

Aspergillus usamii shirousamii U₂菌의 麴式培養에 依한 有機酸 및 糖化酵素 生成에 關한 研究

제 2 보 抗菌劑의 영향에 對하여

尹 福 鉉·李 錫 健·尹 漢 教

충남대학교 농과대학

(1975년 10월 13일 수리)

Studies on the Formation of Organic Acid and Saccharifing Amylase in Koji Culture of Aspergillus usamii shirousamii U₂

Part II. Effect of antimicrobial agents

Bok-Hyun Youn, Suk-Kun Lee and Han-Kyo Youn

College of Agriculture, Chungnam University.

(Received October 13, 1975)

Abstract

The effects of various antimicrobial agents on the production of organic acid and saccharifying amylase by *Aspergillus usamii shirousamii* U₂ were studied and the results are as follows.

- 1) The production of organic acid and saccharifying amylase was stimulated by using optimum amounts of nitrofurazone and AF₂ among several antimicrobial agents.
- 2) Wheat flour medium containing 50% volumes of 10 ppm AF₂ solution gave the maximum yield of organic acid.
- 3) Wheat bran medium containing 100% volumes of 100~500 ppm nitrofurazone solution gave the maximum yield of saccharifying amylase.

緒論

구연산酶에 있어서 添加物의 영향에 대한 研究로는 脱脂粉乳를 添加하므로서 구연산生成을 촉진하는 Szües⁽¹⁾의 특허가 있으며 鈴木等⁽²⁾은 구연산酶에 있어서 황혈염의 添加에 의한 영향을 보고한 바 있다. Moyer⁽³⁾는 液體培養時 methanol을 添加하므로서 구연산酶를 촉진시킬 수 있다고 보고하였고 Chughtai等⁽⁴⁾은 NaCN의 添加로 구연산의生成이 촉진된다고 보고하였다. 內理等⁽⁵⁾은 biotin을 2~100 μg/l 含有하는 것을

특징으로 하는 구연산酶法에 대한 특허를 얻은바 있고 또한 高見⁽⁶⁻⁹⁾는 NaF 또는 그 관련물질이 黑麴菌의 구연산酶와 amylase 生成을 촉진한다고 하였으며 NaF, CaF₂, KF 등의 극미량을 添加하는 것을 특징으로 하는 α-amylase의 生成促進法에 대한 특허가 있다.

照井等⁽¹⁰⁾은 전분박을 原料로 하는 구연산酶에 있어서 各種 添加物의 영향에 대하여 실험한 결과 PCP를 添加하므로서 구연산 生成이 증가하였음을 보고하였다.

前報⁽¹¹⁾에서 著者등은 *Asp. usamii shirousamii* U₂菌의 국식배양에 의한 유기산 및 당화효소생성에 미치는

배양온도와 시간, 첨수량, 培地組成 등의 영향을 살폈으며 아울러 생성유기산중 구연산함량을 조사하여 발표한 바 있다. 本報에서는 밀기울과 밀가루단용배지를 사용하여 각각 국식배양할 경우 各種 抗菌劑의 添加에 의한 영향을 검토하였으며 그 결과를 보고하는 바이다.

實驗方法

使用菌株

Asp. usamii schirousamii U₂ 菌을 供試菌으로 使用하였으며 前報⁽¹¹⁾의 方法에 準하여 접종하였다.

供試抗菌劑

Pentachlorophenol(PCP), nitrofurazone, sodium benzoate, sodium dehydroacetate(Na-DHA), 2-(2-furyl)-3-(nitro-2-furyl) acrylamide(AF₂) 等을 培地調製時에添水하는 물에 용해하여 使用하였다.

使用培地

밀가루 및 밀기울 단용배지를 사용하였으며 添水量을 각각 50%와 100%로 하여 100ml容 삼각 flask에 밀가루의 경우는 原料밀가루가 8g이 되도록 넣고 밀기울의 경우에는 原料밀기울이 4g이 되도록 넣어 前報⁽¹¹⁾의 方法에 따라 調製하였다.

