J Korean Soc Food Sci. Nutr.
26(5), 767~774(1997)

한국전통누룩에서 분리한 유용곰팡이의 특성

김현수 · 현지숙 · 김 정 · 하현팔* · 유대식[†]
계명대학교 미생물학과
*경주법주 주식회사

Characteristics of Useful Fungi Isolated from Traditional Korean Nuruk

Hyun-Soo Kim, Ji-Sook Hyun, Jung Kim, Hyun-Pal Ha* and Tae-Shick Yu[†]

Dept. of Microbiology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea
**Research Institute, KyongJu BeobJoo Co., LTD, KyongJu 780, Korea*

Abstract

For the standardization and quality improvement of traditional Korean Nuruk, 120 strains of fungi were isolated from Nuruks and 18 strains of them were selected as strains analysing the amylase and flavor. The genera of these fungi were identified as *Aspergillus* sp.(14 strains), *Penicillium* sp.(3 strains) and *Rhizopus* sp.(1 strain) by the conventional slide culture. Most of these fungi showed a better productivity of the saccharogenic and dextrinogenic enzymes in raw wheat bran culture than in cooked wheat bran culture. The ability of acid and flavor production was good in the raw wheat bran culture, and aflatoxins were not produced under the same culture. *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. showed low cell growth and high saccharifying activity, whereas the majority of *Aspergillus* sp. had high cell growth and amylase activity. Mixed culture of *Aspergillus* sp. No.3-6 and *Penicillium* sp. No.7-7 revealed a high liquefying and saccharifying activity as well as high flavors production. These results indicated that these fungi was proper strains for making Nuruk of good quality.

Key words: Nuruk, fungi of Nuruk, amylase activity, wheat bran culture

서 론

누룩은 우리나라 전통술의 양조에 당화제의 역할 뿐 아니라 발효제의 역할도 수행하는 물료(物料)이다. 우리나라 전통술의 역사는 일반적으로 삼국시대 이전으로 추측하고 있으나(1), 다양한 술이 존재한 것은 술의 주원료인 전분질 원료와 누룩이 다양했으며, 각 지방과 각 가정에서의 양조기법이 다양했기 때문에 가능했다. 그러나 전통주류 제조과정의 당화 및 발효원인 누룩에 대한 연구는 1900년대 초반 일본인에 의해 그 일부가 진행되어 있을 뿐(2-9), 국내에서의 연구는 극히 단편적이고 기초적인 연구에 불과했다(10-14).

麯子 製造 講本(15)에는 "조선주 양조에 있어서 곡자(누룩)는 주모를 사용하지 않고 당화와 발효의 양 작용이 일어나므로 곡자의 기능은 위대하다 국과 주모의 양 기능을 구비한 곡자가 조선주 양조에 미치는 역할은 실로 중대한 것이다"라고 극찬했으며, 小原(16)에 의하면, 곡자는 "전분의 당화제로서 국의 기능을 가짐과 동시에 어느 정도의 주모로서의 기능도 가지고 있다"라고 정의되었다.

1906年 上野(6)에 의하여 한국산 곡자에 관한 연구가 시작되어 3종의 *Mucor*속 사상균을 분리했으며, 松田과 中島(7)는 한국 곡자로부터 11종의 사상균과 3종의 효모를 분리했다. Saito(8)는 조선산 곡자와 조선주 술덧 중의 미생물을 조사하여 곡자로부터 10여종의 사상균과 2종의 산막성 효모를 분리했으며, 이들 외에 신종 효모인 *Saccharomyces coreanus*와 *Saccharomyces coreanus forma major*를 분리 · 동정하였고, *Saccharomyces coreanus*를 양조학상 한국산 주정음료의 중요한 미생물로 규정지었다.

한편, 최근 경제발전과 더불어 식생활 수준이 향상됨으로 술에 대한 기호도의 다양화와 고급화가 요구되

[†]To whom all correspondence should be addressed

고 있다. 따라서 민족 고유의 식문화 전통의 계승 및 수입개방에 따른 외국 주류의 수입에 대한 국내 주류의 경쟁력 향상을 위해 전통주류의 품질향상과 규격화, 산업화 기술의 개발이 절실히 요구되고 있다. 더욱이 젊은층을 중심으로 하여 외국문화로부터 해방 또는 탈피하고 우리문화를 전승, 계승, 발전시키고자 하는 전통문화로의 회귀 현상이 고조되고 있으며, 이같은 추세에 부합하여 전통주류의 품질개선 측면에서 전통주류 제조에 이용되고 있는 누룩에 관한 관심도 높아가고 있다.

