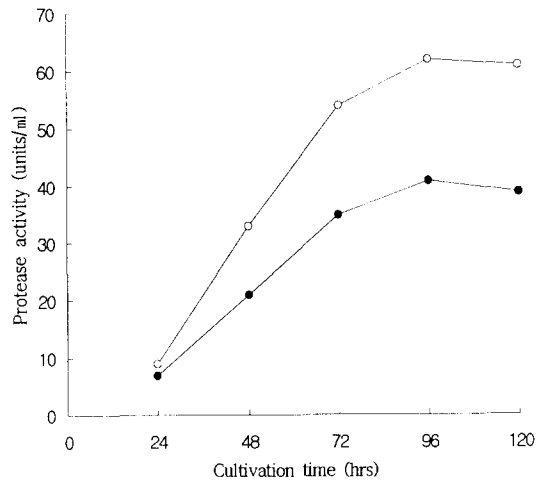


Fig. 4. Protease activity of *Asp. oryzae* (○) and red mold (●) isolated from traditional meju.

소가 중요한 작용을 하기 때문에 배지의 pH를 6.0으로 조절하고 생육조건을 검토하는 방법과 동일하게 배양한 후 효소활성을 측정 한 결과를 Fig. 4~6에 나타내었다. 대조구로는 *Asp. oryzae*의 곰팡이를 사용하였다. Fig. 4는 두 곰팡이의 protease의 활성을 비교한 것인데 배양 72시간까지 두 곰팡이 모두 protease의 활성이 급격하게 증가하여 배양 96시간째에 *Asp. oryzae*는 63 units/mL, 분리한 붉은 곰팡이는 39 units/mL의 활성을 나타내어 *Asp. oryzae*가 약 1.5배 이상 높았다. Chung 등(22)은 천

연자원으로부터 분리한 *Asp. awamori* U-3의 효소생산 시기를 조사한 결과, 72시간째에 protease 활성이 가장 높은 것으로 보고하였고, 또한 Lee와 Chung(23)의 *Asp. oryzae* KC-15와 Lim의 메주에 유래된 *Asp. wentii* 균주를 배양하였을 때 72시간째에 가장 높은 효소활성을 나타내는 것으로 보고하였다. 이는 본 연구의 결과보다 효소의 생산시기가 약간 빠르게 나타났다.

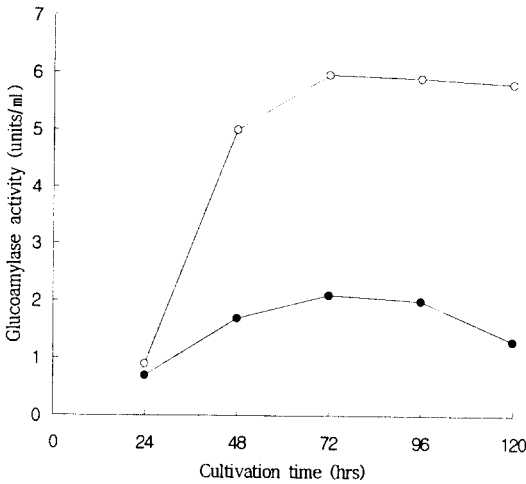


Fig. 5. Glucoamylase activity of *Asp. oryzae* (○) and red mold (●) isolated from traditional meju.

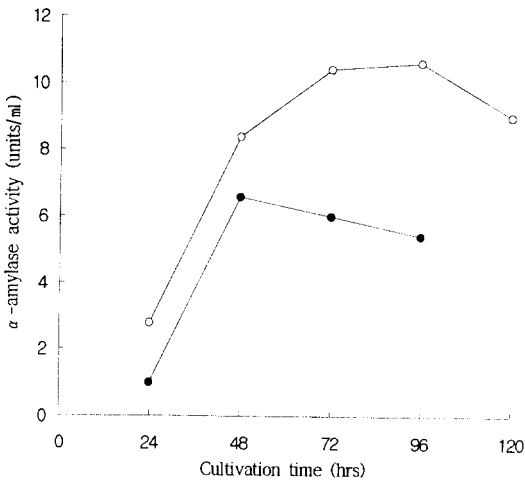


Fig. 6. α -Amylase activity of *Asp. oryzae* (○) and red mold (●) isolated from traditional meju.