培養

全 實驗을 통하여 30°C에서 3일간 배양하였다.

유기산 및 糖化力의 측정

前報⁽¹¹⁾의 方法 따라 실시하였다.

結果 및 考察

1. 有機酸生成

(1) 밀기울培地

供試抗菌劑들을 각각 0.4, 0.04, 0.004% 용액이 되도록 調製하고 이를 밀기울에 50%, 100% 添水하여 蒸煮살균후 供試菌을 접종하고 30°C에서 3일간 培養한 다음 생성유기산의 含量을 조사한 결과는 Fig. 1, 2와 같다.

PCP 0.4%액을 50% 添水한 밀기울培地에서는 菌의 生育이 현저하게 不良하였으며 유기간생성이 억제되었으나 nitrofurazone, sodium benzoate, AF₂등을 0.04% 또는 0.004%의 濃度로 添加했을 때는 다소 증가하는 경향을 보였다. 또한 100% 添水한 밀기울培地에서도 nitrofurazone과 AF₂는 유기산생성을 촉진하는 경향을 보였으며 이들의 濃度를 각각 달리하여 검토한 결과는 Table 1과 같다.

50% 添水한 밀기울培地에 있어서는 nitrofurazone 100~500ppm 용액을 使用하였을 때 대조구보다 구연산

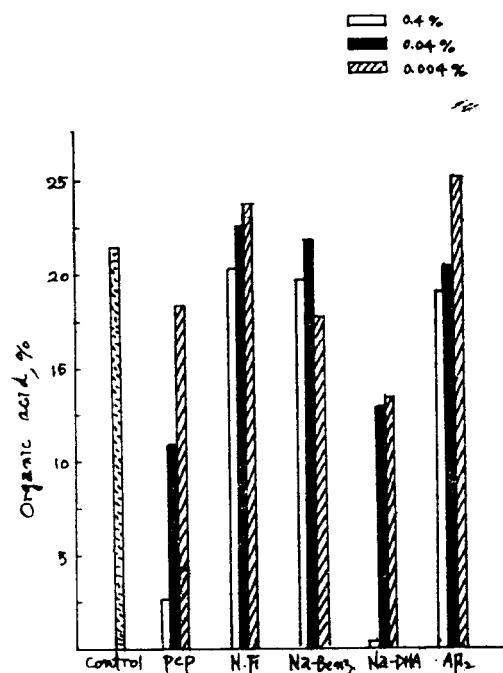


Fig. 1. Effect of antimicrobial agents on the organic acid production in wheat bran medium containing 50% water.

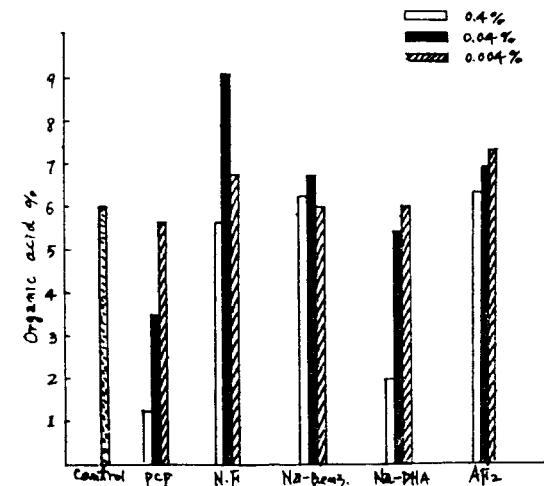


Fig. 2. Effect of antimicrobial agents on the organic acid production in wheat bran medium containing 100% water.