그러나 전통누룩은 가내공업으로 제조되기 때문에 다양한 사상균, 효모와 세균이 존재하여 미생물상이 대단히 복잡하고 비위생적이며 효소역가가 낮은 제품이 많이 유통되고 있다. 이같은 문제점을 해결하기 위해 우리 선조들의 누룩 제조방법을 발굴하고 효율적인 누룩 제조공정의 개발을 비롯하여 누룩의 미생물학적, 효소학적 측면의 보다 체계적인 연구가 절실히 요구된다.

본 연구에서는 우리 전통술의 양조에 필요한 전통누룩의 규격화 및 품질향상을 위한 일환으로 누룩제조에 관여하는 균주를 검색하여 우수한 사상균을 분리, 고정하고 이들을 대상으로 단일배양 및 혼합배양에 따른 액화력, 당화력, 향기성분 생성능 및 산생성능 등을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

전통누룩으로부터 곰팡이의 분리 및 배양

Table 1에 나타낸 바와 같이 전국 각 지역으로부터 시판민간제조누룩 16점을 구입하여 분리원으로 사용하였다. 분쇄한 누룩 1g을 생리식염수로 현탁, 희석한 후 상등액 100μl를 분리용 평판배지에 도말하여 28°C에서 4일간 정치배양하면서 나타난 곰팡이 colony를 순수분리하였다. 분리배지로는 Czapek solution agar 배지(17)(sucrose 3%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, KCl 0.05%, $NaNO_3$ 0.2%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001%, agar 1.5%)를 사용하였다. 한편, 분리한 곰팡이의 배양은, 멸균수 3.5ml를 첨가한 10g의 조분쇄한 생밀기울(ethylene oxide gas 살균) 및 호화밀기울(가압살균)에 포자현탁액(약 1.0×10^9 spores/ml) 300μl를 각각 접종하여 28°C에서 배양하였다.

분리곰팡이의 속(Genus) 동정

분리곰팡이의 형태관찰을 위한 평판배양은 potato-dextrose agar 배지(Difco Co.), mycological medium (Difco Co.) 및 Czapek solution agar 배지를 사용하였으며, 배양 5일까지 균의 생육상태를 육안 및 현미경을 통하여 관찰함으로써 분리곰팡이의 속을 동정하였다. 분리균은 Czapek solution agar 배지에 사면배양하여 4°C에서 보존하였다.

효소액의 조제

액화력 측정의 경우, 배양체(koji) 2g을 10ml의 40mM Na-acetate buffer(pH 5.0)로 현탁하여 25°C에서 1시간 진탕시킨 후 8,000rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 당화력의 경우, saccharogenic power(SP) 측정시에는 배양체 1g을 1% NaCl용액 20ml에 현탁하여 30°C에서 3시간 추출한 상등액을 사용하였으며, glucoamylase activity 측정시에는 배양체 1g을 0.5% NaCl용액 5ml에 현탁하여 5°C에

Table 1. Shape of purchased traditional Korean Nuruk

Purchased place	Form	Size(cm)	Weight(g)
1. Chŏlwon	Round	φ16.0×5.5	790.9
2. P'och'ŏn	Round	φ19.0×4.0	1,006.6
3. Ch'unchŏn 1	Round	φ17.0×5.0	687.3
4. Ch'unchŏn 2	Round	φ18.5×3.5	726.3
5. *Yongi (Ch'ung nam)*	*Not uniform*	-	162.8
6. Taegu	Round	φ14.5×2.0	272.0
7. Kyŏngju 1	Round	φ21.0×3.0	791.0
8. Kyŏngju 2	Round	φ20.0×3.5	744.5
9. Hyunpung 1	Square	16.0(W)×16.4(L)×3.4(H)	805.5
10. Hyunpung 2	Square	17.0(W)×17.0(L)×3.5(H)	868.9
11. Koryong	Square	16.5(W)×16.5(L)×3.0(H)	759.2
12. *Chinju*	*Round*	φ38.0×2.0	1,151.7
13. Ch'ungmu	Round	φ17.5×3.0	440.0
14. Tongyoung	Round	φ17.5×4.5	693.8
15. Boun	Powder	-	495.0
16. Sangju	Round	φ20.0×5.0	432.0

서 12시간동안 방치한 다음 실온에서 3시간 교반시켜 추출한 상등액을 0.01M Na-acetate buffer에서 하루동안 투석한 후 효소액으로 사용하였다.

