

酒類生産을 위한 菌株開發과 바이오리액터의 利用

I. 서론



이 상 필

〈산업기술정보원 생명과학부장〉

양조란 곡물 등과 같은 원료에 미생물이 생육하여 원료물질을 발효·숙성시킴으로써 청주, 소주, 와인 등의 주류, 간장, 된장, 식초, 아미노산 등과 같은 발효산물을 만드는 것을 의미한다. 인간은 이미 수천년전부터 주류 및 장류를 제조하여 식품으로서 사용하여 왔으며 인간에게 있어서 양조산업은 필수불가결한 산업이기 이전에 생활 그 자체였다고 말할 수 있을 것이다.

원시사회에서 문명사회로 이전되는 과정에서 인간은 우연히 발견한 미생물을 경험에 기초하여 인간의 목적에 부합되게끔 이용함으로써 유용한 물질을 얻어왔고 수천년에 걸친 조상들의 경험이 쌓여 각 나라별, 각 민족별로 각기 다른 특징을 가진 고전적인 양조산업이 형성되었을 것으로 추측된다. 19세기에 파스퇴르가 「양조과정인 발효는 미생물의 작용에 의한 것」이라는 것과 뷰허너에 의해 「발효의 출발점이 효소」라는 사실이 밝혀짐에 따라 고전적인 양조산업은 자연중에 존재하는 미생물들이 가지고 있는 기능을 과학적으로 분석하여 인간의 목적에 맞게끔 이용하는 근대적인 양조산업으로 변모하게 되었다.

1973년 미국의 코헨과 보이어에 의해 DNA의 구조를 자유자재로 설계, 제작할 수 있는 유전자재조합기술이 개발되어 생물, 특히 양조

■ 目 次 ■

- I. 서론
- II. 유용균주의 개발
- III. 바이오리액터의 이용
- IV. 결론

산업에서 가장 중요한 위치를 차지하고 있는 미생물을 분자수준에서 인위적으로 조작·제어함으로써 인간에게 유용한 각종 미생물의 대사산물들을 보다 효율적으로 생산할 수 있게 되었다.

최근 유전자재조합기술, 세포융합기술, 조직배양기술과 생물반응기 이용기술 등 4가지 기술이 뉴바이오테크놀로지의 근간기술로서 각광을 받고 있는데, 이 4가지 신기술 중에서 주류산업에 가장 활발하게 이용되고 있는 것은 새로운 균주개발을 위한 유전자재조합기술 및 세포융합기술과 주류제조에 이용되는 이용균주 및 이들이 생산하는 효소를 고정화시키는 바이오리액터 이용기술이다. 그래서 본고에서는 유전자재조합과 세포융합기술을 이용하여 청주, 소주, 맥주 등의 주류생산에 유용한 신규 균주개발 및 바이오리액터 이용에 관한 연구가 가장 활발히 진행되고 있는 일본에서의 실태 중심으로 정리해 보았다.

II. 유용균주의 개발

주류산업에서는 누룩제조용인 *Aspergillus* 등의 麹菌과 *Saccharomyces* 등의 양조용 효모가 가장 널리 이용되고 있는 미생물이다. 麹菌에 대한 유전자해석과 이종 단백질의 생산에 관해서도 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직 실용화된 사례는 거의 없는 실정이다. 주류제조시 주된 역할을 담당하는 효모에 대해서는 세포융합기술을 이용한 균주개발이 이루어져 왔으나 세포융합기술을 적용시키면 염색체 전체가 융합되기 때문에 목적 이외의 유전자도 도입되는 경우가 많고, 또한 양조용 효모는 高次 倍數體이므로 변이처리에 의한 균주개발이 매우 힘들었다. 그러나 목적으로 삼은 유전자만을 분리하여 시험관내에서 재조합시키는 유전자재조합기술이 개발되면서 신규 양

조용 효모의 육종이 비약적으로 발전하게 되었다. 여기서는 최근에 실제로 생산에 적용되었거나 또는 그 연구결과에 관심이 집중되고 있는 사례에 관해서 정리해 보았다.