중하여 배양한 후, 24시간마다 배양액중의 glucoamylase와 α -amylase 활성을 비교한 것인데, 분리한 붉은 곰팡이의 glucoamylase의 활성은 120시간의 배양기간 동안 거의 변화가 없었지만, *Asp. oryzae*는 배양 48시간까지 급격하게 증가하다가 배양 72시간째에 최대의 활성인 6.2 units/mL의 활성을 나타내어 분리한 붉은 곰팡이의 최대 활성보다 약 3배의 활성을 나타내다가 그 이후부터 천천히 감소함을 알 수 있었다(Fig. 5). 또한 α -amylase의 활성을 Fig. 6에 나타내었는데, 그림에서 보는 바와 같이 분리한 붉은 곰팡이는 배양초기의 48시간까지는 급격하게 증가하다가 그 이후는 천천히 감소하였고, *Asp. oryzae*는 분리한 붉은 곰팡이와 같이 배양 48시간까지는 급격하게 증가하였지만 그 이후에도 천천히 증가하여 배양 96시간째에 최대의 활성인 10.4 units/mL을 나타내었다. 이상의 결과로 보아 *Asp. oryzae*의 protease 및 amylase의 효소의 활성이 분리한 붉은 곰팡이의 효소 활성보다 훨씬 높게 나타났다. Lee 등(16)은 *Asp. awamori*와 *Zymomonas mobilis*의 고정화시스템에서 α -amylase와 glucoamylase 모두 배양 72시간째에 그리고 *Rhizopus sp.*와 *Z. mobilis*의 고정화시스템에서는 배양 120시간째에 가장 높은 효소활성을 얻었다는 보고와는 상이하였다.

황국균과의 생육경쟁

메주를 자연발효시킬 때 메주 전체에 빈번하게 발생하는 붉은 곰팡이의 생육력을 검토하기 위해서 대두를 침지하여 증자한 후 으깨어 만든 콩배지에 황국균과 붉은 곰팡이를 동시에 접종한 다음, 20, 25, 30, 35°C의 여러 온도 범위에서 배양하면서 두 미생물의 생육관계를 관찰한 결과는 Table 1과 같다. 그 중에서 Fig. 7은 30°C에서 배양된 결과이며, 전체적으로 보면 배양 온도가 높을수록 황국균의 생육력이 강하였고, 배양 온도가 낮을수록 분리한 붉은 곰팡이의 생육이 강하게 나타났다(결과 미제시). 특히 20°C 부근에서는 분리한 붉은 곰팡이의 생육이 훨씬 강하게 나타나 황국균은 거의 생육하지 못하였다. 이러한 결과를 미루어 볼 때 메주를 자연 발효시키는 시기인 늦가을에서 겨울철에는 분리한 붉은 곰팡이가 메주에 왕성하게 번식하기 쉬운 시기임을 알 수 있었고, 메주에 붉은 곰팡이가 번식하기 시작하면 황국균의 생육은 억제되는 것으로 추측된다.

Fig. 5와 6은 두 곰팡이의 포자를 PDB액체배지에 접

Table 1. Comparison of competitive growth between red mold and *Asp. oryzae* at various cultivation temperature

Temperature (°C)	Single Cultivation		Mixture Cultivation	
	Red Mold	<i>Asp. oryzae</i>	Red Mold	<i>Asp. oryzae</i>
20	++	+	++	±
25	++	++	++	+
30	+	+++	+	++
35	+	+++	±	+++

Growth of mold on cooked soybean paste for 5 days : +++ , very strong ; ++ , strong ; + , moderate ; ± , slightly

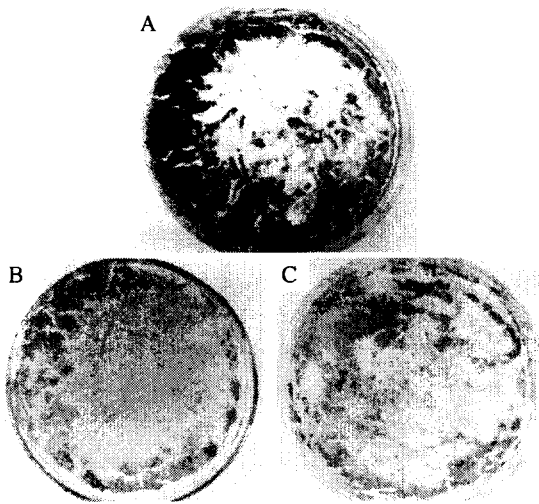


Fig. 7. Comparison of the competitive growth between red mold and *Asp. oryzae* on cooked soybean paste. The media inoculated with a single or two molds were cultivated at 30°C for 5 days.

A : red mold B : *Asp. oryzae*
C : red mold + *Asp. oryzae*

이상의 연구 결과로 미루어 볼 때 황국균보다 단백질 및 전분 분해력이 떨어지는 붉은 곰팡이가 메주에 번식하기 시작하면 메주에 서식하는 다른 미생물들의 생육이 상대적으로 억제되어 이후의 장류 발효식품 발효에도 영향이 미칠 것으로 생각되기 때문에 이 붉은 곰팡이의 생육을 억제하기 위해서는 메주의 발효 및 건조 온도(30°C) 유지가 중요한 것으로 생각된다.

