

白麴菌 *Aspergillus kawachii* Kitahara 의 生態學的 研究

李 斗 永

(韓國醱酵化學研究所)

The ecological studies on *Aspergillus kawachii* Kitahara.

Lee, Doo Young

(Korean Fermentation Chemistry Institute)

ABSTRACT

This study has been aimed to determine the ecological factors with relationship to the Jongkok production in view of fermentation technology by means of some strains, *Asp. kawachii*, which is now preserved by the author and the following factors are included during the study; inorganic salts, nitrogen, sugar, water contents and temperature. The results are as follows:

(a) Sugar among other above-mentioned factors is increasingly affecting the number of the short type of conidiophore on culture medium and the conidiophore is increased by direct ratio until glucose concentration of 50%, at which concentration is mostly effective for the short type of conidiophore, while other factors did not affect on it.

(b) Until glucose concentration of 50% sugar component of culture medium is favorable for the spore formation of *Asp. kawachii* by direct ratio. And peptone or asparagine on nitrogen medium, calcium-phosphate among other inorganic salts, wheat bran and rice bran are also favorable, but other factors mentioned earlier show no relationship with the spore formation.

Sugar, however, also related with the spore color clearness of crimson and light brown, and spore color is mostly clear at the point of glucose concentration until 50%. And asparagine on nitrogen medium, calcium phosphate among other inorganic salts, rice bran did all affect on the color clearness, while other factors did not concern with color clearness.

(c) Water, sugar and temperature have related with the acid formation which is promoted by direct ratio at the point of water-saturated condition and glucose concentration of 50%, while temperature at 25°C favorably affected on the acid formation which is increased by inverse ratio at the temperature 25°C to 45°C. And pH did not relate with the acid formation.

(d) Cylindrical plate method devised by the author is mostly favorable for the preservation and isolation of culture, compared with the traditional slant medium method.

緒 論

種麴의 生産 및 種麴에서 主動役割을 하는 微生物들의 生物學的 研究는 日本에서 크게 發展되었으며 또 이들을 利用하는 醱酵工業도 最近에 크게 進展되어 왔다.

그래서 酒精製造를 비롯하여 酒類 및 調味料製造

等에 利用되는 種麴 또는 이 種麴의 微生物들이 特有하게 分化되고 目的에 따라 專門化되어 왔고 또 매우 많은 種類의 種麴이 生産되어 育成되어 왔다. 日本에서는 黃麴菌으로서 Kon-No-Moyashi, Hi-Guchi Moyasi 등이 있고 黑麴菌으로서는 Jojiya, Ito, Maruno 등이 있으며 白麴菌으로서는 Kawachii, Usami 등이 各各 特徵 있게 育成되었다.

그런데 우리 나라에서는 酒類製造에 麴子(가래)가 오래 전부터 利用되어 왔고 간장 된장製造에 메주가 直接 利用되었는데 이 醱酵에 關聯하는 微生物들은 自然汚染에 依存하였으므로 醱酵工學的인 見地에서 볼 때 不合理的인 면이 많다고 할 수 있다.

1920年頃 日本産 種麴을 우리나라에 導入하여 酒類 또는 간장, 된장 등 調味料製造에 使用하기 始作하였다. 그래서 1930年頃에는 燒酒製造에 麴子단으로 製造하던 것을 麴子和 種麴을 併用하기 始作하였고 나아가서는 種麴만으로도 製造하게 되었다. 이 種麴들도 처음에는 黃麴으로 燒酒를 製造하던 것이 漸次 黑麴으로 轉換되었다. 藥酒製造는 주로 麴子로 製造되던 것이 黑麴의 變異種인 白麴菌으로 轉換되었으나 極히 一部の 製造者に 限하였다.

우리나라 사람의 種麴製造는 筆者가 1934年 始作한 것이 처음이며 “鮮滿種麴”의 商品名으로 市販되었다. 이것도 처음은 黑麴菌이었으나 1945年부터 그 變異種인 白麴菌으로 轉換되었다. 그러나 우리나라에서 醱酵工業에 利用되고 있는 醱酵微生物들은 日本에서 日本特有的 醱酵工業에 利用되었던 育成된 것이며, 우리 나라 固有의 醱酵工業에 반드시 適合하다고 할 수는 없으며 또 우리나라 固有의 麴子の 醱酵微生物들은 아직 野生種이며 各各 그 目的에 合致되도록 育成되어야 하며 또 醱酵工學的인 見地에서 醱酵에 關係되는 諸要因들이 究明되어야 할 것이다.

다음 醱酵工業에 關係되는 種麴 또는 麴子の 主要微生物들은 *Aspergillus* spp. 또는 *Rhizopus* spp. 들이며 이들의 主要役割은 amylolytic enzyme 들을 分泌하여 多糖類를 液化하고 또 糖化하는 것이다. 이들 微生物들이 가장 合理的으로 發育할 수 있는 要因과 위의 酵素들이 合理的으로 生成되고 또 合理的으로 各各 그 醱酵過程에서 作用할 수 있는 要因들은 各各 特有的 것이며 이 要因들이 究明되어야 하겠다. 本 菌株는 筆者가 1938年 日本鹿兒島市에서 Kawachi (河内)로부터 直接 入手한 것을 現在까지 繼續하여 糖化力이 강한 것을 選拔해 온 것으로 Kitahara (北原, 1949, '50, '52)가 種으로 成立시킬 때의 記載에 比하여 conidiophore 의 길이가 原記載에는 400~750 μ 인데 筆者의 strain 은 680~730 μ 이고 또 糖化力도 Kitahara 의 strain 4.5에 比하여 17%가 더 增加되어 生理學的 및 醱酵工學的인 見地에서 볼 때에 性能이 向上된 것으로 믿는다.