생성이 증가하였으며 100% 添水培地에 있어서는 10~1000ppm의 용액을 使用하였을 때 구연산생성이 증가되었다. AF₂의 경우에는 50% 添水培地에서나 100% 添水培地에서 모두 5ppm의 濃度에서 구연산생성이 가장

Table 1. The effect of nitrofurazone and AF₂ on the organic acid production in wheat bran medium.

kind of reagent	conc. of reagent(ppm)	water of medium (%)						
		0	5	10	50	100	500	1000
Nitrofuranzone	50	17.2	17.2	18.0	18.8	19.4	18.4	16.9
	100	6.0	6.1	6.6	6.7	8.2	9.1	7.3
AF ₂	50	17.2	20.7	18.5	17.6	17.5	16.2	15.1
	100	6.0	9.0	7.9	7.3	7.0	6.9	6.8

좋았다. 照井 등⁽¹⁰⁾은 전분박을 原料로 한 高層堆積通氣法에 의한 工業的 구연산발효에 있어서 PCP를 kg당 7.5×10^{-5} mole 濃度 添加하므로서 대조구의 적정산도 17.6에 비하여 22.2로 증가한 시설을 보고하였으나 本 실험에서는 PCP의 유기산생성 촉진효과는 인정할 수 없었다. 또 北田 등⁽¹²⁾은 PCP를 10^{-4} mole 添加했을 때 麴酸釀酵가 심히 저해된 사실을 보고한 바 있으며 本 실험에 있어서도 PCP의添加가 오히려 菌의 生육에 저해적인 작용을 하였다. 한편 梅野 등⁽¹³⁾은 種麴제 조제에 nitrofurazone 1/500 또는 nitrofurylacrlyl 酸amide 1/10,000의 添加에 의하여 국균포자형성에 거의 영향을 주지 않고 種麴제 품종에 細菌이 거의 나타나지 않게 되다고 보고한 바 있다.

(2) 밀가루培地

供試抗菌剤들의 용액을 밀가루에 50%, 100% 添加

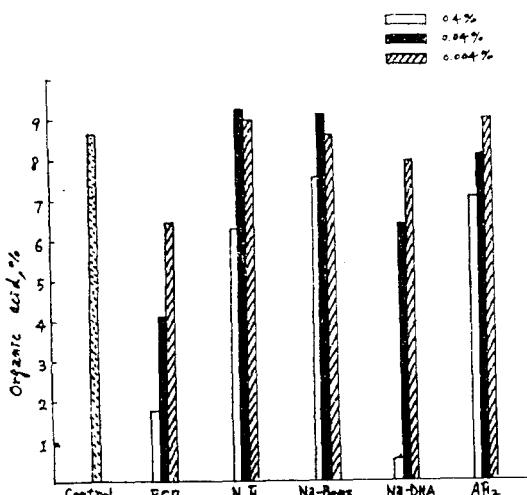


Fig. 3. Effect of antimicrobial agents on the organic acid production in wheat flour medium containing 50% water.

하여 培養한 후 유기산생성량을 검토한 결과는 Fig. 3, 4와 같다.

물에 抗菌剤들을 0.4~0.004% 용해하여 밀가루에 50%, 100% 添加한 培地에 供試菌을 培養하여 생성된 유기산의 양을 살펴본 결과 PCP와 sodium dehydroacetate 添加區는 대조구보다 유기산생성이不良하였으나 nitrofurazone과 AF₂ 添加區는 0.4% 용액의 경우는 저해되었으며 0.04%의 濃度에 있어서는 유기산생성이

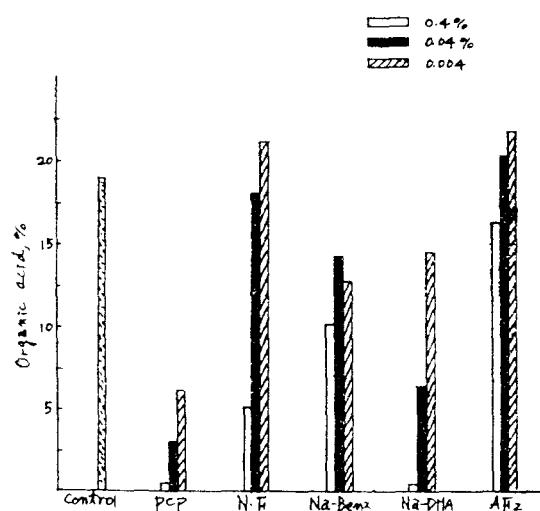


Fig. 4. Effect of antimicrobial agents on the organic acid production in wheat flour medium containing 100% water.