효소활성 측정

액화력(dextrinogenic activity units, DU)은 40°C에서 5분간 예열한 1% 가용성 전분용액(40mM Na-acetate buffer, pH 5.0) 2ml를 기질용액으로 하여 희석 효소액 0.1ml를 넣고 40°C에서 30분간 반응시킨 다음 효소반응액 0.1ml에 0.00025N 요오드용액(0.0025N KI 함유) 10ml를 가하여 670nm파장에서 투과도(T%)를 측정한 후, Wohlgemuth value에 준한 아래식에서 활성도를 산출하였다(18).

$$DU(U/ml)=12.75(T_{30min}-T_{0min})/30min$$

당화력은 2% 가용성 전분용액을 기질로 하여 국세청 주류 분석규정(19)에 따른 SP와 일본 국세청 주류 분석규정(1993년 개정)에 따른 glucoamylase의 활성을 측정하여 비교하였다. SP는, 기질용액을 55°C에서 1시간 효소반응시킨 다음 생성된 환원당의 양을 Lane-Eynone법으로 측정하여 기질의 당화율이 15%되는 범위에서의 당화율에 희석배수를 곱하여 산출하였다(19).

$$당화율(\%)=\frac{\text{전분당화액의 당분(\%)}-\text{(희석효소액의 당분\%}\times 1/10)}{(2\%\text{가용성전분의 전당}\times 1/2)+(\text{희석효소액의 전당\%}-\text{희석효소액의 직당})\times 1/10}\times 100$$

또한, glucoamyase의 활성은, 40°C에서 20분간 반응시킨 효소기질반응액 1ml를 사용하여 Somogi-Nelson법으로 반응액 내에 생성된 포도당량을 측정하였으며 아래식에 준하여 효소활성도를 산출하였다

효소활성도(Unit)=생성포도당량(mg)×60/20(반응시간)×1/0.1(효소량)×100/10(추출율)

한편, 액화력 및 당화력의 단위는 누룩 혹은 배양체 1g당의 활성으로 표시하였으며, 각 sample은 3회 측정하여 평균값으로 표기하였다.

산생성능 검토

배양체 1g을 1% NaCl 20ml에 현탁한 후 그 상등액의 pH를 pH meter로 측정하였으며, 총산의 측정은 현탁액 10ml에 대해 0.1% phenolphthalein 2~3방울을 가하여 0.1N NaOH로 선홍색이 될 때까지 적정한 후 succinate로 환산하였다.

향기성분 생성능 검토

분리곰팡이의 향기성분 생성능은, 생밀기울 및 호화밀기울에서 각각의 분리균주를 5일간 배양한 후 관능검사를 통해 검토하였다. 관능검사는 음주가능한 사람 30인을 대상으로 실시하였으며, 배양균이 생산하는 향기성분에 대해 각각 표현한 결과를 종합하여 향기와 알코올 냄새의 유무 등으로 표시하였다.

Aflatoxins 생산능 검토

본 분리균주(18균주)를 생밀기울 배지에서 30일동안 각각 배양한 후 배양체 10g을 $CHCl_3$으로 추출하여 농축한 다음, 소량의 $CHCl_3$에 용해하였다. 이를 표준 aflatoxin과 함께 TLC plate(silica gel 60F254. Merck Co.)에 spot한 다음 ethylether : MeOH : H_2O(95 : 4 : 1)로 전개한 후. UV(254nm)하에서 확인하였다. 표준 aflatoxin은 B_1, B_2, G_1, G_2, B_{2a}, G_{2a}, M_1, M_2(Sigma Co.)를 사용하였다.

균증식도에 따른 효소생산능 측정

배양체 1g에 포함되는 각 균주의 균체량(cell weight)은 각각의 배양체 1g으로부터 추출되는 glucosamine을 정량하여 확인하였다. 각 분리균주의 glucosamine량의 척도는 액체배양을 통하여 분리한 균체를 105°C에서 항량 건조한 다음 균체 g당 glucosamine 함량을 산출하였다. 먼저, 배양체 0.5g에 60% H_2SO_4(Duksan Co.) 2ml를 넣어 잘게 부수고 25°C에서 24시간 방치한 후 H_2SO_4의 최종 농도가 1N이 되도록 물로 희석한 후 120°C, 1kg/cm^{2}하에서 1시간 가압살균하였다. 이를 pH 7.0으로 중화(1N NaOH 사용)하여 전체 부피가 50ml정도 되도록 희석한 다음, Chaplin과 John(20)의 방법에 따라 glucosamine 함량을 측정하였다. 산출된 각 균주의 배양체 1g당 glucosamine 함량과 액화력 및 당화력을 비교, 분석하였다.

혼합배양에 따른 효소생산능 검토

분리된 18균주 가운데 액화력 또는 당화력이 양호하고 향기성분 생성능이 양호한 균주들을 대상으로 하여 동일 속 혹은 다른 속간의 혼합배양을 실시하되 단일배양과 동일한 방법으로 배양하였다. 즉, 생밀기울 배지에 각 균주의 포자현탁액 300μl씩을 접종하여 28°C에서 7일간 배양하였다. 효소활성은 각각의 배양체를 추출하

여 단일배양의 경우와 동일한 방법으로 액화력 및 당화력을 측정하였다.

