

액체배양에서의 양조용 곰팡이의 균체 생산 및 전분분해효소 활성

노종민^{1,2} · 최지호¹ · 정석태¹ · 여수환¹ · 박장우² · 이진원² · 최한석^{1,†}

¹국립농업과학원 발효식품과, ²한경대학교 식품생물공학

Mycelial Production and Amylase Activity of Fungi for Brewing in Different Submerged Culture Conditions

Jong-Min Noh^{1,2}, Ji-Ho Choi¹, Seok-Tae Jung¹, Soo-Hwan Yeo¹, Jang-Woo Park², Jin-Won Lee²
and Han-Seok Choi^{1,†}

¹Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-853, Korea,

²Dept. of Food and Biotechnology, Hankyong University, Ansong 456-749, Korea

Abstract

In this study, twelve strains of brewing fungi were individually cultivated on wheat extract broth (WEB), potato dextrose broth (PDB) and malt extract broth (MEB) in order to determine the microorganism with good culture characteristics as well as with amylolytic activity. The strain cultured in PDB exhibited mycelia production from 12.6 g/L (*Rhizopus oryzae* KACC 45714) to a maximum of 48.0 g/L (*Aspergillus oryzae* KACC 46959), which was 2.3~9.2 times lower than that of the strain cultured in WEB and 1.7~14.6 times lower than that of the strain cultured in MEB. According to the results, we found that the commercial strains of *A. oryzae* Suwon, CF1001 and CF1003 had a higher dry cell mass than the wild-type strains KACC 46421, 46423, 46424 and 46959. For *Rhizopus* sp., the acidity levels in WEB, PDB and MEB were 0.12~0.47%, 0.22~1.0% and 0.16~0.68% (equivalent lactic acid concentration) respectively. For *A. oryzae*, the acidity levels were 0.06~0.11%, 0.03~0.04% and 0.06~0.08% (equivalent lactic acid concentration), respectively. Amylase enzyme from *Rhizopus delemar* KACC 46419 exhibited an enzyme activity of 0.013 U and 0.019 U in WEB and MEB cultures, respectively. The enzyme activity of the amylase enzyme from *A. oryzae* was 0.019~0.037, 0.017~0.033 and 0.028~0.046 U in WEB, PDB and MEB cultures, respectively.

Key words : Amylolytic activity, submerged culture condition, mycelial production, fungi.

서 론

술의 제조는 전분을 당화시켜서 당을 생성한 뒤 이를 효모가 이용하는 복발효와 과일에 당을 첨가한 것을 효모가 이용하여 에탄올을 생성하는 단발효, 두 가지의 제조방식이 있다(Jung DH 1983). 그 중 우리나라 전통 주류인 막걸리는 전분이 주성분인 곡류에 물과 누룩을 넣어 전분분해와 알코올 발효가 동시에 일어나는 병행복 발효이다(Shin DH 2010). 누룩에는 많은 미생물이 있어 막걸리에 다양한 맛과 향기 성분들을 만들어 내고, 원료와 조화를 이루게 되어 전체적인 향미를 부여한다(So & Lee 1996). 누룩은 제조 방식에 따라 자연 발효를 통해 만들어지는 재래식 누룩과 살균 및 증자한 전분질 원료에 양조용 미생물을 배양하여 만드는 개량식 누룩으로 분류된다(Park & Lee 2002). 우리나라의 전통 누룩은 거칠게 빻은 낱밀에 물을 넣어 성형한 것을 자연발효시킨 것이