Aspergillus kawachii Kitahara 는 1927年頃 日本南部 鹿兒島地方에서 Kawachi 가 中酸性 黑麴菌에서 灰白色 變異種을 發見한 것이며 Kawachi 에 依하던 母菌黑麴菌에 比하여 製麴이 容易하고 특히 高구나로 燒酒를 製造할 때 適合하며 高구나 樹脂物의 分解力이 強하다고 하였다. 또 Kawachi 는 形態學的으로 母菌인 黑麴菌에 比하여 색깔만 다르고 大體적으로 同一하다고 하였는데 그러나 其他 生物學的인 면에서 不明한 點이 많다.

1949年부터 1952年까지 이 酒精 및 酒類工業에 重要한 Kawachii 菌이 Kitahara 에 依하여 많이 研究되었다. Kitahara ('49, '50, '52)는 Kawachi 로부터 本菌과 母菌을 얻어 다른 黑麴菌들과 形態的 및 生化學的으로 比較檢討하여 本菌을 1新種으로 記載하고 *Aspergillus kawachii* nov. sp. 로 命名하였다. 또 Kitahara 는 本菌의 分類學的인 研究에 生化學的인 方法이 妥當함을 提言하여 왔다. 그(1950)에 依하던 酒類製造에 利用되는 菌株 3種을 enzyme system 에 있어서 이 kawachii 菌과 比較하여 다음과 같은 特徵을 發表하였다. 即

黃麴菌 : α -amylase 와 β -amylase 가 主體

黑麴菌 : β -amylase 와 maltase 가 主體

Amylo 菌 : β -amylase 가 主體이고 α -amylase 및 maltase 는 매우 微弱함.

Kawachii 菌 : α -amylase, β -amylase 및 maltase 共히 強함.

위에서 黃麴菌은 *Asp. oryzae*, 黑麴菌은 *Asp. awamori* 이고 Amylo 菌은 *Rhizopus japonicus* 이다.

또 kawachii 菌은 Kitahara 가 保存한 *Aspergillus kawachii* Kitahara 이다.

또 그(1950)는 本 *Asp. kawachii* 가 中酸性黑麴菌에서 mutant type 로서 由來되었다고 하는 Kawachii 의 說을 生化學的인 即 enzyme system 上으로 妥當性을 強調하였다. 그러나 이 中酸性黑麴菌의 記錄이 不明하다. 그리고 그는 이 kawachii 菌이 *Asp. awamori* group 에 屬한다고 主張하고 있으며 따라서 *Asp. awamori* 에서 中酸性黑麴菌이 由來되었고 다시 이 中酸性黑麴菌에서 *Asp. kawachii* 가 形態的 및 生化學的으로 研究되어 分類學的으로 分化되어 온 由來 등에 對하여는 많은 進展이 있었으나 醱酵工學的인 見地에서 條件에 따르는 發育 등에 對하여는 그 報告가 稀貴하다.

筆者는 이 點을 考慮하여 *Asp. kawachii* 의 한 strain 의 發育과 環境과의 關係를 研究하여 그 結果를 報告코져 한다.

實驗材料 및 方法

本實驗에 使用한 菌株은 其特徵이 다음과 같다. 麥芽汁 寒天培地에 上的 菌叢은 黃土色, 菌絲는 無色이고 septum 이 있고 幅은 $4 \times 6 \mu$ 이고 conidiophore 의 着色部位에 厚膜인 foot cell 이 있다. conidiophore 에는 septum 이 없고 그 길이는 $680 \sim 780 \mu$ 이고 幅은 $8.0 \sim 13 \mu$ 이다.

Conidiophore 의 先端의 vesicle 은 球形이며 sterigmata 는 one-strip 이며 分枝하지 않고 棍棒狀으로 되어 先端이 더 크며 vesicle 에 規則的으로 整列되고 있다. vesicle 의 上部 3/4 에만 着色되어 있고 그 길이는 $7 \sim 12 \mu$ 이고 普通 8μ 程度이고 幅은 $2.5 \sim 4 \mu$ 普通 3μ 程度이다. vesicle 하나의 縱斷面에 sterigmata 가 普通 24 個 着生되고 있으며 많은 것은 $28 \sim 29$ 個 着生되고 있다. sterigmata 의 先端은 尖形이고 여기에 conidium 이 붙어 있다.

Conidium 은 球形이고 크기는 $3 \sim 4.5 \mu$ 이며 粗面이고 黃土色으로 着色되어 있고 成熟한 것은 棘面이 된다. 核은 아직 確認하지 못하였다.