1. 글루코아밀라제를 生産하는 形質轉換 酵母

글루코아밀라제(Glucoamylase : EC 3.2.1.3)는 基質인 전분을 비환원성 말단으로부터 분해하여 글루코스를 생산하는 효소로서 글루코스과 에탄올을 생산하기 위한 전분의 당화공정에 널리 이용되고 있다. 이 중에서도 *Rhizopus*속 곰팡이가 생산하는 글루코아밀라제는 *Aspergillus*속이나 *Bacillus*속의 미생물들이 생산하는 것에 비해 전분 분해능력이 강하고, 특히 생전분 분해능력이 뛰어나 전분을 원료로 사용하는 無蒸餾法 또는 低溫蒸餾法에 의한 알코올의 생산에 사용되고 있다.

그러나 *Rhizopus*속의 글루코아밀라제는 코오지식 배양에 의해서만 높은 활성이 나타나며 효소의 대량생산을 위한 탱크배양이 가능한 액체배양에는 부적합하여 효소의 생산단가, 나아가서는 알코올의 생산단가가 높아진다는 문제점을 안고 있었으며 한편으로는 *Rhizopus*속 곰팡이는 글루코아밀라제를 생산할때, 단백질 분해효소인 프로테아제도 함께 생산하기 때문에 생산된 글루코아밀라제가 일부가 프로테아제에 의해 분해되어 생전분 분해능력을 잃어버리게 된다는 문제점도 있었다.

일본 산토리社의 Ashikara는 이상과 같은 문제점을 해결하기 위한 연구에 착수하여 1984년부터 일본공개특허, 유럽특허, 학술문헌 등을 통하여 *Rhizopus oryzae* 유래 글루코아밀라제의 유전자 클로닝, 염기서열의 결정, 분리된 글루코아밀라제 유전자를 함유한 발현용 재조합벡터의 제작, 재조합벡터에 의한

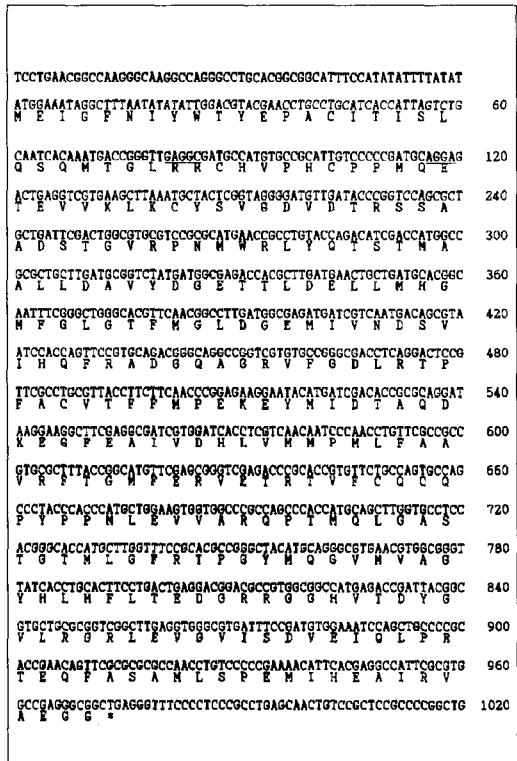
숙주 효모 *Saccharomyces*의 형질전환, 형질 전환 효모에 의한 *Rhizopus oryzae* 유래의 글루코아밀라제의 대량발현 등에 관한 연구 실적을 발표하였다. 산토리社는 먼저 발현용 재조합벡터를 보유하고 있는 효모 숙주를 액체 배양하여 *Rhizopus*속 유래의 글루코아밀라제를 생산하거나 혹은 생전분으로부터 직접 알코올을 생산하는 방법을 개발하였다. 그러나 이 방법은 *Rhizopus*속 글루코아밀라제의 유전자를 함유한 벡터가 숙주 효모의 염색체 외에 존재하기 때문에 형질전환된 숙주 효모가 불안정하여 *Rhizopus*속 유래의 글루코아밀라제 유전자를 숙주 효모의 염색체에 삽입시킴으로써 이와같은 문제점을 해결하였다. 이 연구에서 글루코아밀라제의 생산량은 효모의 염색체에 삽입된 글루코아밀라제의 복제수에 따라 비례하였으나 알코올 생산량은 반드시 글루코아밀라제의 생산량에 비례하지 않았다. 이것은 전분으로부터 알코올을 생산하는데 있어서 전분의 당화에 필요한 글루코아밀라제의 양은 2 unit/ml 정도인데 글루코아밀라제의 생산량이 이 이상으로 증대하면 숙주인 효모 자체의 알코올 발효능력이 저하되기 때문이다. 결과적으로 *Rhizopus*속 유래의 글루코아밀라제 유전자로 형질전환시킨 효모로 글루코아밀라제 자체만을 대량으로 분비생산시킬 경우에는 복제수가 많은 형질전환주를 사용하고 생전분으로부터 직접 알코올을 생산하는 경우에는 복제수가 낮은 형질전환주를 사용하는 것이 좋은 결과를 나타내었다.