다(So MH 1999). 전통 누룩에는 *Aspergillus* sp.를 사용하는 일본의 입국과 달리 *Rhizopus* sp.가 많이 분포하고 있어 효소 활성 및 유기산, 알코올 발효 등에 차이가 있으며, 막걸리의 휘발성 풍미 성분과 맛, 색상 등의 큰 영향을 미친다(Seo et al 2012, Cho et al 2012). 그러나 누룩은 산업적으로 사용하기에는 많은 어려움이 따르는데, 누룩에 유용 미생물뿐만 아니라, 누룩의 변패를 일으키는 잡균도 같이 착생되기 때문이다(Choi et al 2012). 이러한 이유로 순수 균을 배양하는 입국의 방법을 사용하지만, 그마저도 초기 시설비용이 많이 들어가는 이유로 사용에 어려움을 겪고 있다. 그러나 액체배양은 단시간 내에 균체를 대량 생산할 수 있으며, 특정 유용성분을 저비용으로 생산할 수 있는 장점이 있다(Park et al 2008). 일부에서는 고체 종균을 이용하기 보다는 잡균의 오염이 적고, 효소 활성이 높은 액체 종균의 자동화 시스템을 도입하고자 하는 시도도 있다(Hong et al 2001). 하지만 액체 종균은 이러한 장점에도 불구하고, 균체 배양조건, 효소 활성 최적화 조건 등의 연구가 부족하여 산업에 적용되지 못하고 있다.

[†] Corresponding author : Han-Seok Choi, Tel : +82-31-299-0568, Fax : +82-31-299-0554, E-mail : coldstone@korea.kr

따라서 본 연구는 국립농업과학원 발효식품과의 보관 균주와 현재 상업용으로 이용하고 있는 균주 12종을 밀기울(wheat extract broth, WEB), PDB(potato dextrose broth, PDB), 맥아즙(malt extract broth, MEB) 배지에 배양하고, 미생물별 액체국의 배양특성 및 효소 활성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

1. 균주

국립농업과학원 발효식품과에서 보관 중인 aflatoxin 비생성균주 8종 및 상업용 미생물 4종, 총 12종을 대상으로 하였으며, 균주는 Table 1에 나타내었다. 균주는 사용 전에 PDA(Difco™, BD Co., Nevada, USA) 배지에서 활성화시킨 후 이용하였다.

2. 미생물 배양

WEB(wheat extract broth) 배지는 밀기울을 분쇄하여 20-mesh seive를 통과시킨 후, 밀기울 400 g에 물 2 L를 붓고 60°C에서 6시간 동안 추출한 다음 80-mesh sieve로 여과하여 제조하였다. MEB(malt extract broth) 배지는 엿기름 500 g에 물 2 L를 넣고 60°C에서 6시간 동안 당화를 시켜 식힌 다음 80-mesh sieve를 통과시켜 여과하고, 물을 첨가하여 당도를 11 °Brix로 조절하여 사용하였다. PDB(potato dextrose broth)

배지는 Difco™(BD Co., Nevada, USA)의 제품을 사용하였다.

삼각플라스크에 각각의 배지를 100 mL씩 분주하고, 살균한 다음 활성화된 균을 직경 7.5 mm로 잘라 넣고, shaking incubator(DS-310RL, Dasol Scientific Co., Ltd., Korea) 안에서 28°C, 150 rpm으로 7일간 배양하였다.

3. 배양물의 특성

배지에서 증식된 미생물 배양액을 원심분리(4°C, 12,000 × g, 30 min)하고, 여과(filter paper No. 5, Advantec Co., Japan)하여 균체와 배양액을 분리하였다. 균체는 105°C(DS-80-1, Dasol Scientific Co., Korea)에서 24시간 동안 건조하여 건조중량을 측정하였고, 배양액은 pH, 산도, 효소 활성측정에 이용되었다. pH는 pH meter(Orion 3 star, Termo Scientific Co., Singapore)를 이용하여 측정하였다. 산도는 배양액 10 mL를 중화시키는데 필요한 0.1 N NaOH의 양으로 주류분석 규정(주류분석규정 2009)에 준하여 측정하였다. 효소 활성 측정을 위해 starch plate를 사용하였다. Starch plate는 증류수 50 mL에 1.2%의 agar와 0.5% soluble starch를 첨가하고, 수욕 상에서 녹인 다음 glass plate(18 cm × 16 cm × 3 mm)에 채워 굳힌 후, 직경이 6 mm 되도록 구멍을 뚫어 plate를 제작하였다. 각각의 배양액 10 µL를 plate에 점적하고, 25°C에서 24시간 동안 반응시킨 다음 clear zone의 직경을 측정하였다. 효소 활성은 표준품 α-Amylase(from *Aspergillus oryzae*, Sigma-Aldrich Co., Switzerland) 0.03 U가 분해시키는 starch plate의 직경을 측정하여 상대적인 활성으로 표현하였다.