결과 및 고찰

시판누룩의 특성

본 실험에 사용한 구입 누룩의 형태는 Table 1에서와 같이 민간제조 누룩의 경우(5, 12, 14, 15 누룩) 형태가 다양하며 국화잎 또는 쑥이 함유되어 있고, 공장제조 누룩의 경우 사각형 혹은 원형이었다. 이들 누룩의 미생물 분포는 1, 2, 6, 7, 9, 12, 13의 경우 세균의 수가 10^8~10^9cells/g(결과 미게재)으로 많은 수의 세균이 오염되었다고 판단되었다. 이들 구입 누룩의 액화력 및 당화력을 검토한 결과 Table 2에서와 같이 액화력은 몇몇 누룩을 제외하고 대체로 양호하였으나 당화력은 포천, 경주, 현풍 2 누룩을 제외한 대다수가 저조하였다. 이들 결과에서, 시판되고 있는 누룩은 대다수가 당화력이 낮고 비위생적으로 제조되었으며 제품의 품질향상이 요구된다고 사료되었다.

유용곰팡이의 분리 및 속(Genus) 동정

누룩제조에 관여하는 유용곰팡이를 분리하기 위해 구입한 시판누룩으로부터 Czapek solution agar 배지에서 120주의 곰팡이를 분리하였다. 이들 분리된 곰팡이를 호화밀기울을 사용한 고체배지에서 배양한 후 액화력이 우수하며 향기성분을 생산하는 18균주를 선별하였다. 선별된 18균주를 대상으로 하여 3종류의 배지(Czapek solution agar, potato-dextrose, mycological medium)를 사용하여 평판 및 사면배양을 통하여 균의 생육상태를 관찰(결과 미게재)함으로써 각 균주의 속을 동정하였다. 그 결과, Table 3에 나타낸 바와 같이 1-1 등의 14균주는 *Aspergillus* sp.으로, 7-1 등의 3균주는 *Penicillium* sp.으로 판단되었으며 18-1균주만이 *Rhizopus* sp.인 것으로 판단되었다.

Table 2. Amylase activity of traditional Korean Nuruk

Sample No.	Amylase activity(units/g)	
	DU (units/g)	SP (units/g)
1 Chŏlwon	610	81
2. P'ochŏn	800	480
3 Ch'unchŏn 1	375	78
4. Ch'unchŏn 2	617	132
5. Yongi(Ch'ung nam)	1,960	129
6. Taegu	885	81
7. Kyŏngju 1	1.095	750
8. Kyŏngju 2	395	87
9. Hyunpung 1	1,200	69
10 Hyunpung 2	1,275	450
11. Koryong	1,255	150
12. Chinju	1,220	86
13 Ch'ungmu	855	129
14. Tongyoung	1,125	129
15. Boun	665	62
16. Sangju	402	90

DU: Dextrinogenic activity units by Wohlgemuth value
SP: Saccharogenic power by Lane-Eynone method

분리균주의 단일배양에 따른 액화력 및 당화력

일반적인 전통누룩은 생밀기울을 원료로 사용한다는 점에서 생밀기울에서의 효소생산능을 비교 검토하였다. 분리된 18균주를 대상으로 생밀기울 및 호화밀기울에서 단일배양을 수행하여 28℃에서 각각 7일간 배양하였다. 각 분리균주의 액화력 및 당화력은 Table 4에 나타낸 바와 같이 호화밀기울에서 배양한 경우보다 생밀기울에서 배양한 경우가 더 우수하였다. 액화력의 경우, *Asp.* sp. 4균주(1-1, 3-6, 7-6, 12-1)와 *Rhi.* sp.인 18-1균주가 양호한 결과를 보였으며, 당화력은 *Asp.* sp. 5균주(2-5, 3-6, 7-5, 7-6, 17-2), *Pen.* sp. 2균주(7-1, 7-7) 및 *Rhi.* sp.인 18-1이 양호하였다. 액화력과 당화력이 모두 우수한 균주로서는 *Asp.* sp.의 3-6, 7-6과 *Rhi.* sp.인 18-1 등이며, *Asp.* sp. 3-6은 생밀기울 배지에서 액화력과 당화력이 각각 710units 및 1,380units/g koji, *Asp.* sp. 7-6은 600units 및 1,320units/g koji였다. 그리고 *Rhi.* sp 18-1은 액화력과 당화력이 각각 750units 및 1,994units/g koji의 효소활성도를 나타내었다 또한

Table 3. Genus of isolated molds

Strains	Genus
1- 1	*Aspergillus* sp.
2- 5	*Aspergillus* sp.
3- 6	*Aspergillus* sp
4-16	*Aspergillus* sp
5-15	*Aspergillus* sp.
7- 1	*Penicillium* sp.
7- 3	*Penicillium* sp.
7- 5	*Aspergillus* sp.
7- 6	*Aspergillus* sp.
7- 7	*Penicillium* sp.
12- 1	*Aspergillus* sp.
14- 7	*Aspergillus* sp.
15- 1	*Aspergillus* sp.
15- 3	*Aspergillus* sp.
17- 2	*Aspergillus* sp.
17- 6	*Aspergillus* sp
17-21	*Aspergillus* sp.
18- 1	*Rhizopus* sp.