Conidiophore 의 길이와 培養條件

醱酵工學的인 見地에서 短毛型이 有利하므로 短毛型과 培養條件을 調査하였다.

培養條件으로서는 無機鹽과 의 關係, N-源과 의 關係, 糖分과 의 關係 그리고 實際 醱酵工程과 原料의 條件을 考慮하여 米糠, 木灰 및 黴 等의 影響을 調査하였다.

(1) 無機鹽

(A) 精粟 各 20 gr 式을 물에 各各 14 時間 浸漬한 다음 건져서 60 分 두어 表面의 水分이 吸收된 後 各各 90 mm ϕ petri dish 에 넣고 常壓에서 60 分 蒸煮하고 여기에 無機鹽으로 NaCl 0.5% 溶液, KH_2PO_4 5% 溶液, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2% 溶液, NH_4NO_3 5% 溶液을 各 16 ml. 式 添加하고 吸收된 後 100°C 60 分 蒸煮하였다.

(B) 물 1,000 ml. 에 NaCl 9 gr. 을 溶解시켜 濾過한 것을 tube 에 3 ml. 式 넣어 123°C 26 分 殺菌한 것을 殺菌수로 供與하였다.

(C) 接種 및 培養方法은 tube 에 培養한 供試菌에서 孢子를 1 白金耳式 殺菌水試驗管에 넣어 spore suspension 을 만들어 위 A 의 各種 無機鹽의 溶液을 混合한 精粟培地에 各各 1 本式 注入 混合 接種하여 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

(2) N-源

Peptone 5%, urea 0.5%, asparagine, 3%, $(\text{NH}_4)_2$

SO_4 0.5% 各 溶液을 위의 (1)에서와 같은 蒸煮精粟에 各 16 ml 式 添加 混合하여 培地表面의 水分이 吸收된 後 다시 100°C 에서 60 分 蒸煮하였다. 이 處理培地에 供試菌의 孢子를 1 白金耳式 3 ml. 殺菌水 tube 에 spore suspension 3 ml. 을 만든 것을 接種하였다. 그리고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

(3) 糖 分

精粟 20 gr. 式을 glucose 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 및 60% 의 溶液에 各各 14 時間 浸漬한 後 건져서 1 時間 두어 各各 90 mm ϕ petri dish 에 담고 100°C 에 60 分間 蒸煮하고 여기에 上記의 各區 濃度의 糖液을 다시 各 區別로 各 16 ml. 式 添加하여 100°C 서 60 分間 蒸煮한 다음 spore suspension 을 3 ml. 式 接種하고 30°C 로 120 時間 培養하였다.

(4) 米糠, 木灰, 黴

精粟 20 gr 式을 위의 (1)과 같이 處理蒸煮한 다음 米糠, 黴는 各各 40 mesh 체로 欸粉을, 木灰는 참나무 재를 各各 1 gr. 式 위의 蒸煮精粟에 混合한 後 各區에 물 16 ml. 式 添加하여 잘 混合되게 한 다음 100°C 60 分 蒸煮하고 여기에 spore suspension 3 ml. 을 接種하고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

孢子生成 및 孢子的 色相과 培養條件

孢子生成量을 增加시키는데 適合한 培養條件을 알기 爲하여, 또 白種麴의 商品으로서의 評價에서 孢子的 色彩는 紅茶色인 것을 願하는 바 이 孢子的 色彩의 發現에 이면 培養條件이 適合한 가를 알기 爲하여 無機鹽의 影響, 糖分의 影響, N-源의 影響 및 米糠, 木灰 및 黴의 影響을 檢討하고자 企劃하였다. (本 表에 白米使用은 色相을 容易하게 區別 하려 하였음).

(1) 無機鹽

白米 各 20 gr. 式을 물에 14 時間 浸漬後 건져서 두고 表面水分이 吸收된 後 各 90 mm ϕ petri dish 에 담고 100°C 60 分 蒸煮한 다음 NaCl 2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5%, KH_2PO_4 5%, K_2HPO_4 5% 의 各溶液을 16 ml. 式 各各 넣고 다시 100°C 60 分 蒸煮한 後 위와 같이 處理한 spore suspension 3 ml. 式 接種하여 30°C 120 時間 培養하였다.

(2) N-源

Peptone 5%, urea 1%, asparagine 3%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.5% 各 溶液을 위 (1)과 같이 各各 만들고 蒸煮한 白米에 各各 16 ml. 式 添加 混合하여 表面의 水分이 吸收된 後 다시 100°C 에 60 分 蒸煮하고 위와 같이 spore suspension 을 接種하고 30°C 에서

120 時間 培養하였다.