Table 1. The list of microorganisms used in this study

No.	Strains	Sources
1	<i>R. delemar</i> KACC 46419	RDA ¹⁾
2	<i>R. oryzae</i> KACC 45714	RDA
3	<i>R. oryzae</i> KACC 46418	RDA
4	<i>A. oryzae</i> KACC 44967	NRIB ²⁾
5	<i>A. oryzae</i> Suwon ³⁾	Commercial
6	<i>A. oryzae</i> Chungmu ⁴⁾ CF1001	Commercial
7	<i>A. oryzae</i> Chungmu CF1003	Commercial
8	<i>A. oryzae</i> KACC 46421	RDA
9	<i>A. oryzae</i> KACC 46423	RDA
10	<i>A. oryzae</i> KACC 46424	RDA
11	<i>A. oryzae</i> KACC 46959	RDA
12	<i>A. acidus</i> KACC 46420	RDA

¹⁾ Rural Development Administration (Suwon, Korea).

²⁾ National Research Institute of Brewing (Hiroshima, Japan).

³⁾ Suwon-jongkuk Co.(Suwon, Korea).

⁴⁾ Chungmu-balhyo Co.(Ulsan, Korea).

4. 통계처리

실험에서 얻어진 결과의 통계적 유의성은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, Version 18.0) program을 이용하여 평균 ± 표준편차로 표시하였고, one-way ANOVA test 후에 Duncan's multiple range test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 각 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 배지별 건조 균체량

배지별 배양 특성을 알아보기 위하여 WEB, MEB, PDB 배지에 미생물을 배양하고, 건조 균체량을 측정한 결과(Table 2), 균체 성장은 배지에 따라 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. PDB 배지에서의 균체 생산량은 1.26(*R. oryzae* KACC 45741)~4.80(*A. oryzae* KACC 46959) g/100 mL로 WEB 배지보다 2.3~9.2배, MEB 배지보다 1.7~14.6배 낮은 균체 생산성을 나타내었다. 이 중 *A. oryzae* KACC 46959 균주가 WEB 및 MEB 배지에 대한 균체량의 차이가 비교적 적었고,

Table 2. Effect of media on mycelial production in submerged culture condition

No.	Strains	Dry cell weight (g/100 mL)		
		WEB	PDB	MEB
1	<i>R. delemere</i> KACC 46419	11.87±1.87 ^{fg1)}	3.33±2.33 ^{abc}	16.35±0.61 ^{ab}
2	<i>R. oryzae</i> KACC 45714	11.11±0.17 ^g	1.26±0.20 ^f	9.82±0.49 ^{cde}
3	<i>R. oryzae</i> KACC 45418	12.75±0.12 ^{def}	1.42±0.19 ^{ef}	7.44±0.53 ^e
4	<i>A. oryzae</i> KACC 44967	12.07±0.18 ^{efg}	1.93±0.21 ^{cdef}	8.25±0.01 ^{de}
5	<i>A. oryzae</i> Suwon	14.15±1.02 ^{bcd}	1.54±0.26 ^{def}	22.46±2.80 ^a
6	<i>A. oryzae</i> CF1001	15.52±0.25 ^{ab}	3.15±0.08 ^{abcde}	7.79±1.21 ^{de}
7	<i>A. oryzae</i> CF1003	15.87±0.26 ^a	3.36±0.26 ^{abc}	12.15±0.40 ^{bcd}
8	<i>A. oryzae</i> KACC 46421	13.56±0.3 ^{cde}	3.24±0.25 ^{abcd}	11.89±4.29 ^{bcd}
9	<i>A. oryzae</i> KACC 46423	14.79±0.25 ^{abc}	3.79±0.25 ^{ab}	11.06±0.99 ^{cde}
10	<i>A. oryzae</i> KACC 46424	12.75±1.98 ^{def}	2.62±0.11 ^{bcdef}	13.57±3.30 ^{bc}
11	<i>A. oryzae</i> KACC 46959	10.90±0.98 ^g	4.80±2.64 ^a	8.16±0.01 ^{de}
12	<i>A. acidus</i> KACC 46420	13.37±0.35 ^{cdef}	1.69±0.11 ^{cdef}	19.61±3.53 ^a