Table 4. Dextrinogenic and saccharogenic activity on single culture of isolated molds

Strains	Raw wheat bran			Cooked wheat bran		
	DU (units/g koji)	SP (units/g koji)	GA (units/g koji)	DU (units/g koji)	SP (units/g koji)	GA (units/g koji)
Asp. sp No.						
1- 1	635	390	537	255	114	378
2- 5	200	2040	432	215	165	708
3- 6	710	1380	585	235	93	564
4-16	195	630	561	125	108	468
5-15	480	615	525	395	162	558
7- 5	335	1320	510	40	108	390
7- 6	600	1320	606	325	126	495
12- 1	735	810	771	525	117	720
14- 7	470	705	585	295	90	570
15- 1	510	342	429	170	126	639
15- 3	300	414	411	-	105	468
17- 2	200	1155	714	100	81	360
17- 6	540	885	696	170	150	591
17-21	195	510	516	250	102	570
Pen. sp No						
7- 1	155	2610	627	185	<30	399
7- 3	140	585	570	60	<30	246
7- 7	100	2220	510	100	63	684
Rhi. sp. No.						
18- 1	750	1994	715	515	160	658

DU: Dextrinogenic activity units, SP: Saccharogenic power, GA: Glucoamylase activity
Each strain was cultivated at 28°C for 7 days

Pen. sp. 7-1은 생밀기울 배지에서 액화력이 155units/g koji로 다소 낮은 효소활성도를 나타내었으나 당화력은 2,610units/g koji로서 가장 높은 효소활성도를 나타내었다. 생밀기울에서 효소생산능이 우수한 점과 당화력이 Table 2에서 보인 사용누룩의 당화력보다 우수한 점에서 대다수의 분리균주는 누룩제조용 사상균으로 적합하다고 사료되었다.

분리균주의 단일배양에 따른 산생성능

누룩을 사용하는 발효에서 이상발효 및 잡균오염방지를 위해 산생성능이 우수한 사상균이 요구된다. 따라서 분리된 18균주를 생밀기울 및 호화밀기울을 배지로 사용하여 28°C에서 7일간 배양한 후, 그 추출액을 사용하여 각각의 산생성능을 측정하였다. 시판누룩의 pH가 6.2~6.5(결과 미게재) 정도인 점을 고려할 때 Table 5에서와 같이, *Asp.* sp인 2-5, 5-15, 14-7, 15-1, 15-3, 17-6 등의 분리사상균에서 산생성능이 양호한 결과를 보였으며, *Rhi.* sp.인 18-1균주도 비교적 양호하였다. 즉, *Asp.* sp. 15-3과 17-6은 호화밀기울 배지에서 각각 99.12mg 및 70.80mg/g koji의 산을 생성하였으며 *Rhi.* sp. 18-1균주도 59.00mg/g koji의 산을 생산하였다. 그러나 분리된 *Pen.* sp.의 3균주는 *Asp.* sp.와 *Rhi.* sp.보다 산생성이 미약하였다. 이들 결과에서 산생성능은 액화력 및 당화력과는 달리 생밀기울보다 호화밀기울에서 더 우수한 결과를 나타내었으며, 이는 생전분보다 호화전분의 분해가 용이한 점에서 호화전분의 빠른 대사에 의한 각종 유기산의 생산에 기인한다고 사료된다.

분리균주의 단일배양에 따른 향기성분 생성능

일본 청주의 경우 향기성분으로서 효모 이외 koji균이 생산하는 향기성분이 관여한다는 보고(21-23)와 관련하여 누룩 특유의 향기성분을 생산하는 균을 분리하고자 하였다. 각각의 분리균주를 28°C에서 5일간 단일배양한 후, 관능검사를 통해 향기성분 생성능을 검토하였다. 생밀기울과 호화밀기울을 비교한 결과, Table 6과 같이 생밀기울에서 배양한 경우에 더 우수한 향기성분이 생성된다고 판단되었으며, *Asp.* sp.의 3-6, 15-3 및 *Pen.* sp.의 7-1, 7-3, 7-7 등 5균주가 우수하였다.

Aflatoxin 생산능

분리한 18균주를 생밀기울 배지에서 30일동안 배양하여 aflatoxins(B_1, B_2, G_1, G_2, B_{2a}, G_{2a}, M_1, M_2) 생성유무를 검토한 결과, aflatoxin 생산은 확인되지 않았다.