2. 다이아세틸 生成量이 적은 形質轉換 酵母

맥주 未熟臭의 원인물질인 다이아세틸 (diacetyl)은 아이소루신 (isoleucine) - 발린 (valine) 생합성경로의 중간체인 알파-아세토

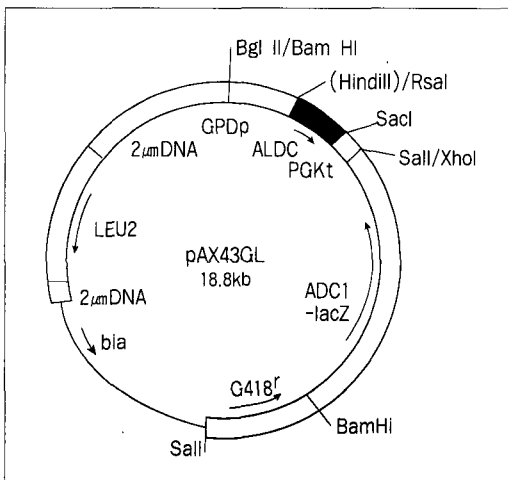
락테이트(α -acetolactate)로부터 생성된다. 그래서 알파-아세토락테이트를 아세토인 (acetoin)으로 변환시키는 효소인 알파-아세토락테이트 디카르복실라제(α -acetolactate decarboxylase ALDC)의 유전자를 맥주효모에 도입시킴으로써 알파-아세토락테이트의 생산량이 적은 효모를 육종하는 것이다.

즉, 일본 키린양조社의 Yamano 등은 ALDC 효소를 생산하는 초산균 *Acetobacter aceti* ssp. *xylinum*으로부터 cosmid 벡터 pJB8에 유전자 라이브리를 만들어 대장균내에서 자체 프로모터로 발현시켜 ALDC 활성을 측정함으로써 ALDC 유전자를 분리하였다. 이 ALDC 유전자는[그림 1] 304개의 아미노산으로 이루어진 단백질을 코드화하고 있었으며 분자량은 33,747이었다. 분리된 ALDC 유전자의 ORF



[그림 1] ALDC 유전자의 염기서열
-아랫실선은 추정 RBS, *는 정지코드임.

(Open Reading Frame)를 GAPDH (glycer-aldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 유전자의 포로모터에 연결시켜 재조합 플라스미드 [그림 2]를 만들어 양조용 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*를 형질전환시킴으로써 다이아세틸 생성량이 적은 형질전환 효모를 얻을 수 있었으며, 또한 *Acetobacter acetii* ssp. *xylimum*으로부터 얻은 ALDC 유전자를 숙주 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*의 염색체 유전자에 삽입시키는 데에도 성공하였다. 얻어진 형질전환 효모로 양조한 맥주의 경우 발효 종료후의 다이아세틸량이 감소되어 신규 설비투자를 하지 않아도 30일간이나 소요되던 맥주의 숙성기간이 10일로 단축되었다. 일본의 키린양조사와 영국의 Brewin's Research Foundation International(BRFC)는 공동으로 파이트트 생산실험에 성공하여 관련업계의 관심을 끌고 있다.