증가하였다. 100% 添加培地에서는 50%添加培地에서 보다 抗菌剤의 저해작용이 더욱 현저하였다. 유기산생성에 유효한 것으로 인정되는 nitrofurazone과 AF₂의濃度를 각각 달리한 용액을 밀가루에 50% 또는 100% 添加하여 유기산생성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. The effect of nitrofurazone and AF₂ on the organic acid production in wheat flour medium.

kind of reagent	conc. of reagent(ppm)	water of medium (%)						
		0	5	10	50	100	500	1000
nitrofuranzone	50	20.5	20.5	21.0	22.7	21.3	19.4	13.0
	100	18.0	18.0	21.2	22.0	18.6	18.0	8.4
AF ₂	50	21.0	21.5	25.5	24.6	21.5	20.1	19.8
	100	19.0	19.0	21.1	21.7	20.7	19.6	17.4

즉, nitrofuranzone은 50% 添加水나 100% 添加水培地에 있어서 50ppm 濃度의 용액을 添加했을 때 가장 좋았으며 AF₂는 50% 添加水培地일 때는 10ppm, 100% 添加水培地 일 때는 50 ppm 濃度에서 유기산 생성이 가장 양호하였다.

2. 糖化酵素生成

(1) 밀기울培地

抗菌剤들을 0.4, 0.04, 0.004%의 濃度가 되도록 조제한 용액을 밀기울에 대하여 50%, 또는 100%添加한培地에 供試菌을 培養하여 糖化酵素생성에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Fig. 5, 6과 같다.

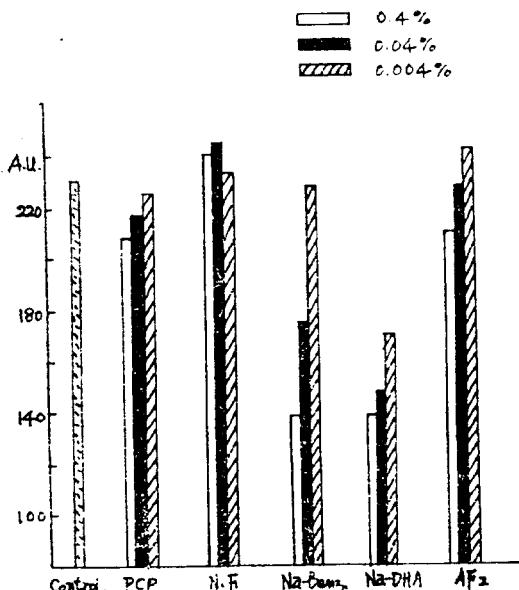


Fig. 5. Effect of antimicrobial agents on the amylase production in wheat bran medium containing 50% water.

50% 添加水培地에 있어서는 nitrofuranzone 0.4~0.004 %濃度의 添加區와 AF₂ 0.004%의 添加區에서 糖化酵素생성이 증가되었으며 其他 抗菌剤들에 의하여는 저해되었다. 100% 添加水培地에 있어서는 0.004%의 저농도에서 供試抗菌剤 모두가 저해하지 않았으며 nitrofuranzone의 添加區에서 糖化酵素는 다소 증가되었다. 밀기울培地에 있어서 各種濃度의 nitrofuranzone과 AF₂의 添加에 의한 실험결과는 Table 3과 같다.