¹⁾ Means±S.D. (n=3), Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

A. oryzae Suwon 균주가 가장 높은 차이가 나타나는 것으로 조사되었다. 이 외에 *Rhizopus* sp.와 *A. oryzae*는 WEB 배지에서 10.90~15.87 g/100 mL로 비교적 높은 균체 생산성을 보였고, *A. acidus*는 MEB 배지에서 19.61 g/100 mL로 다른 배지에 비하여 균체량이 높았다. 산업적으로 이용이 많은 *Rhizopus* sp.와 *A. oryzae*의 균체량을 비교해 보면 *Rhizopus* sp.는 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 11.11~12.75, 1.26~3.33, 7.44~16.35 g/100 mL로 *A. oryzae*의 각각의 균체량 10.90~15.87, 1.93~4.80, 7.79~22.56 g/100 mL보다 낮게 나타났다. 이러한 결과는 과학기술부(1998)의 연구에서 *Rhizopus* sp.의 균체 생성량이 *A. oryzae*보다 낮다는 결과와 유사하였다.

한편, 양조용 균주로 광범위하게 사용되고 있는 *A. oryzae*의 경우, 상업적으로 판매되는 균주인 Suwon, CF1001, CF1003 균주들이 야생균주인 KACC 46421, KACC 46423, KACC 46424, KACC 46959보다 대체적으로 높은 균체 생산을 보였는데, 이는 상업용 균주는 수십 년 동안 양조에 이용되면서 다양한 환경 변화에 적응된 결과로 추측된다. 또한, 일본 균주와 국내 균주를 비교해 보면, 일본 균주인 KACC 44967보다 국내 보유 균주들이 다소 높은 균체 생산량을 보였다. 배지 종류별로 WEB 배지가 KACC 46959를 제외한 다른 균주에서 1.1(KACC 46421)~1.3배(CF1001) 높았고, PDB 배지에서는 Suwon 균주를 제외한 균주들이 1.4(KACC 46424)~2.5배(KACC 46959), MEB 배지에서는 KACC 46959, CF1001 이외의 균주들이 1.3(KACC 46423)~2.7배(Suwon) 높은 균

체량을 생산하는 것으로 조사되었다.

2. 배지별 pH 및 산도

배지의 종류에 따른 pH 및 산도의 변화를 Table 3에 나타내었다. 균종별 pH는 *Rhizopus* sp.가 WEB에서 3.76~5.24, PDB에서 2.65~3.04, MEB에서 2.97~3.41이었으며, 각각의 산도는 1.29~5.17, 2.41~11.13, 1.78~7.55로 lactic acid 함량으로 환산하면 각각 0.12~0.47%, 0.22~1.0%, 0.16~0.68%에 상당하는 양이다. 이는 Table 2의 균체량의 결과와 상반되는 결과로 균체의 증식이 가장 높았던 WEB 배지에서 산도가 가장 낮게 나타났고, 균체량이 가장 낮았던 PDB 배지에서 산도가 가장 높게 나타났다. *Rhizopus* sp.는 lactic acid 및 fumaric acid를 다량 생성하는데(Liao *et al* 2007, So & Lee 2010), 대략적으로 15%의 밀기울 첨가 시 2.4%의 산을 생성하는 것으로 알려져 있다(Choi *et al* 2012). 양조에 있어 술덧의 산 함량은 매우 중요한 요소로 발효 초기 잡균의 번식을 억제시켜 안전한 양조를 할 수 있게 도와주며, 최종 제품에 신맛을 부여하고, 알코올류와 에스테르 결합을 통하여 향미를 부여해 주기 때문에(Lee *et al* 1996), 인위적으로 lactic acid를 첨가해서 발효하기도 한다(Huh *et al* 2012). Table 2와 3의 결과로부터 *Rhizopus* sp.의 경우 배지의 영양 상태에 따라서 산 생성에 크게 차이가 있었고, 배지의 영양 상태가 비교적 좋지 않을 때 산 생성이 높을 것으로 유추될 수 있다. 결국 균체의 증식도 높이고, 산 생성량도 증가시키기 위해서는 다양한 환