[그림 2] 발현벡터 pAX43GL

-검은부분은 pBR322 염기서열. GPDp는 GPD 프로모터. PGKt는 PGK 터미네이터.

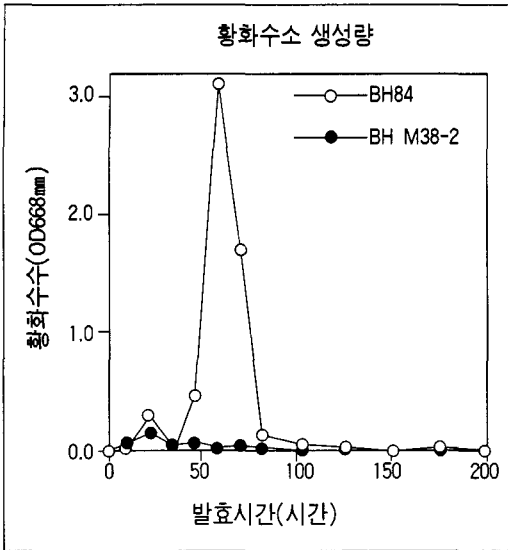
3. 황화수소 생성량이 낮은 형질전환 효모

1970년대 다이아세틸과 마찬가지로 맥주의

未熟臭의 원인물질인 황화수소의 생산량을 낮추기위한 기초연구와 돌연변이법이나 세포융합법을 이용한 신규효모의 육종에 관한 연구가 이루어졌으나 이들은 대부분 효모의 황화수소 생성량만 감소시키는 것이 아니라 맥주의 향미나 발효속도 등과 같은 효모의 다른 양조특성에도 나쁜 영향을 미치기 때문에 맥주양조에 적합하면서도 황화수소의 생성량이 낮은 새로운 균주개발에 어려움을 안고 있었다. 양조효모인 *Saccharomyces cerevisiae*는 균체내에서 메티오닌이나 시스테인을 생합성할 때, 배지중이나 맥아즙중의 황산이온(SO_4^{2-})을 환원시켜 황화수소를 만들고, 이 황화수소는 MET25 유전자의 산물인 *o*-아세틸호모세린 설프하이드릴라제(*O*-acetylhomoserine sulfhydrylase)라는 효소에 의해 호모시스테인이나 시스테인으로 합성된다. MET25유전자의 발현은 배지중의 메티오닌에 의해 억제되는 것으로 알려져 있다.

일본의 산토리사는 *Saccharomyces cerevisiae*의 염색체 DNA로부터 MET25 유전자를 PCR법에 의해 증폭·분리해 내고 이 구조유전자의 상류영역에 효모에서 구성적으로 발현할 수 있는 유전자인 GAPDH 유전자의 프로모터를 삽입한 재조합플라스미드를 작성하였다. 얻어진 재조합플라스미드로 형질전환된 효모 균주는 MET25 유전자를 구성적으로 발현시켰으며 맥주양조에 실제로 적응시킨 결과, 육종 균주(BH M38-2)에서는 황화수소의 생성량이 원래 균주(BH84)의 2%에 불과하였다 [그림 3]. 이 신규 형질전환 효모를 이용하여 맥주를 제조하면 맥주중의 메티오닌에 의한 억제를 받지 않아 맥주발효의 전공정에서 *o*-아세틸호모세린 설프하이드릴라제가 효모 균체내에서 대량으로 발현되기 때문에 발효과정에서 발생하는 황화수소는 이 효소의 기질로 재빨리 소비되어 황화수소의 생성량 및 맥주

중의 황화수소 농도가 매우 낮아지게 된다.



[그림 3] 맥주발효중의 황화수소 생성량 추이

4. 芳香성이 우수한 燒酒 製造用 細胞融合 酵母

현재 일본에서 청주의 경우는 추운 지방에서 겨울철에 제조되고 있는데 이것은 청주 제조시에는 미생물 관리에 유의하지 않으면 잡균오염이 일어날 가능성이 크기 때문이다. 그리고 소주는 구주지방의 남쪽이나 오키나와 등과 같이 더운 지방에서 제조되고 있는데 부패를 방지하기 위해서 구연산을 생산하는 麴菌을 사용하거나 내산성을 가지거나 고온발효성이거나 발효속도가 빠른 효모를 사용한다.