50% 添加水培地에서 nitrofuranzone은 500ppm 濃度에서 가장 좋았으며 AF₂는 10ppm 濃度에서 가장 좋았다. 100% 添加水培地의 경우에는 nitrofuranzone은 100ppm 濃度에서, AF₂는 50ppm 濃度에서 가장 좋은 결과를 보였다. 高見⁽⁸⁾는 培地에 NaF를 5×10^{-4} ~ 10^{-2} mole 添加하고 2.5일간 表面培養하면 Koji mold의 amylase 활

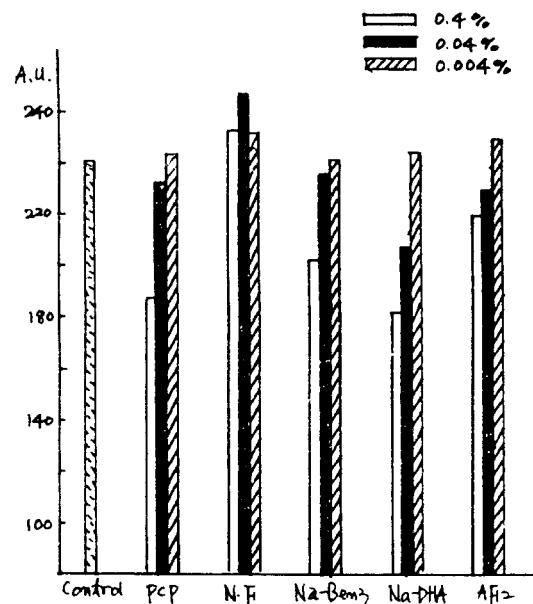


Fig. 6. Effect of antimicrobial agents on the amylase production in wheat bran medium containing 100% water.

성도는 최고 2.5倍로 증가된다고 보고한 바 있으나 本 실험에 使用된 菌株의 국식배양에 있어서는 NaF의 효과는 인정할 수 없었다.

(2) 밀가루培地

供試抗菌剤의 0.4~0.004% 용액을 밀가루에 50%, 100% 添加한培地에 供試菌을 培養한 다음 糖化酵素생성에 미친 영향을 살펴본 결과는 Fig. 7, 8과 같다.

밀가루에 50% 添加한培地의 경우 抗菌剤의 添加에 의한 糖化酵素생성의 증가효과는 거의 인정할 수 없었으며 100%添加培地에서는 nitrofuranzone과 AF₂ 0.004 %濃度에서 다소 효과가 있었다.

Table 3. The effect of nitrofuranzone and AF₂ on the amylase production in wheat bran medium.

kind of reagent	water of medium (%)	conc. of reagent (ppm)						
		0	5	10	50	100	500	1000
nitrofuranzone	50	231	230	230	234	240	246	243
	100	242	242	248	253	270	267	260
AF ₂	50	231	231	250	242	238	227	208
	100	242	244	246	248	241	229	223

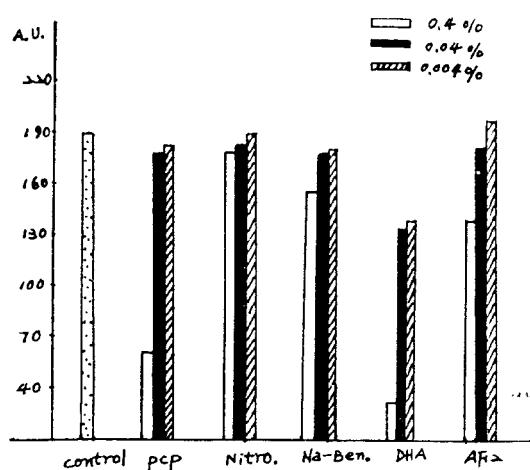


Fig. 7. Effect of antimicrobial agents on production of saccharifying amylase in wheat flour medium containing 50% water.