Table 3. Effect of media on pH and acidity in submerged culture condition

No.	Strains	pH			Acidity (0.1 N NaOH mL/10 mL)		
		WEB	PDB	MEB	WEB	PDB	MEB
1	<i>R. delemere</i> KACC 46419	5.24±0.30 ^{abcd1)}	3.04±0.04 ^d	3.41±0.01 ^c	1.29±0.33 ^{de}	2.41±0.09 ^b	1.78±0.32 ^c
2	<i>R. oryzae</i> KACC 45714	3.76±0.06 ^g	2.65±0.16 ^e	2.93±0.13 ^d	5.17±0.49 ^a	10.43±1.24 ^a	5.37±0.42 ^b
3	<i>R. oryzae</i> KACC 45418	4.15±0.05 ^{fg}	2.69±0.05 ^e	2.97±0.04 ^d	2.65±0.27 ^b	11.13±1.34 ^a	7.55±0.35 ^a
4	<i>A. oryzae</i> KACC 44967	5.17±0.79 ^{bcd}	4.14±0.14 ^{bc}	3.72±0.03 ^{ab}	1.46±0.89 ^{cde}	0.65±0.06 ^c	1.32±0.08 ^c
5	<i>A. oryzae</i> Suwon	5.38±0.59 ^{abc}	4.06±0.24 ^c	3.06±0.05 ^d	1.21±0.40 ^{de}	0.54±0.17 ^c	1.80±0.13 ^c
6	<i>A. oryzae</i> CF1001	4.76±0.38 ^{bcd}	4.25±0.09 ^{abc}	3.77±0.20 ^a	1.66±0.48 ^{cd}	0.54±0.01 ^c	1.40±0.03 ^c
7	<i>A. oryzae</i> CF1003	5.12±0.10 ^{bcd}	4.22±0.04 ^{abc}	3.65±0.06 ^{ab}	1.49±0.08 ^{cde}	0.54±0.03 ^c	1.42±0.07 ^c
8	<i>A. oryzae</i> KACC 46421	5.67±0.32 ^{ab}	4.31±0.16 ^{ab}	3.57±0.10 ^{bc}	1.04±0.27 ^{de}	0.53±0.07 ^c	1.90±0.05 ^c
9	<i>A. oryzae</i> KACC 46423	5.41±0.05 ^{abc}	4.25±0.11 ^{abc}	3.69±0.04 ^{ab}	1.41±0.38 ^{de}	0.59±0.01 ^c	1.64±0.08 ^c
10	<i>A. oryzae</i> KACC 46424	5.75±0.10 ^a	4.18±0.01 ^{bc}	3.71±0.01 ^{ab}	0.97±0.11 ^e	0.65±0.03 ^c	1.55±0.00 ^c
11	<i>A. oryzae</i> KACC 46959	5.00±0.15 ^{cde}	4.44±0.24 ^a	3.70±0.01 ^{ab}	1.62±0.18 ^{cde}	0.63±0.46 ^c	1.70±0.02 ^c
12	<i>A. acidus</i> KACC 46420	4.57±0.18 ^{ef}	4.13±0.05 ^{bc}	3.41±0.08 ^c	2.10±0.35 ^{bc}	0.71±0.06 ^c	1.56±0.11 ^c

¹⁾ Means±S.D. (n=3), Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

경조건에서 면밀한 검토가 이루어져야 하겠으나, 영양상태가 좋지 않은 배지에서 전배양한 다음 균체 증식을 높일 수 있는 영양원을 첨가하는 방법이 하나의 대안이 될 수 있을 것으로 생각된다.