청주제조에 사용되는 효모는 아세틸트랜스퍼라제(acetyltransferase)의 활성이 강하여 과실향의 성분들(초산아이소아밀이나 카프론산 에틸 등)을 많이 생성하지만 소주제조에 사용되는 효모는 아세틸트랜스퍼라제의 활성이 약해 거의 향기가 없는 소주가 제조되어 왔다. 최근에 일본 최대의 소주산지인 쿠마모토현에서 소주제조용 효모와 청주제조용 효모의 특

성을 함께 가진 새로운 세포융합주(내산성이 있고 고온발효가 가능하고 발효속도가 빠르며 향기가 뛰어난)를 소주생산에 실제로 적용함으로써 좋은 성과를 거두고 있어 관련업계의 관심을 모으고 있다.

쿠마모토현 공업기술센터는 청주제조용 효모와 소주제조용 효모 2가지를 인공돌연변이제인 에틸메탄설포네이트(ethyl methanesulfonate)로 변이처리하여 라이신 요구성 변이주와 각종 영양요구성주를 얻었으며 호흡결손주는 에티디움브로마이드(ethidium bromide)로 변이처리하여 분리하였다. 세포융합은 통상적인 방법에 따라 세포수 $10^7 - 10^8$ 개/ml의 농도로 선택 마커를 가진 효모 현탁액을 조제하고, 이들을 세포벽 용해효소가 함유되어 있는 원형질체 조제액으로 처리한 후, 2가지의 원형질체를 동량으로 혼합한다. 혼합제로서 30% PEG 6000을 사용하여 세포융합을 실시하고 이것을 최소한천배지에서 배양하여 마커를 이용하여 융합주를 분리한다. 얻어진 신규 세포융합 효모를 이용하여 시험양조를 실시한 결과, 소주제조공정에 있어서 높은 알코올 수율을 나타내면서 청주용 효모가 가지는 우수한 방향성도 동시에 나타내어 향기가 풍부한 부드러운 타입의 소주가 제조되었다.

Ⅲ. 바이오리액터의 이용

바이오리액터라는 용어는 생물반응기라고 번역되고 있는데 넓은 의미로는 미생물의 균체 및 소기관이나 생물체가 생산한 효소를 이온교환수지, 다공성 유리, 카라기난, 한외여과막, 키토산 등의 담체에 고정화시켜 생체촉매로서의 재사용이 가능한 반응기라는 의미로 풀이될 수 있다.

바이오리액터는 1969년 일본의 와타나베계약에서 D, L-아미노산 라세믹 혼합물을 광학

분할시킬 수 있는 아미노아실라제(aminoacylase)라는 효소를 고정화하여 L-아미노산 광학분할에 적용시킨 것이 세계 최초의 실용화 사례라고 볼 수 있다. 이 이후에 일본의 제약회사나 식품회사들을 중심으로 바이오리액터의 실용화 연구가 집중적으로 이루어져 한 때 뉴욕의 증권가에서 미국의 "A"란 제품이 유전공학에 의해 만들어졌으면 일본의 "B"라는 제품은 바이오리액터에 의해 만들어졌다는 말이 유행될 정도였다.

주류생산에 있어서 바이오리액터가 이용되고 있는 것은 맥주제조와 청주제조에 집중되어 있으며 와인제조에서는 거의 실용화된 사례가 없다고 해도 과언이 아니다. 그래서 여기서는 바이오리액터 분야의 연구개발을 주도하고 있는 일본에서의 실용화 사례를 중심으로 정리해 보았다.

1. 麥酒

맥주양조에 있어서 생산공정의 최적화란 주발효에 이르기까지의 발효속도를 빠르게 하고 균형잡힌 향기성분을 실현시키는데 있다. 종래의 기술에 의한 생산성 향상법으로는 탱크를 대형화하여 배치당 제조량을 증가시키는 것과 고농도의 기질(맥즙)을 발효시킴으로써 제조설비를 경량화시키는 것이 일반적이었다. 1970년대에는 고온발효, CSTR(Continuous Stirred-tank Reactor)를 이용하여 발효기간을 단축시키는 연구가 시도되었으나 실용화 단계까지는 이르지 못하였으나 1980년대부터는 바이오리액터를 이용한 맥주의 제조에 관한 연구가 활발히 전개되어 바이오리액터에 의한 맥주의 생산이 실현되었다.