요 약

전통적인 방법으로 메주를 대량 생산할 때 빈번하게 서식하는 붉은 곰팡이를 순수분리하여 그 특성을 검토

한 결과, PDA배지 상에서 생육이 왕성하였으며, 전자 및 광학현미경의 관찰결과 균사에 격막이 관찰되었고 포자의 형태는 타원형이었다. 붉은 곰팡이의 최적 생육 온도 및 pH는 각각 30°C와 pH 6.0부근이었다. 분리한 붉은 곰팡이의 protease, α -amylase 및 glucoamylase의 효소활성은 모두가 황국균 *Asp. oryzae* 보다 낮게 나타났다. 분리한 붉은 곰팡이와 황국균 사이의 생육경쟁은 배양 온도에 크게 영향을 받았는데, 배양온도가 30°C 이상에서는 황국균의 생육이 우세하였으나 30°C이하의 붉은 곰팡이의 생육이 우세하게 나타났다.

참고문헌

- Hong, S.S. (1994) Anticarcinogenic effect of traditional Korean soybean paste. *Food Technol.*, 7, 56-68
- Moon, G.S. and Cheigh, H.S. (1990) Separation and characteristics of antioxidative substances in fermented soybean sauce. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 22, 461-467
- Lee, J.H., Kim, M.H. and Im, S.S. (1991) Antioxidative materials in domestic *meju* and *doenjang*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 20, 148-155
- Shin, Z.I., Ahn, C.W., Nam, H.S., Lee, H.J., Lee, H.J. and Moon, T.H. (1995) Fractionation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 230-235
- Kim, S.H., Choi, N.S., Lee, W.Y., Lee, J.W. and Kim, D.H. (1998) Isolation of *Bacillus* strains secreting fibrinolytic enzymes from *doenjang*. *Kor. J. Microbiol.*, 34, 87-90
- Cho, D.H. and Lee, W.J. (1970) Microbiological studies of Korean native soy sauce fermentation. *Agri. Chem. Biotechnol.*, 13, 35-42
- Park, K.I. and Kim K.J. (1970) Studies on manufacturing of Korean soy sauce. Report of NIRI, 20, 89-98
- Park, K.J., Kim, Y.M., Lee, B.H. and Lee, B.K. (1977) Fungal microflora of home-made *meju*. *Kor. J. Mycol.*, 5, 7-12
- Hahn, Y.S. and Park, B.D. (1957) Studies on the

- manufacturing of soy sauce (1). *Report of NIRI*, 7, 51-55
10. Yoo, J.Y. and Kim, H.G. (1998) Characteristics of traditional meju of nation-wide collection. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 259-267
 11. Kim, H.S. and Lee, S.R. (1959) Biochemical change of soybean and barley koji during fermentation. *J. Seoul Nat. Univ.*, 9, 1-6
 12. Lee, S.S., Park, K.H., Choi, K.J. and Won, S.A. (1993) Studies on imperfecti fungi isolated from meju. *Kor. J. Mycol.*, 21, 247-253
 13. An, H.S., Bae, J.S. and Lee, T.S. (1987) Comparison of free amino acid, sugars and organic acid in soy bean paste prepared with various organisms. *J. Kor. Agri. Chem. Soc.*, 30, 345-350
 14. Hull, M.E. (1974) Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the practical hydrolysis of the proteins in milk. *J. Dairy Sci.*, 30, 881-884
 15. Anson, M.L. (1938) The estimation of pepsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.*, 22, 79-95
 16. Lee, S.W., Ebata, T., Liu, Y.C. and Tanaka, H. (1993) Co-immobilization of three strains of microorganism and its application in ethanol production from raw starch under unsterile condition. *J. Ferment. Bioeng.*, 75, 36-42
 17. Miller, G.L., Blum, R., Gkennon, M.E. and Burton, A.L. (1960) Measurement of carboxymethyl cellulase activity. *Anal. Biochem.*, 2, 127-132
 18. Cho, D.H. and Lee, W.J. (1970) Microbiological studies of Korean native soy sauce fermentation : A study on the microflora of fermented Korean maeju loaves. *J. Kor. Agri. Chem. Soc.*, 13, 35-42
 19. Park, S.K. (1983) Enzymatic saccharification of Citrus peel by *Aspergillus* sp. MS Thesis, Gyeongsang Nat. Univ., Chinju, p.10-11
 20. Kim, D.H. (1988) Cellulase production in a mutant resistant to catabolite repression of thermophilic *Aspergillus fumigatus* H 702. MS Thesis, Gyeongsang Nat. Univ., Chinju, p.14-16
 21. Kim, C.J., Oh, M.J. and Lee, J.S. (1985) Studies on digestion of raw starch by *Rhizopus oryzae*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 13, 329-337
 22. Chung, M.J. and Park, N.K. (1979) Studies on the proteolytic enzyme of mold. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 7, 157-164
 23. Lee, M.J. and Chung, M.J. (1980) Studies on the production of protease by *Aspergillus oryzae* KC-15 and characteristics of the enzyme. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 8, 77-85

(접수 2001년 4월 11일)