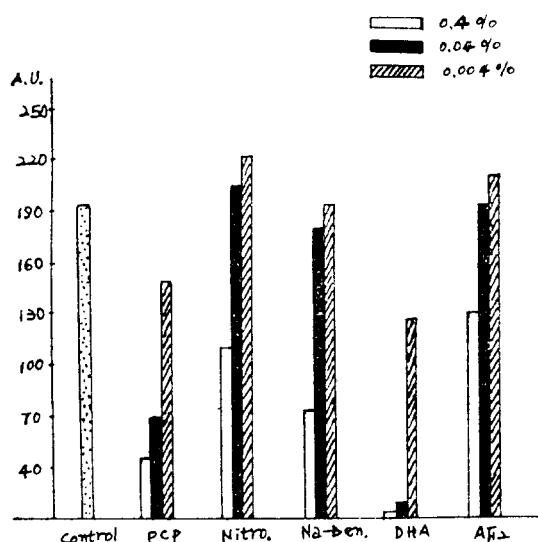


Fig. 8. Effect of antimicrobial agents on production of saccharifying amylase in wheat flour medium containing 100% water.

이들 抗菌劑들의 濃度를 각각 달리한 실험결과는 Table 4와 같다.

50% 添水밀가루培地의 경우 nitrofurazone의 添水에 의한 효과는 인정할수 없었으며 100% 添水培地에서는 50ppm 濃度에서 糖化酵素생성이 약간 증가되었으나 그 이상의 농도에서는 오히려 저해되었다. AF₂는 50% 添水培地나 100% 添水培地에서 모두 10ppm 濃度에서 가장 양호하였다.

Table 4. The effect of nitrofurazone and AF₂ on the amylase production in wheat flour medium.

kind of reagent	conc. of reagent (ppm)							
	water of medium (%)	0	5	10	50	100	500	1000
nitrofrazne	50	190	190	187	187	180	175	175
	100	195	195	205	216	196	183	155
AF ₂	50	190	216	220	212	202	184	149
	100	195	223	235	216	200	195	160

要 約

Aspergillus usamii shirousamii U₂ 酵母에 의한 유기산 및 당화효소생성에 미치는 영향에 대하여 실험 결과는 다음과 같다.

- 1) 供試抗菌劑중 일정한濃度의 nitrofurazone과 AF₂의 添加에 의하여 유기산과 糖化酵素의 生産이 촉진되었다.
- 2) 유기산의 生産은 밀가루에 AF₂ 10ppm 용액을 50% 添水한 배지에서 가장 좋았다.
- 3) 糖化酵素의 生産은 밀가루에 nitrofurazone 100~500ppm 용액을 100% 添水한 배지에서 가장 양호하였다.

参考文献

- 1) Szües, J.: U.S. Patent, 2,438,136 (1948).
- 2) 鈴木智雄 外 2人: 工技研報, 28, 31 (1966).
- 3) Moyer, A.J.: Appl. Microbiol. 1, 7 (1953).
- 4) Chughta: I.D. & Walker, T.K.: Biochem. J., 56, 484 (1954).
- 5) 内理, 足立勇, 鈴木弘: 日本特許 昭 40-27518 (1965).
- 6) 高見亘: 酵酇協會誌(日本), 25, 374 (1967).
- 7) 高見亘: 酵酇協會誌(日本), 26, 77 (1968).
- 8) 高見亘: 酵酇協會誌(日本), 25, 190, 233, 280, (1967).
- 9) 高見亘: 日本特許 昭 45-9826 (1970).
- 10) 照井堯造, 芝崎勲: 酵酇工學雜誌(日本), 37, 332 (1959).
- 11) 尹福鉉, 朴允仲, 李錫健: 한국식품과학회지, 6, 127 (1974).
- 12) 北田牧夫, 富金原孝: 酵酇工學雜誌(日本), 48, 676 (1970).
- 13) 梅野豐明, 鈴木與: 日本釀造協會雜誌, 57, 168(1962).