맥주의 발효공정은 주발효공정과 후발효공정으로 나누어지는데 주발효공정에서는 주로 알코올이 생성되는 동시에 맥주 품질을 좌우

하는 에스테르, 고급알코올 등의 발효대사 부산물도 함께 생성된다. 맥주발효에서 균형잡힌 향기성분을 형성하기 위해서는 통상 8~10°C의 비교적 저온에서 약 1주일간의 발효과정이 필요하다. 후발효공정은 대표적인 불쾌취성분인 다이아세틸의 제거가 가장 큰 목적인데 통상 1개월이 걸린다. 다이아세틸은 제1장 균주 개발에서 전술한 바와 같이 주발효공정에서 효모의 증식에 수반되는 발린생합성경로의 중간 대사산물로서 생성되는 알파-아세토락테이트가 전구물질이 된다.

최근 일본의 키린양조社에서 맥주발효의 토탈시스템으로서 주발효 부분과 후발효 부분을 합친 3조식 시스템[그림 4]을 개발하여 업계의 관심을 모으고 있다. 제1조는 CSTR로서 효모의 증식을 촉진시키기 위해 약간의 통기를 실시하고 있으며 체류시간은 약 24시간이다. 제1조에서 증식한 효모는 원심분리기로 제거한 후, 연속적으로 제2조인 고정화 효모의 PBR(Packed-bed Reactor)에 공급된다. 제2조의 체류시간도 약 24시간인데 여기까지가 주발효공정에 속하게 된다. 주발효공정이 완료된 발효액은 효모가 자화할 수 없는 알파-아세토락테이트를 제거하기 위해 열처리공정을 거치게 되는데 알파-아세토락테이트는 대부분 무취의 아세트인으로 남거나 다이아세틸로 변환되며 열처리 시간은 70°C~90°C에서 3~20시간이 걸린다.

고정화 담체로서 기계적 강도가 높은 다공성 유리 또는 세라믹을 사용하는데 담체의 효모균체 고정화 능력은 담체 중앙에 있는 구멍의 직경에 의존한다. 하루 10kl 생산규모의 파일롯트 트랜트를 건설하여 6개월간 발효성을 검토한 결과, 조작성, 온도조절 등이 양호하였으며 맥주의 품질도 만족할만한 수준이었다. 이 시스템을 채택한 하루 500l 규모의 소규모 생산설비가 사이판에 설립되어 현재 가동

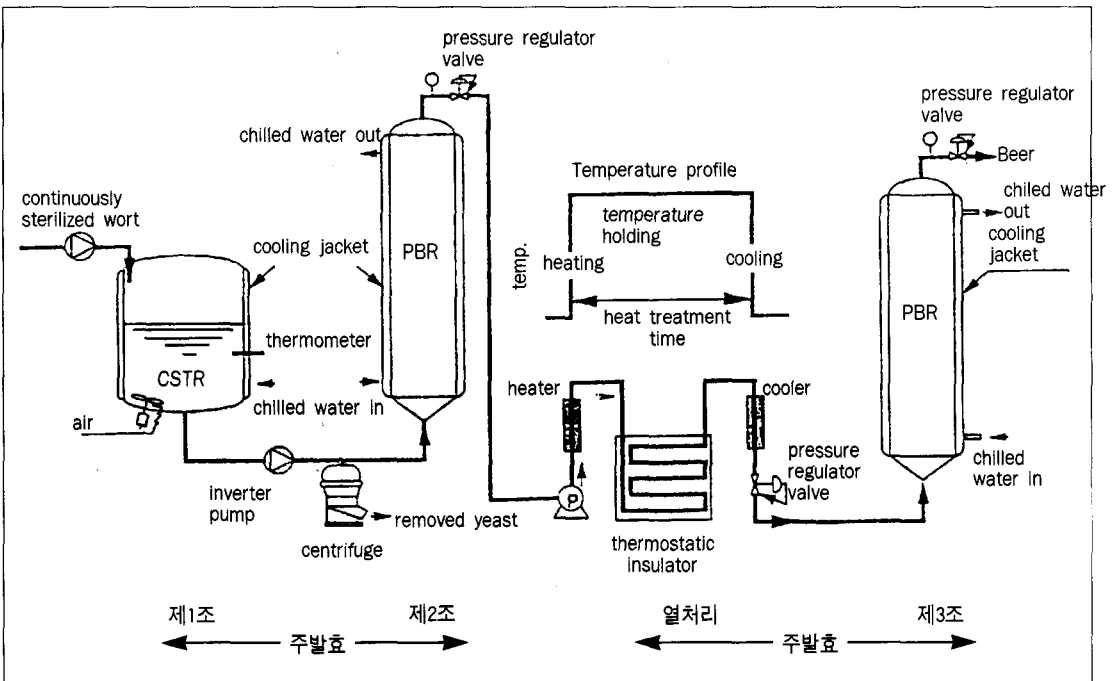
중에 있다.