*A. oryzae*의 pH는 WEB 배지에서 4.76~5.75, PDB 배지는 4.06~4.44, MEB 배지는 3.06~3.72이었으며, 산도는 각각 0.97~1.66, 0.53~0.65, 1.32~1.90으로 나타나, 배지의 종류에 따라 산 생성에 큰 차이가 없는 것으로 조사되었다. *A. oryzae*는 주로 citric acid를 생성하는데, 산도를 citric acid 생성량으로 환산하면 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 0.06~0.11%, 0.03~0.04%, 0.06~0.08%로 *Rhizopus* sp.와 달리 균체 증식이 높았던 WEB와 MEB 배지의 산 함량도 높은 것으로 나타났다. *A. acidus*의 pH는 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 4.57, 4.13, 3.41이었으며, 산도는 각각 2.10, 0.71, 1.56으로 균체량이 높을수록 산생성력도 높았다. *A. acidus*는 *A. kawachii*와 학명이 혼용되어 사용되고 있으며, citric acid의 생성력이 높아(Lee *et al* 1987), 막걸리 및 증류주 제조에 많이 사용된다. *A. acidus*를 사용한 술덧의 총산 함량은 citric acid 함량으로 1.7% 정도를 보이는데(Jo *et al* 1979), 배지상태에서의 총산 함량은 citric acid 함량으로 각각 0.13%, 0.05%, 0.10%에 상당하는 양으로 술덧의 함량보다 많이 낮은 것으로 드러났다. 일본에서는 입국 제조 시 *A. acidus*가 생산하는 산 함량을 증가시키기 위해 배양 후반부에 배양온도를 하강시킨다. *A. acidus*를 액체 증류로 사용하기 위해서는 산 생성력을

증가시키기 위한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

3. 효소 활성

균체 외 전분분해효소 활성을 Table 4에 나타내었다. *Rhizopus* sp.의 경우, *R. delemere* KACC 46419 균주가 WEB와 MEB에서 각각 0.013 U, 0.019 U의 비교적 낮은 효소 활성을 나타내었을 뿐, 다른 균주에서는 모든 배지에서 효소 활성이 관찰되지 않았다. *Aspergillus* sp.는 *Rhizopus* sp.보다 다소 높은 활성을 가지고 있었는데, *A. oryzae*의 효소 활성은 WEB 배지에서 0.019~0.037 U, PDB 배지에서 0.017~0.033 U, MEB 배지에서 0.028~0.046 U로 MEB 배지에서의 효소 활성이 비교적 높았고, *A. acidus* 역시 MEB 배지에서 0.036 U로 WEB 및 PDB 배지에 비하여 1.3배 높은 것으로 나타났다. *A. oryzae* 상업용 균주는 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 0.031~0.037 U, 0.025~0.33 U, 0.042~0.046 U로 야생균주의 0.19~0.23 U, 0.017~0.020 U, 0.028~0.032 U의 활성에 비하여 배지의 종류에 상관없이 높은 활성을 보였다. 전분 분해효소 생산은 배지의 pH, 탄소원, 질소원, 무기질 및 배양온도 등에 따라서 많은 영향을 받으며, *Aspergillus oryzae*는 액체 배양조건에서 질소원으로 ammonium sulfate, pH는 5~6에서 높은 효소 생산성을 보이는 것으로 알려져 있다(Sivaram akrishnan *et al* 2006). *Rhizopus* sp.는 배양이 시작되면 유기산을 생성하여 생육최적 pH가 5.0부근인데(Shon *et al* 1990), Table 3에서 *Rhizopus* sp.의 pH는 대부분의 배지에서 3.0부근