Table 5. Productivity of total acid on single culture of isolated molds

Strains	Raw wheat bran			Cooked wheat bran		
	pH	Total acid		pH	Total acid	
		Used NaOH (ml)	Succinate (mg/g koji)		Used NaOH (ml)	Succinate (mg/g koji)
Asp. sp No.						
1- 1	6.2	1 6	18.88	5.6	2.0	23.60
2- 5	5.6	2.2	25.96	5.0	2.4	28.32
3- 6	6.2	1.4	16.52	5.6	2.2	25.96
4-16	6 2	1.4	16.52	5.2	2.3	27.14
5-15	5.6	2.4	28 32	5 6	2.0	23.60
7- 5	6.2	1.2	14.16	5.0	2 4	28.32
7- 6	6.2	1.4	16.52	5.6	2.2	25.96
12- 1	6.2	1.4	16.52	5 6	2.3	27.14
14- 7	5.6	2.2	25.96	5.6	2.2	25.96
15- 1	5.6	2.2	25.96	3.0	5.0	59.00
15- 3	4.2	2.6	30.68	2.5	8.4	99.12
17- 2	6.2	1.4	16.52	4.4	3 6	42.48
17- 6	5 2	2.4	28.32	3.0	6.0	70.80
17-21	6 2	1.3	15.34	5.0	2.4	28.32
Pen. sp No.						
7- 1	6.2	1.6	18.88	5.6	2 1	24.78
7- 3	6.2	1.4	16.52	5.6	2.2	25.96
7- 7	6.2	1 4	16.52	5.2	2.4	28 32
Rhi. sp. No.						
18- 1	5.8	2.0	23.60	3.0	5.0	59.00

Table 6. Flavor production of isolated molds on single culture

Strains	Raw wheat bran	Cooked wheat bran
Asp. sp. No.		
1- 1	-	GF
2- 5	-	WF
3- 6	GF, WAF	GF, AF
4-16	AF	BF
5-15	-	AF, GF
7- 5	-	WF
7- 6	WAF	GF
12- 1	-	SAF, GF
14- 7	-	WF
15- 1	AF	-
15- 3	GF, WAF	-
17- 2	WAF	-
17- 6	WAF	-
17-21	-	-
Pen. sp. No.		
7- 1	GF	WF
7- 3	GF, WAF	WF
7- 7	GF. WAF	BF
Rhi. sp. No.		
18- 1	WAF	WF

GF: Good flavor, WAF: Weak alcoholic flavor
AF: Alcoholic flavor, WF: Weak flavor
BF: Bad flavor, SAF: Strong alcoholic flavor

분리균주의 균체증식과 효소활성의 비교

생밀기울에서 균증식과 효소생산과의 상관관계를 규명하기 위해 생밀기울을 배지로 사용하여 28°C에서 7일 및 10일간 배양한 분리균주들의 액화력 및 당화력을 각각의 균체증식도와 비교하였다. Table 7에서와 같이, 배양체 1g당 균체량이 매우 적은 균주 가운데 *Asp.* sp.인 14-7, 15-3 및 *Pen.* sp.인 7-1, 7-3, 7-7 등은 배양 10일째의 액화력과 당화력이 현저히 증가하는 경향을 보였으며, *Asp.* sp.인 12-1은 균증식도에 비해 당화력이 우수하였다. 또한 *Rhi.* sp. 균주도 균증식은 약하나 glucoamylase 효소활성이 특히 우수하였다. 그에 비해, 배양 7일째의 효소활성이 우수하였던 *Asp.* sp.의 1-1, 3-6, 7-6 등 3균주는 7일 이후 균체량이 증가함에 따라 액화력이 오히려 감소하는 결과를 보였다. *Asp.* sp.의 7-5, 15-1, 17-2, 17-6 등의 4균주는 균증식이 양호한 동시에 액화력, 당화력이 배양 10일째에 증가하는 경향을 보였다. 따라서 균증식은 미약했으나 배양 7일째의 당화력이 특히 양호한 *Rhi.* sp. 18-1균주는 전통누룩 제조용 사상균으로 사료된다.