(ㄷ) 糖 分

Glucose 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 各溶液에 白米 20 gr. 式을 14 時間 浸漬하였다가 진저서 白米表面의 水滴이 除去된 後 90 mm ϕ petri dish 에 各各 넣고, 100°C 에서 60 分 蒸煮한 後 다시 上記의 glucose 各 濃度の 糖液을 各 區別로 各 16 ml. 式 添加하여 100°C 에서 60 分間 蒸煮 後 위의 供試菌의 spore suspension 으로 接種하고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

(ㄹ) 米糠, 木灰 및 麩

米糠과 麩는 40 mesh 체로 친 細粉末을, 木灰는 참나무 재를 各各 1 gr. 式을 위의 (ㄱ)과 같이 處理된 白米에 混合하고 各各 16 ml. 式의 물을 添加하여 混合한 後 100°C 에서 60 分間 蒸煮하고 供試菌의 spore suspension 3 ml. 을 接種하고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

酸生成과 培養條件

醱酵工程에서 酸의 存在가 必要한데 이 酸의 生成量이 醱酵微生物의 環境條件에 따라 變化하여지므로 酸生成量과 培養條件과는 어떤 關係가 있는가를 알기 위하여 培地의 pH 와의 關係, 培地의 水分含量과의 關係, 培地의 glucose 濃도와 關係 및 培地의 品溫과의 關係를 調査하였다.

(ㄱ) pH 와의 關係

精粟 20 gr. 을 HCl 로 pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 의 區分으로 調節한 溶液에 14 時間 浸漬하였다가 진저서 1 時間 두어 表面의 水分이 吸收된 後 90 mm ϕ petri dish 에 옮겨가지고 100°C 에서 60 分間 蒸煮한 다음 前記 pH 液으로 다시 pH 를 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 으로 調節하고 100°C 에서 60 分 蒸煮한 것에 常法에 依하여 마련된 供試菌의 spore suspension 3 ml. 을 接種하였고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

酸의 測定은 이 培養이 끝난 것을 40 ml. 의 물에 28 時間 두었다가 濾過한 濾液 10 ml. 를 0.1 N NaOH 로 滴定하여 所要된 NaOH 의 ml 數로 生産된 酸의 量을 表示하였다. 以下 酸의 測定은 同一하다.

(ㄴ) 水 分

精粟 20 gr. 式을 各各 4 時間, 8 時間, 14 時間 浸漬한 것으로 區分하고 이것들을 90 mm ϕ petri dish 에 넣고 100°C 60 分 蒸煮한 後 14 時間 浸漬區는 다시 3 區로 나누어 無處理 16 ml, 20 ml 의 물 添加區로 하여 總 6 區分 하였다. 全區를 다시 60 分間 100°C 에서 蒸煮한 다음 常法에 따라 마련한 供

試菌의 spore suspension 3 ml. 式을 接種하였고 接種後 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

(ㄷ) 糖 分

위의 實驗과 같이 精粟 20 gr 式에 glucose 20%, 30%, 40%, 50% 및 60% 溶液을 各各 넣어 14 時間 處理한 다음 진저서 1 時間 두어 表面의 水分이 除去된 後 90 mm ϕ petri dish 에 넣어서 常壓에서 60 分 蒸煮한 다음 다시 各 濃度の glucose 溶液을 各各 10 ml 式 添加하고 다시 100°C 에서 60 分 蒸煮한 다음 常法에 依하여 마련된 spore suspension 3 ml. 式을 接種하고 30°C 에서 120 時間 培養하였다.

(ㄹ) 溫 度

精粟 20 gr. 式을 물에 14 時間 浸水한 다음 진저서 1 時間 두어 表面의 水分이 除去된 後 各各 90 mm ϕ petri dish 에 넣고 100°C 에서 60 分 蒸煮하였다. 다시 各各 16 ml. 의 水分을 添加한 다음 60 分間 100°C 에서 蒸煮하였다. 여기서 위와 같이 常法에 依하여 마련된 供試菌의 spore suspension 3 ml. 式을 接種하고 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C 의 6 區의 溫度差로 120 時間 培養하고 生成된 酸을 測定하였다.

圓筒曲面培養法과 斜面培養法の 比較

斜面培養法은 普通 tube 에 斜面法으로 培養하는 것이며 圓形平板培養法은 筆者가 考案한 것인바 그 方法은 接種後 試驗管內壁의 圓形에 따라 平板形狀으로 agar 를 凝固시키는 것이다.

이 兩 方法으로 供試菌을 各各 19 個月間 累代培養한 菌株를 다음과 같은 方法으로 糖化力과 酸生成能을 檢討하였다.

即 精粟 20 gr. 式을 물에 14 時間 浸水시켰다가 진저서 約 60 分後 水分이 除去된 다음 90 mm ϕ petri dish 에 넣고 100°C 에서 60 分間 蒸煮하고 16 ml. 의 물을 添加하고 다시 100°C 에서 60 分間 蒸煮한 다음, 위의 圓筒曲面培養法 및 斜面培養法에서 各 18 個月間 累代培養한 胞子를 常法에 依하여 接種하고 120 時間 30°C 에서 培養한 다음 그 糖化力과 酸生成能을 測定하였다.

結 果

Conidiophore 의 長이의 培養條件

(ㄱ) 無機鹽 NaCl, KH₂PO₄, NH₄NO₃, MgSO₄·7H₂O 및 無處理區의 比較에 있어서 conidiophore 의 長이는 다음 Fig. 1 과 같다. 即 多少의 差異는 있으나 大同小異하다.