Table 4. Effect of media on amylase acidity in submerged culture condition

No.	Strains	Amylase activity (U)		
		WEB	PDB	MEB
1	<i>R. delemere</i> KACC 46419	0.013±0.000 ^{e1)}	n.d.	0.019±0.001 ^f
2	<i>R. oryzae</i> KACC 45714	n.d. ²⁾	n.d.	n.d.
3	<i>R. oryzae</i> KACC 45714	n.d.	n.d.	n.d.
4	<i>A. oryzae</i> KACC 44967	0.037±0.002 ^a	0.033±0.000 ^a	0.042±0.003 ^b
5	<i>A. oryzae</i> Suwon	0.031±0.000 ^b	0.025±0.004 ^b	0.042±0.002 ^b
6	<i>A. oryzae</i> CF1001	0.037±0.002 ^a	0.026±0.001 ^b	0.042±0.001 ^b
7	<i>A. oryzae</i> CF1003	0.035±0.004 ^a	0.027±0.001 ^b	0.046±0.005 ^a
8	<i>A. oryzae</i> KACC 46421	0.023±0.001 ^c	0.017±0.001 ^d	0.030±0.001 ^{de}
9	<i>A. oryzae</i> KACC 46423	0.022±0.001 ^{cd}	0.019±0.001 ^{cd}	0.029±0.002 ^{de}
10	<i>A. oryzae</i> KACC 46424	0.019±0.001 ^d	0.019±0.001 ^{cd}	0.028±0.004 ^{de}
11	<i>A. oryzae</i> KACC 46959	0.020±0.001 ^{cd}	0.020±0.001 ^c	0.032±0.001 ^d
12	<i>A. acidus</i> KACC 46420	0.028±0.002 ^b	0.027±0.003 ^b	0.036±0.001 ^c

¹⁾ Means±S.D. (n=3), Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$.

²⁾ Not detected.

을 형성하고 있어 효소 생산이 매우 낮았던 것으로 추정되며, *A. oryzae*의 pH는 WEB 배지에서 4.76~5.75, PDB 배지는 4.06~4.44, MEB 배지는 3.06~3.72로 MEB 배지의 pH는 효소 생산에 적합하지 않으나, 질소원 및 무기질 등 배지의 영양 성분이 전분 분해효소 생산에 비교적 적합하였기 때문에 다른 배지에 비하여 효소 활성이 높았던 것으로 생각된다. 또한, 상업용 균주의 효소 활성이 야생형보다 높은 이유에 Table 2의 결과로부터 상업용 균주가 야생균주에 비해 유전적으로 안정하고, 착생능이 우수하여 생육이 왕성(Oh DS 2004)하여 균체량이 많기 때문인 것으로 판단된다.

요 약

양조용 곰팡이 12균주에 대하여 WEB(wheat extract broth), PDB(potato dextrose broth), MEB(malt extract broth) 배지에서 배양특성 및 전분분해 효소 활성을 조사하였다. PDB 배지에서의 균체 생산량은 1.26(*R. oryzae* KACC 45714)~4.80(*A. oryzae* KACC 46959) g/100 mL로 WEB, MEB 배지보다 각각 2.3~9.2배, 1.7~14.6배 낮았다. *A. oryzae*의 경우, 상업유통 균주인 Suwon, CF1001, CF1003 균주들이 야생 균주인 KACC 46421, KACC 46423, KACC 46424, KACC 46959보다 건조 균체량이 높았다. *Rhizopus* sp.의 산 생성량은 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 0.12~0.47, 0.22~1.0, 0.16~0.68%