혼합배양에 의한 효소활성 및 향기성분 생성능

다양한 기능을 가진 혼합균주를 사용하여 양질의 누룩을 제조하기 위하여 혼합배양 조건을 검토하였다. 단일배양의 결과에서 효소생산이 우수하고 향기성분 생성능이 양호했던 균주를 이용하여 같은 속(*Asp.* sp.) 혹은 다른 속(*Asp.* sp.+*Pen.* sp.)의 균을 조합하여 다섯가지 유형의 혼합배양을 실시하고 각각의 액화력 및 당화력을 검토하였다. 그 결과 Table 8에서와 같이, 액화력은 3-6과 7-7, 3-6과 15-3, 7-7과 15-3, 7-7과 17-6이 양호한 결과를 보였으며, 당화력은 3-6과 7-7 및 7-7과 17-21의 두가지 유형이 우수하였다. 한편, 이들의 향기

Table 7. Enzyme activity and cell weight per 1g koji formed from the raw wheat bran culture

Strains	DU (units/g koji)		GA (units/g koji)		Cell weight (g/g koji)	
	Cultivation time(days)					
	7	10	7	10	7	10
Asp. sp. No.						
1 - 1	635	181	537	729	0.285	0.370
2 - 5	200	2720	432	744	0.133	0.427
3 - 6	710	334	585	717	0.209	0.475
4 - 16	195	2157	561	822	0.427	0.465
5 - 15	480	332	525	669	0.551	0.579
7 - 5	335	2274	510	798	0.152	0.370
7 - 6	600	115	606	708	0.313	0.389
12 - 1	735	659	771	858	0.199	0.199
14 - 7	470	4728	585	930	0.183	0.266
15 - 1	510	4080	429	795	0.304	0.427
15 - 3	300	2198	411	567	0.150	0.237
17 - 2	200	4293	714	738	0.399	0.437
17 - 6	540	3304	696	780	0.570	0.674
17 - 21	195	149	516	495	0.218	0.626
Pen. sp. No.						
7 - 1	155	1190	627	732	0.095	0.123
7 - 3	140	988	570	744	0.114	0.133
7 - 7	100	1137	510	759	0.098	0.133
Rhi sp. No.						
18 - 1	750	795	715	950	0.124	0.141

DU: Dextrinogenic activity units
GA: Glucoamylase activity
Enzyme activity(DU and GA) of 7 days cultivation was identical as showed in Table 4

Table 8. Dextrinogenic and saccharogenic activity on mixed culture using the raw wheat bran

Strains	DU (units/g koji)	SP (units/g koji)
3-6, 7-7	730	1110
3-6, 15-3	810	750
7-7, 15-3	675	660
7-7, 17-6	565	1170
15-3, 17-6	60	540

DU: Dextrinogenic activity units
SP: Saccharogenic power
Each culture was performed at 28°C for 7 days

성분 생성능은 Table 9에서와 같이 3-6과 7-7의 혼합배양의 경우에 가장 우수하였으며, 3-6과 15-3 및 7-7과 15-3의 경우에도 양호한 결과를 보였다. 그러나 산생성능이 우수한 15-3균주와의 혼합배양은 대체로 효소생산능이 미흡하였다. 따라서 이들 다섯가지 혼합배양 중에서 3-6과 7-7의 혼합배양이 효소활성과 향기성분면에서 가장 우수한 것으로 판단되었으며, 혼합배양시 균사의 간섭이 균증식도, 효소생산능 등에 영향을 미치는 것으로 예상되고 있다.

Table 9. Flavor production of isolated molds on mixed culture using the raw wheat bran

Strains	Flavors production
3-6, 7-7	GF, WAF
3-6, 15-3	AF
7-7, 15-3	AF
7-7, 17-6	-
15-3, 17-6	-

GF: Good flavor
WAF: Weak alcoholic flavor
AF: Alcoholic flavor

따라서, 앞으로 이들 우수균주들을 이용하여 배양일수에 따른 효소생산능, 생산효소의 안정성, 균주간 균사의 간섭효과 등을 검토하여 체계적으로 다양한 혼합배양을 실시하고 그 효소활성 및 물질 생산능을 검토함으로써 전통누룩의 규격화 및 품질향상에 따른 고품질의 전통주류 생산이 가능하다고 사료되었다.

요 약

전통주류의 품질개선 및 산업화기술을 개발하기 위하여 전통주류의 기본재료인 누룩의 규격화 및 품질향상이 요구되고 있다. 이같은 요구에 부응하여 누룩제조에 관여하는 우수한 미생물을 분리하여, 균주개량 및 보존을 통하여 우리 고유의 생물자원을 확보하고 이용함으로써 다양한 기능을 가진 누룩의 제조가 가능하다. 따라서 본 연구는 이같은 목적을 수행하기 위한 일환으로 시판 전통누룩으로부터 분리한 곰팡이를 대상으로 액화력 및 향기성분 생산능이 우수한 18주의 곰팡이를 선별하여 배양학적인 특성을 조사하였다. 이들 선별균주의 속의 동정결과 *Aspergillus* sp.(14주), *Penicillium* sp.(3주) 및 *Rhizopus* sp.(1주)으로 확인되었다. 누룩의 주된 재료인 밀기울을 사용한 고체배양에서의 액화력, 당화력, 산생성능 및 향기성분 생산능을 검토한 결과, 분리균 대다수가 호화밀기울보다 생밀기울에서 효소생산능이 우수하였다. 반면 산생성도는 호화밀기울에서 대체로 우수하였으며, 생밀기울에서도 양호하였다. 향기성분은 *Aspergillus* sp. 일부를 제외하고 생밀기울에서 우수한 향기성분을 생성하였으며, 분리균주의 aflatoxin 생성유무를 조사한 결과 18균주 모두 aflatoxin을 생산하지 않았다. 균증식에 따른 효소생산능을 검토한 결과 *Penicillium* sp. 및 *Rhizopus* sp.는 균증식도가 낮은 반면 당화력이 우수하였으며, *Aspergillus* sp. 대다수는 균증식이 양호하고 효소생산능이 우수하였다. 이들 균주의 혼합배양에 의한 효소생산 및 향기