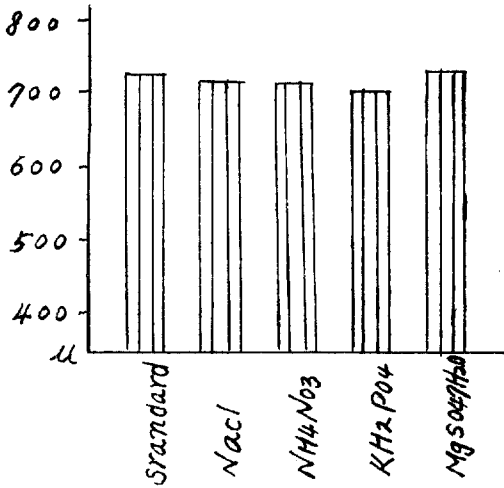


Fig. 1. Effects of inorganic salts on length of conidiophore of *Asp. kawachii*.

(ㄴ) N-源의 影響

N-源으로 peptone, urea, asparagine 및 (NH₄)₂SO₄가 供與되었는데 다음 Fig. 2와 같이 asparagine, peptone, urea, (NH₄)₂SO₄ 順으로 對照區 보다 길었으나 큰 差異는 없는것 같다.

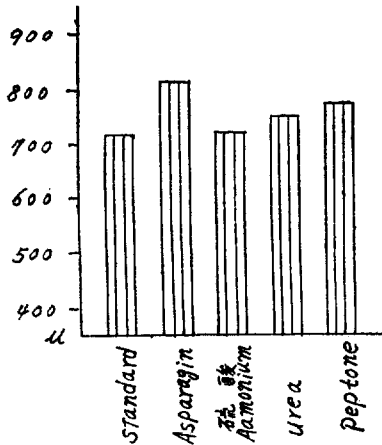


Fig. 2. Effects of N-sources on length of conidiophore of *Asp. kawachii*.

(ㄷ) 糖分의 影響

Fig. 3에서 보는 바와 같이 glucose가 供與되었는데 50% 濃度에서 顯著하게 길이가 짧아 졌으며 濃度에 反比例하는 傾向이 보였다.

Fig. 3은 conidiophore의 길이를 測定한 것이며

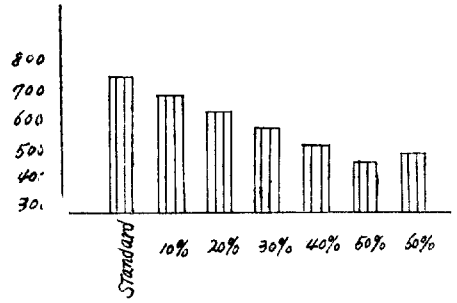


Fig. 3. Relation with the glucose concentration and conidiophore length.

標準區보다 效果가 있어 보인다.

(ㄹ) 米糠, 木灰, 藪의 影響

短毛形과 米糠, 木灰, 藪의 關係는 Fig. 4와 같이 多少 差異는 있으나 큰 效果는 없었다.

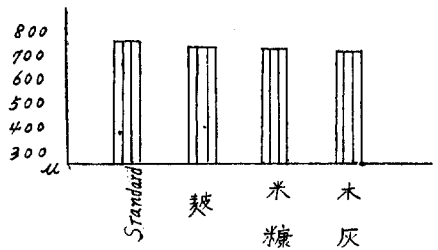


Fig. 4. Effects of rice-bran and wheat-bran on conidiophore length.

胞子生成 및 胞子の 色相과 培養條件

(ㄱ) 無機鹽의 影響

胞子生成量과 胞子の 色相에 4種의 無機鹽이 어떤 影響을 주는가를 調査한 結果는 Table 1, 2와 같이 KH₂PO₄와 K₂HPO₄가 多少 效果가 있으나 큰 差異는 없고 其他는 效果가 없는것 같다.

Table 1. Effects of four inorganic salts on spore formation of *Asp. kawachii*.

Inorg. salt	contl.	NaCl	MgSO ₄ ·7H ₂ O	KH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄
Sporulation	--	+	+	++	++

Table 2. Effects of four inorganic salts on spore color of *Asp. kawachii*.

Inorg. salt	contl.	NaCl	MgSO ₄ ·7H ₂ O	KH ₂ PO ₄	K ₂ HPO ₄
Spore color	+	+	+	++	++

(ㄴ) N-源의 影響

N-源으로 peptone, asparagine urca 및 $(NH_4)_2SO_4$ 가 供與되었는데 Table 3, 4 에서 보는 바와 같이 peptone 과 asparagine 이 孢子形成에는 多少 效果가 있고 色相에 있어서는 asparagine 만이 多少 效果가 있고 其他는 別效果가 보이지 않는다.

Table 3. Relation with spore formation of *Asp. kawachii* and N-sources.

N-source	contl.	urea	peptone	asparagine	$(NH_4)_2SO_4$
sporulation	+	±	++	++	+

Table 4. Relation with spore color of *Asp. kawachii* and N-sources.

N-source	contl.	urea	peptone	asparagine	$(NH_4)_2SO_4$
Spore color	+	±	+	++	+

(ㄷ) 糖分の 影響

孢子形成 및 孢子的 色相에 glucose 의 濃度가 어떤 影響을 주는가의 實驗結果는 Table 5, 6 과 같다. 即 glucose 의 濃度는 孢子形成에 5% 限界까지는 正比例의 關係를 보이고 또 色相도 50%에서 理想的인 紅茶色 色彩를 띤다.