(as lactic acid)이었으며, *A. oryzae*는 0.06~0.11, 0.03~0.04, 0.06~0.08%(as citric acid) 범위이었다. 전분분해효소 활성은 *Rhizopus* sp.의 경우, *R. delemere* KACC 46419 균주만 WEB와 MEB에서 각각 0.013 U, 0.019 U의 활성을 보인 반면, *A. oryzae*의 효소 활성은 WEB, PDB, MEB 배지에서 각각 0.019~0.037, 0.017~0.033, 0.028~0.046 U 범위였다. 결론적으로 액체 증류용 배지는 균체 생산성이 비교적 우수하였고, 효소 활성이 높았던 MEB 배지를 사용하는 것이 유리한 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 농촌진흥청 공동과제연구(과제번호: PJ009129)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- 과학기술부 (1998) 전통누룩과 전통주의 품질향상 및 산업화 기술연구. 농촌진흥청 작물시험장, 서울. pp 114-118.
 Cho HK, Seo WT, Lee JY, Cho KM (2012) Quality characteristics of cereal *makgeolli* rice nuruk prepared *Rhizopus oryzae* CCS01. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1002-

- 1008.
- Choi JS, Jung ST, Choi JH, Choi HS, Baek SY, Yes SH (2012) Quality characteristics of wheat *nuruks* by storage conditions of liquid starters using *Rhizopus oryzae* N174. *Korean J Microbiol Biotechnol* 40: 319-324.
- Huh CK, Lee JW, Kim YD (2012) Quality characteristics of rice wine according to the rice wine seed mash with lactic acid concentration. *Korean J Food Preserv* 19: 933-938.
- Hong SJ, Lee WH, Park KB, Park KB, Sung JM (2001) Growth condition of *Flammulina velutipes* in liquid culture. *Korean J Biotechnol Bioeng* 16: 335-358.
- Jung DH (1983) Fermentation and microbiology engineering. Sunjinmunwhasa, Seoul. pp 228-275.
- Jo YH, Sung NK, Cung DH, Yun HD (1979) Microbiological studies on the rice *makkulli*. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 7: 217-223.
- Lee JS, Lee TS, Choi JY, Lee DS (1996) Volatile flavor components in mash of nonglutinous rice *takju* during fermentation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 39: 249-254.
- Lee WK, Kim JR, Lee MW (1987) Studies on the changes in free amino acids and organic acids of *takju* prepared with different koji strains. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 30: 323-327.
- OH DS (2004) Improvement of *Aspergillus oryzae* by mutagenesis and optimization of its sporulation conditions. Woosuk University, Wanju. pp 21-41.
- Park CS, Lee TS (2002) Quality characteristics of *takju* prepared by wheat flour *nuruks*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 296-302.
- Park JW, Lee KH, Lee CY (1995) Identification of filamentous molds isolated from Korean traditional *nuruk* and their amylolytic activities. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 23: 737-746.
- Park S, Gong JW, Lee KS (2008) Calcium absorption and growth characteristics of *Agrocybe cylindracea* mycelia in submerged culture. *Korean J Food Sci Technol* 40: 419-423.
- Seo WT, Cho HK, Lee JY, Kim B, Cho KM (2012) Quality characteristics of wheat-rice *makgeolli* by making of rice nuruk prepared by *Rhizopus oryzae* CCS01. *Korean Journal of Microbiology* 48: 147-155.
- Shin DH (2010) Globalization trends and prospect of Korean traditional fermented foods. *Food Science and Industry* 43: 69-82.
- Shon SK, Rho YH, Kim HJ, Bae SM (1990) *Takju* brewing of uncooked rice starch using *Rhizopus koji*. *Korean J Appl Microbiol Biotech* 18: 506-510.
- So MH (1999) Characteristics of a modified nuruk made by inoculation of traditional *nuruk* microorganisms. *Korean J Food & Nutr* 12: 219-225.
- So MH, Lee JW (1996) *Takju* brewing by combined use of *Rhizopus japonicus-nuruk* and *Aspergillus oryzae-nuruk*. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 157-162.
- So MH, Lee YS (2010) Effects of culture conditions of *Rhizopus* sp. ZB9 on the production of organic acid during the preparation of rice koji. *Korea J Food & Nutr* 22: 644-649.
- Liao W, Liu Y, Frear C, Chen S (2007) A new approach of pellet formation of a filamentous fungus - *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technology* 98: 3415-3423.

접 수: 2013년 11월 25일
 최종수정: 2013년 12월 18일
 채 택: 2013년 12월 31일