2. 淸酒

청주제조공정의 합리화, 제조원가의 절감과 품질을 일정하게 유지하기 위한 술덧의 관리를 위해 지금까지 많은 연구가 이루어졌지만 청주의 양조는 한가지의 술덧에서 蒸米의 당화와 효모에 의한 발효가 동시에 이루어지는 「並行複醱酵」라는 방식이어서 공정 합리화 및 제조원가 절감을 달성하기에 어려움이 있었다. 1992년에 일본의 청주효모연구회에서 술덧의 당화와 발효를 분리한 「糖化後 醱酵法」이라는 새로운 연속식 청주양조법이 제안되었으나 종래의 청주에 비해 알코올 농도가 낮고 香味가 달라지는 문제점이 있었다.

최근 일본의 최대 청주회사인 오제키社は 바이오리액터를 이용한 새로운 청주제조법을

발효하여 관련업계의 관심을 모으고 있다. 즉, 발효력이 다른 효모를 고정화시켜 발효 탱크의 내부 및 외부에 설치하고 이 사이로 술덧 여과액을 순환시킴으로써 술덧에 효모를 첨가하지 않고 술덧 여과액만을 발효시킴으로써 청주를 제조할 수 있는 연속식 청주제조시스템이다. 효모의 고정화방법으로는 포괄법, 흡착법, 혹은 결합법 등이 있으나 여기서는 대량의 효모를 고정화시키고 고정화한 효모가 담체로부터 유출되는 것을 최소화 하기위해 포괄고정법을 채택하였다. 이 시스템은 유용한 물질을 대량으로 생산하지만 발효력이 약하다는 결점을 가진 효모를 사용하여 주류의 양조를 실시하는 경우에 고농도의 알코올 생산에 의해 술덧의 오염을 막고 유용물질을 다량으로 함유하며 품질이 뛰어난 주류를 생산할 수 있다. 또한 양조주로서는 매우 높은 농도의 알코올을 생성하는 병행복발효식의 청주 양조를



[그림 4] 바이오리액터를 이용한 3조식 맥주양조 시스템

실시하는 경우에 당화와 발효를 분리함으로써 공정을 합리화하여 반복해서 양조가 가능하여 원료 이용율을 높일 수 있다는 장점을 가지고 있다.

한편 일본의 하쿠쓰루슈조社에서는 작년 1월에 고정효소를 이용한 청주의 제조방법에 관한 일본공개특허를 출원하였는데 청주중의 风味成分의 농도를 증가시킴으로써 청주의 맛을 개선한 신기술로서 평가되고 있다. 청주중의 风味成分은 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 예를 들면 글루코스는 甘味, 아미노산은 旨味, 유기산류는 酸味에 관여하는데 이외에도 청주에 함유되어 있는 각종 물질들이 상호작용에 의해 복잡한 맛을 형성하게 된다.