Table 5. Relation with glucose concentration and spore formation of *Asp. kawachii*.

sugar conc.	contl.	10%	20%	30%	40%	50%	60%
sporulation	+	+	+	+	+++	++++	++++

Table 6. Relation with glucose concentration and spore color of *Asp. kawachii*.

sugar conc.	contl.	10%	20%	30%	40%	50%	60%
spore color	+	+	+	+	+++	++++	++++

(ㄹ) 米糠, 木灰 및 黴의 影響

孢子形成과 孢子的 色相에 米糠, 木灰 및 黴의 效果를 調査한 結果는 Table 7, 8 과 같이 米糠에 있어서 孢子形成 및 色相에 效果가 있고 木灰는 孢子形成에는 效果가 있는 것 같으나 色相에는 別效果가 없었다.

Table 7. Effects of rice-bran, ash and wheat-bran on *Asp. kawachii*.

	contl.	wood ash	rice bran	wheat bran
sporulation	+	++	++	+

Table 8. Effects of rice-bran, ash and wheat-bran on *Asp. kawachii*.

	contl.	wood ash	rice bran	wheat bran
spore color	+	++	++	+

酸生成과 培養條件

(ㄱ) 酸生成과 pH의 影響

酸生成에 있어서 pH의 變化에 對한 Table 9 와 같은 結果를 얻었으나 差異가 없었다.

Table 9. Relation with acid formation of *Asp. kawachii* and pH, of media.

pH	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	contl.
0.1N-NaOH(ml.)	23.5	23.5	23.4	23.4	23.3	23.3

(ㄴ) 酸生成과 培地の 水分含量

培地の 水分含量과 供試菌의 酸生成關係를 調査한 結果는 Table 10 과 같이 크게 關係가 있는 것으로 보이며 어느 範圍內에서는 水分含量에 比例하는 것 같다.

Table 10. Relation with acid formation of *Asp. kawachii* and water content of media.

Treat.	Inf. 4hrs.	Inf. 8hrs.	14hrs. inf. (control)	14hrs. inf. +16 ml water	1 f. 14hrs. +20 ml water
0.1N NaOH (ml.)	13.0	16.0	20.3	23.3	23.6

Table 10 에서 보면 14 時間 浸水後 다시 20 ml. 의 물을 添加하던 酸生成이 最大에 이르는 것 같다.

(ㄷ) 酸生成과 糖의 濃度關係

供試菌의 酸生成量은 glucose 의 濃度와 關係가 있으며 Table 11 에서 보는 바와 같이 glucose 50% 에서 最大의 酸生成을 보였다.

Table 11. Acid formation of *Asp. kawachii* and glucose concentration of media.

Glucose conc.	contl.	20%	30%	40%	50%	60%
0.1N NaOH (ml.)	23.3	23.4	23.5	24.8	26.5	26.5

(크) 酸生成과 培養溫度

供試菌의 培養溫度와 酸生成關係를 調査한 結果는 Table 12와 같이 매우 크게 영향을 주는 것으로 보이며 25°C에서 最大 値에 達한다.

Table 12. Relation with acid formation of *Asp. kawachii* and temperature of cultures.

Culture °C	20	25	30	35	40	45
0.1 N NaOH(ml)	26.0	26.5	25.7	23.3	20.0	16.5

圓筒曲面培養法과 斜面培養法の 比較

圓筒曲面培養法은 從來의 斜面法 보다 便利하고 Table 13에서 보는 바와 같이 酸生成에 있어서나 糖化力에 있어서도 退化됨이 없이 18個月間 保存된 것으로 보아 効果의인 方法이며 菌保存과 分離에 있어서 tube와 petri dish를 要하는데 比하여 同一 tube로 可能하므로 簡便하다. 圓筒曲面培養法은 麴菌을 接種하고 試驗管을 水平으로 하고 試驗管의 長軸을 中心으로 回轉하여 試驗管內壁에 培地를 凝固하였고 寒天使用量은 期間에는 23~24%가 좋았으며 大體로 簡便하고 効果의인 것으로 생각한다.

Table 13. Difference of acid formation and its saccharification of *Asp. kawachii* cultured for 18 months by slant media between cylindrical agar media.

Culture	Slant	Cylindrical culture
Sacch. activity sp	238	256
Acid production 1/10N NaOH (ml)	20.5	22.6

圓筒曲面培養法은 Fig. 5와 같다.

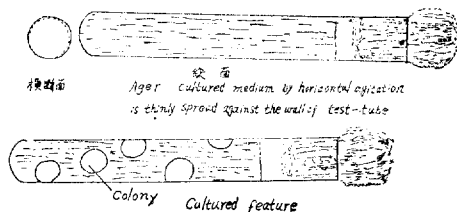


Fig. 5. Cylindrical plate agar method.

6分試驗管에 寒天培地 6ml을 넣고 白麴菌胞子의 spore suspension 1白金耳를 接種하고 試驗管의 兩端을 左右손으로 가볍게 잡고 長軸回轉을 200 r.p.m으로 하여 寒天을 試驗管壁에 凝固시킨다.