성분 생산능을 비교한 결과 *Aspergillus* sp. 3-6과 *Penicillium* sp. 7-7의 혼합배양시 액화력, 당화력 및 향기성분 생산능이 우수하였다. 이들 결과로부터 누룩제조와 관련하여 본 분리균주들은 효소생산, 산생성 및 향기성분 생성능의 측면에서 누룩제조용 균주로서 적합하며, 이들 균주의 특성을 고려한 혼합배양에 의해 다양한 기능을 가진 누룩제조가 가능하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 과학기술처 선도기술개발과제 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며, 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

1. 장지현 : 우리나라 술의 역사. 한국식문화학회지, **4**, 271 (1989)
2. 鳥居嚴次郞 · 朝鮮麴菌に 關する 硏究 報告. 日本藥學雜誌, **282**, 675(1906)
3. 佐藤喜吉 : 滿洲, 朝鮮産 麯子中の*Monascus* に就て (第一報). 農藝化誌, **6**, 957(1930)
4. 武田義人 : 朝鮮産 醱酵 菌類の硏究 (第一報), 麯子 中 の *Saccharomyces*屬 に就て. 農藝化誌, **6**, 1023(1930)
5. 武田義人 . 朝鮮産 醱酵菌類 の 硏究 (第二報). 農藝化誌, **10**, 281(1934)
6. 上野金太郞 . 韓國麴の硏究 報告 第1回. 日本藥學雜誌, **277**, 203(1906)
7. 松田 鍵, 中島榮次 : 韓國 麯子に關する菌學的 調査. 韓國度 支部 司稅局 報告(1910)
8. Saito, K : Notizen uber einige koreanische gärungsorganismen. *Cent. f. Bakt. II. Abt. Bd.*, **26**, 369(1910)
9. 長西廣輔 : 朝鮮産 麯子の 硏究 (第1報). 釀造學雜誌, **6**, 717(1929)
10. 이두영 : 한국 곡자의 발효 생산력에 관한 연구(제1보), 곡자 중 함유 사상 균의 분리와 그 성상. 미생물학회지. **5**, 51(1969)
11. 신용두, 조덕현 탁주 발효에 있어서 발효 미생물군의 변동에 대하여 미생물학회지, **8**, 55(1970)
12. 이주식, 이태우 · 청주의 Microflora에 관한 연구. 미생물학회지, **8**, 116(1970)
13. 崔淑熙 : 韓國 麯子中의 黴菌學的 硏究. 成均館大 碩士學位 論文集, p.234(1961)
14. 全昊燮 韓國 麯子中의 細菌學的 硏究. 成均館大 碩士學位 論文集, p.292(1961)
15. 大邱朝鮮酒 酒造組合聯合會 : 麯子 製造講本, p.1(1941)
16. 小原嚴 : 朝鮮産 麯子に 關する 硏究(II), 糖化力の 强い 麯子の 製造試驗. 釀造學雜誌, **20**, 141(1942)
17. Atlas, R. M. : Handbook of microbiological media L. C. Parks(ed.), CRC Press, Boca Raton, p.280(1993)
18. The Brewing society of Japan : The annotation of the official method of analysis of the National Tax Administration Agency. 4th ed., Tokyo, p.218(1993)
19. 국세청 기술 연구소 주류 분석 규정. 서울, p.181(1973)
20. Chaplin, M. F. and John, F. K. : Carbohydrate Analysis : A Partical Approach. 2nd ed., Oxford University Press, p.224(1994)
21. 小泉 武夫, 鈴木 明治 : *Aspergillus oryzae*によるアルコール類の生産について. 醱酵工學, **56**, 222(1978)
22. 鈴木 昌治, 米山 平, 小泉 武夫 : 淸酒香氣の强弱に對する米麴の效果. 醱酵工學, **58**, 171(1980)
23. 鈴木 昌治, 米山 平, 小泉 武夫 : 米麴から淸酒香氣の前驅物質の分別について. 醱酵工學, **58**, 377(1980)

(1997년 7월 7일 접수)