지금까지 청주중의 글루코스 양을 증가시키기 위해서 생주를 火落시키지 않고 저장하거나 청주중에 당화효소를 보충하는 방법들이 이용되어 왔으나 저장온도를 장기간 저온으로 유지하는 경우에는 잡균의 오염이 발생하고 고온에서 반응시키는 경우에는 청주 자체의 품질저하가 발생한다는 문제점이 있었다. 하쿠쓰루슈조社에서 개발한 신기술은 감미성분의 주성분인 글루코스나 지미성분의 주성분인 아미노산 또는 펩타이드의 함량을 증가시키기 위해 수지 냄새가 나지 않고 청주 색도의 상승이 일어나지 않는 세라믹 담체에 글루코아밀라제나 엔도 또는 엑소 타입의 프로테아제를 고정화시켜 컬럼에 충전한 후, 상조후의 청주를 고액분리시켜 고정화효소의 칼럼에 통과시킴으로써 청주중의 风味成分을 조정하여 목적에 맞는 주질의 청주를 생산할 수 있다. 또한 이 시스템은 고정화 효소를 사용하기 때문에 경제적으로 유리하고 온도, 유속 등의 반응조건도 목적에 맞게끔 설정할 수가 있어 단시간에 효율적으로 균형잡힌 香味를 가진 우수한 酒質의 청주를 일정하게 생산할 수가 있어 청주제조에 있어서 그 응용이 기대되고 있다.

IV. 결론

이상과 같이 주류제조에 있어서 유용균주의 개발을 위한 유전자재조합기술 및 세포융합기술과 주류제조공정의 개선을 위한 바이오리액터 이용기술에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이들 연구결과를 바탕으로 실용화가 착실히 이루어지고 있다는 것을 알 수 있다. 그러나 주류제조 분야에서는 주류제조공정의 다양성 및 복잡성과 뉴바이오테크놀로지를 적용한 제품에 대한 법적규제 등으로 인하여 다른 생명공학 분야에 비해 이른바 뉴바이오테크놀로지의 적용이 아직은 뒤떨어져 있는 실정이다.

최근 미국, 영국 등의 구미 선진국에서는 뉴바이오테크놀로지를 적용한 신제품들이 속속 상품화되고 있어 머지않은 장래에는 국내외에서 주류산업 전반적으로 뉴바이오테크놀로지의 적용이 보편화될 것으로 전망된다.

[참고문헌]

1. 森本圭一, BIO INDUSTRY, 11(8), p.14~15, 1994.
2. 井上喬, 日本農藝化學會誌, 70(6), p.677~679, 1996.
3. 日經バイオテック社, 「日經バイオ年鑑 '97」
4. T. Ashikara et al., Appl. Microbiol. Biotechnol., 30(5), p.515~520, 1989.
5. Suntory, 일본공개특허 63-245664(1989. 10. 12)
6. Suntory, 일본공개특허 62-158481(1987. 7. 14)
7. Suntory, 유럽특허 0185327(1986. 6. 25)
8. T. Yamano et al., J. Biotechnol., 32(2), p.165~171, 1994.
9. T. Yamano et al., J. Biotechnol., 32(2),

p.173~178, 1994.

10. Kirin Brewery, 유럽특허 0339532(1989. 11. 2)

11. Suntory, 일본공개특허 07-303475(1995. 11. 21)

12. Gekkeikan, 일본공개특허 08-23954(1996. 1. 30)

13. Kumamoto Ken, 일본공개특허 06-14766(1994. 1. 25)

14. 森明彦, BIO INDUSTRY, 13(11),

p.36~45, 1996.

15. 内山芳弘, Biosci. & Bioind., 53(4), p.29~32, 1995.

16. Ozeki, 일본공개특허 07-67614(1995. 3. 14)

17. 廣常正人 등, 日本生物工學會誌, 72(1), p.21~31, 1994.

18. Hakutsuru Shuzo, 일본공개특허 09-23873(1997. 1. 28)

You've got to learn to survive a defeat. That's when you develop character.

패배를 극복하는 법을 배워야 한다. 그럴때에 당신의 인격이 향상된다.

- Richard M. Nixon -