考 察

微生物을 産業의 手段으로 利用할때, 가장 効果的인 結果는 그 生物이 지니고 있는 遺傳的인 素質과 이 素質이 發現되는데 가장 알맞는 環境要因들이 갖추어져야 함은 두말할 나위도 없다. 따라서 微生物工業에 있어서도 微生物들이 지니고 있는 遺傳的素質에 加하여 醱酵過程에 있어서 가장 알맞는 環境要因이 주어져야만 가장 効果的인 結果를 期待할 수 있을 것이다. *Aspergillus kawachii* Kitahara는 燒酒를 包含한 酒類工業에 있어서 液化, 糖化過程을 擔當하는 重要한 菌株이며 育成地인 日本은 勿論 우리나라에서도 相當히 普及되었다. 그러나 元來 高구마를 基質로서 利用하는 醱酵 微生物로 開發된 것인바 原料(基質)에 있어서도 添加劑에 있어서 그리고 醱酵過程의 物理的 化學的 環境要因의 變化에 對하여 萬能的인 菌株가 될 수 없을 것이며, 따라서 原料事情이 다르다든가 醱酵過程의 經營條件이 다를 때는 여기에 알맞는 菌株를 開發함은 勿論 그 菌株에 알맞는 醱酵條件 또는 培養條件들이 究明되어야 하며 特別 種麴生產에 있어서 優良한 種麴生產에 알맞는 條件들이 究明되어야 하겠다. 이 *Aspergillus kawachii*는 日本에 있어서도 이런 環境條件들의 影響이 잘 調査되어 있지 않고 우리나라에 있어서는 全然 이루어진 바가 없다. 그래서 筆者가 改良育成保存中인 *Asp. kawachii*의 strain을 가지고 種麴生產을 前提로 한 培養條件에 對한 生態的 研究을 企圖하였다. 種麴은 醱酵 工學的 見地에서 短毛形이 좋으며, 胞子形成에 있어서 多量 生成하는 것이 좋다. 胞子の 色相은 紅茶色이 歡迎받으며 또 培地米에서는 酸蓄積이 많은 것이 좋은 것이다. 따라서 保存中인 菌株에 알맞는 培養條件은 本實驗을 通하여 다음과 같이 論議할 수 있을 것이다.

(1) 短毛形과 培養條件

短毛形을 期待함에 있어서 供試無機鹽範圍內에서는 不可能하게 보인다. 그런데 木灰나 米糠에 있어서 多少의 效果가 엿보이는데 이는 供試無機鹽以外の 다른 要因이 있지 않느냐 生覺된다. 한편 糖分의 影響은 매우 큰 것으로 생각된다. 特別 glucose 50%區는 對照區 보다도 50%以上 短毛化할 수 있

어서 技術的으로 糖濃度를 調節함으로써 어느 程度 短毛化할 수 있다. N-源의 効果는 逆效果를 보이며 供試 N-源은 모두 長毛化하는데 作用하는 것 같으며 특히 asparagine 은 長毛化하는데 크게 作用하는 것 같다.

(2) 胞子形成과 胞子の 色相

胞子形成 및 胞子の 色相에 있어서 磷酸鹽은 多少 效果가 있어 보이거나 큰 差異는 없다.

그러나 N-源으로 asparagine 은 胞子形成 및 胞子の 色相에 效果가 있어 보이며 peptone 은 胞子形成에는 效果가 있으나 色相에 있어서는 別效果가 없어 보인다. 其他 N-源은 全然 效果가 없는 것 같다. 그리고 糖의 濃度는 胞子形成 및 胞子の 色相에는 깊은 關係가 있었으며 glucose 50%에서 가장 效果의이었다. 그리고 米糠 木灰 및 麩의 效果에 있어서는 米糠은 效果가 있어 보이거나 其他는 別로 效果가 보이지 않는다. 그러나 米糠은 그 成分이 綜合的인 것이어서 單一 要因은 알 수 없다.

(3) 酸生成과 培養條件

供試菌이 生育過程에서 酸을 生成하는 것은 雜菌을 抑制하는데 있어서도 매우 必要한 것이나 本實驗에서 보면 培地, pH는 酸生成에 別效果가 없으며 基質의 水分含量은 매우 效果가 있는 것으로서 어느 濃度까지는 正比例하는 것 같다. 即 原料米의 水分飽和狀態까지는 水分含量에 比例하여 酸을 生成하였다. 또 糖分의 濃度도 酸生成에 效果가 있는

것으로 보이는데 glucose 40%에서 처음 效果가 있고 50%에서 그 最高值에 達하였다. 生育過程의 溫度와 酸生成關係를 보면 比較的 低溫에서 酸生成量이 많고 25°C에서 가장 많이 生成되었다. 따라서 生育過程에서 酸生成은 基質이 水分 및 糖의 濃度와 溫度로서 調節할 수 있으며 醱酵工業에서 技術的으로 重要한 要因이라 생각된다.

(4) 斜面培養法과 圓筒曲面培養法の 比較

試驗管의 斜面培養은 麴菌의 培養은 아니라 各種 微生物의 培養에 廣範圍하게 利用되는 方法이다. 簡單한 保存 또는 分離에 斜面培養이 常用되는 方法이지만 麴菌과 其他의 絲狀菌等은 이 斜面培養으로 累代培養이 되므로 斜面培養은 水分이 過多한 培地에 連續되어 18 個月間 36 回 累代培養한 變異 白麴菌은 生酸力과 糖化力이 減退되었다. 斜面培養과는 달리 試驗管內의 寒天培地를 試驗管綿栓에서 約 1 cm의 間隔을 두고 試驗管 內壁에 約 0.3 mm 程度의 두께로 試驗管을 回轉하면서 固着시키는 새로운 方法으로서 接種한 胞子들은 petri dish의 平板分離와 같이 胞子單位의 colony를 나다낸다. 斜面培養에서는 分離用으로 petri dish를 使用하지만 圓筒曲面培養法은 試驗管만으로서 胞子單位의 colony를 얻을 수 있고 培養 10 日前後면 試驗管壁의 培地가 乾燥되므로 斜面培養과 같이 多濕에 依한 麴菌의 酸生成能 및 糖化力의 減退를 막을 수 있다.

摘 要

本 研究는 筆者가 保有中인 *Asp. kawachii*의 한 系統을 가지고 醱酵工學의 見地에서 種麴生産에 關係되는 生態的인 要因을 調查 研究한 것이며 그 要因으로는 無機鹽, N-源, 糖分, pH, 水分 및 溫度등이 調查 研究對象이 되었고 다음과 같은 結果들이 얻어졌다.

1. 短毛形을 얻기 爲하여는 위의 要因들 중에서 糖分이 效果가 있었으며 glucose 50%까지는 正比例하여 有効하였고 50%에서 가장 좋았다.

2. 胞子形成은 糖分이 效果가 있었으며 glucose 50%까지는 正比例하여 有効하였고 N-源에 있어서는 peptone 및 asparagine이 有効하고 또 無機鹽으로는 磷酸加里가 多少 效果가 있고 米糠, 木灰도 多少 效果가 있고 其他 要因들은 效果가 없었다. 胞子の 色相은 역시 糖分의 影響을 받아 glucose 50%까지는 正比例하여 좋았고 N-源은 asparagine만이 有効하였고 또 米糠도 效果가 多少있었다.

3. 酸生成은 水分의 影響을 받았으며 飽和狀態에 이르기까지는 水分含量에 正比例하였고 糖分도 影響을 주었으며, glucose 50%까지는 正比例하여 效果가 있었다. 溫度도 影響을 주었으며 25°C에서 가장 좋았고 45°C 以內에서는 溫度에 反比例하였다.

其他 pH의 變化는 酸生成에 效果가 없었다.

REFERENCES

1. 北原覺雄, 久留島通俊, 1949. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する研究, 第1報. 二, 三の 重要絲狀菌の diastase 組成の 比較. 醸工學誌 27 (1-3), pp. 1-5.
2. 北原覺雄, 久留島通俊, 1949. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究, 第2報. 各麴 diastase の 組成比 並に 黑麴 amylase の 特異性に 就て, 醸工學誌. 27 (4), pp. 6-12.
3. 北原覺雄, 吉田滿知子, 1949. 絲菌類の diastase 組成に 關する 研究, 第3報. 泡盛麴菌について 其一 形態並に 2,3 の 生理的性質に 就て. 醸工學誌 27 (7), pp. 162-166.
4. 北原覺雄, 久留島通俊, 1949. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究 第3報. 泡盛白麴菌に 就て. 其の 2. *Asp. kawachii nov. sp.* は果して 黑麴菌の 變種株なりや. 醸工學誌, 27(8), pp. 182-183.
5. 北原覺雄, 久留島通, 1949. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究 第4報. 黑麴 diastase 構成酵素の 單離. 醸工學誌 27(7), pp. 213-218.
6. 北原覺雄, 久留島通俊, 1949. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究. 第5報. 新酵素 *r-amylase* の 存在に 就て 醸工學誌 27 (10), pp. 254-257.
7. 北原覺雄, 久留島通俊, 1950. 絲狀菌類のデアスターゼ 組成に 關する 研究 第6報. 綜合糖化 曲線に 依る 黑麴菌類の 分類の 可能性に 就て. 醸工學誌 28 (3), pp. 101-110.
8. 北原覺雄, 久留島通俊, 1950. 絲狀菌類の diastase の 組成に 關する 研究. 第7報. *Asp. cinnamomeus* Shieman の *r-amylase* 及び 耐酸性 α -*amylase* に 就て 醸工學誌, 28 (10), pp. 388-392.
9. 北原覺雄, 阿部卓二, 久留島通俊, 1950. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究. 第8報. 曾て喜多氏が 指摘した 特殊アミラーゼ作用の 檢證. 醸工學誌 28 (11), pp. 422-427.
10. 北原覺雄, 久留島通俊, 1952. 絲狀菌類の diastase 組成に 關する 研究, 第9報. *r-amylase* の 確認. 醸工學誌 30 (2), pp. 72-77.