

재래식 메주에서 분리한 효모들의 각종 효소활성과 가능성

이종수* · 이성훈 · 권수진 · 안 철¹ · 유진영²
배재대학교 유전공학과, ¹강원대학교 식품생물공학과,
²한국식품개발연구원 생물공학연구부

Enzyme Activities and Physiological Functionality of Yeasts from Traditional Meju. Jong-Soo Lee*, Sung-Hun Yi, Su-Jin Kwon, Cheol Ahn¹ and Jin-Young Yoo². Department of Genetic Engineering, Pai-Chai University, Taejeon 302-735, Korea, ¹Division of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea, ²Division of Food Biotechnology, Korea Food Research Institute, Seongnam 462-420, Korea - Enzyme activities, production of killer toxin and some functionality of forty seven yeasts isolated from traditional Meju were investigated in culture broth and cell free extracts. Activities of α -galactosidase, invertase and inulinase were detected in cell free extracts of 38 strains, 43 strains and 45 strains, respectively and acidic and neutral protease activities also were detected in culture broth of all the strains, β -Galactosidase activity was detected in cell free extracts of OE-20 and S-14 strains. Killer toxins were produced by OE-12, S-8 (*Candida* spp.), OE-19 (*Zygosaccharomyces* spp.) and S-3 (*Saccharomyces* spp.). Culture broth of OE-23 and S-9 showed 61.3% and 59.2% of antioxidant activity to α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), but nitrite-scavenging ability as well as inhibition of tyrosinase and polyphenol oxidase were not appeared in all the strains.

최근 재래식 장류의 각종 기능이 밝혀지면서 그 수요가 증가하고 있고 이에 따라 기본 재료인 재래식 메주 생산의 산업화에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(1).

장류의 기능성은 아직 자세한 생리기작과 생리적 효과가 규명되지는 않았지만 주로 메주 발효에 관여하는 미생물과 원료 대두에 의한 것으로 알려지고 있다. 장류의 기능성 중 주로 연구된 것은 간장의 항산화성으로 간장은 우육지방질에 대한 산화억제 효과가 현저하고(2), 재래식 간장과 양조간장의 항산화 효과는 총 질소 함량과 mail-lard반응에 의한 melanoidin이 원인물질임(3-5)이 밝혀졌다. 그러나 항 변이원성, angiotensin I 전환효소(ACE)와 polyphenol oxidase 및 tyrosinase 저해작용, 아산질염 소거작용 등에 관해서는 전통장류에서는 연구된 바 없고 술입과 쑥 추출물(6, 7), 채소류, 버섯류, 약용 식물류(8, 9), 결명자, 들깨, 대추, 모과, 오미자, 오갈피, 생강 등의 기호식품(10)등에서 연구되어 보고되었을 뿐이다.

한편, 주정발효나 장류 발효과정 중에 오염되어 증식하면 정상적인 발효를 저해하는 것으로 알려진 killer 효모로는 현재까지 *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Hansenular*, *Kluyveromyces*, *Candida* 속군 등 약 17종이 보고되었다(11). 만일 이들이 갖고 있는 감수성 효모에 대한 항

균특성을 주정이나 장류 및 김치 발효 등에 응용하면 발효 과정중 잡균의 오염이나 유해효모의 생육을 저지시킬 수 있고(12) 효모의 2차 오염에 의한 장류의 괴오름 현상(13)등을 방지할 수 있는 이점이 있으므로 이들의 산업적 응용에 관한 연구는 매우 필요하다고 생각한다. 그러나 killer 효모에 관한 연구도 포도주 등의 알코올 발효공업에서 주로 연구되었을 뿐(14-16) 메주 효모에서의 이에 관한 연구는 이루어지지 않았다. 또한 효모가 생성하는 중요한 산업용 효소로는 invertase(17)와 β -galactosidase(18), 산성 protease와 알칼리성 protease(19)등이 있고 이들의 효소학적 특성은 대부분 밝혀졌지만 산업적 응용에 관한 연구는 역시 미흡한 실정이다.

따라서 필자 등은 전보(20)에서 전국 각지의 재래식 메주에서 47주의 효모를 순수 분리하고 이들의 각종 미생물학적 특성을 조사하여 보고하였고 본 연구에서는 이들 47주 효모들의 갖고있는 각종 효소활성과 가능성을 조사하여 새로운 특성을 갖는 재래식 메주의 산업적 생산에 응용하고자 재래식 메주에서 분리한 47주 효모의 각종 산업용 효소활성과 killer 독성물질 생산, 항산화 활성 등 각종 기능을 조사하였다.

재료 및 실험방법

시험균주 및 배지

전보(20)의 재래식 메주에서 분리한 47주의 효모를 실

*Corresponding author

Tel. 82-42-520-5388, Fax. 82-42-520-5388

E-mail: biotech8@woonam.paichai.ac.kr

Key words: Enzyme activities, Physiological functionality, Yeasts, Traditional Meju

험에 사용하였다. 또한 killer 물질 생성 확인 실험에서 표준 감수성 균주로는 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 38626을 한국과학기술원 균주센터에서 분양 받아 사용하였다.

각종 효소활성 및 생리 가능성 측정을 위한 균 배양에는 malt extract 배지를 사용하였고 killer toxin 생성 확인에는 최 등(14)의 killer assay 배지인 MB배지(yeast extract; 0.6%, peptone; 1.2% dextrose; 1.2%, citric acid 1.4%, KH_2PO_4 ; 1.8% methylene blue; 0.003%, pH 4.2와 0.003%의 methylene blue를 함유한 YPD 배지(21)를 사용하였다.

한편, DPPH(α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)은 Sigma 화학사(미국) 제품을 사용하였고 각종 기질과 시약은 분석용 특급을 사용하였다.

각종 효소활성 측정

47주의 메주효모를 malt extract 액체 배지에 접종하여 30°C에서 2일간 배양한 후 원심분리 하여 상등액과 세포를 분리하고, 세포는 다시 초음파 균체 파쇄기로 파쇄시킨 후 원심분리하여 세포추출액을 얻었다. 이들 세포 배양액과 세포추출액 각각에 대하여 α -amylase와 glucoamylase 활성은 1% 가용성 전분을 효소액과 반응시킨 후 0.5 M 초산용액으로 반응을 정지시킨다음 반응액을 요오드 용액으로 발색시키고 700 nm에서 흡광도를 측정하여 α -amylase 활성을 측정하였고 반응액중의 환원당 함량을 DNS법으로 정량하여 glucoamylase 활성을 측정하였다(22, 23).

Protease 활성은 0.6% skim milk를 함유하고 있는 완충용액의 pH를 3.0, 7.0, 10.0으로 각각 조정하여 효소액과 반응시킨후 TCA로 반응을 중지시키고 Folin시약으로 발색시켜 측정하였다(23).

α -galactosidase(24), β -galactosidase(18) 활성은 20 mM Mraffinose와 4 mg/ml의 ONPG를 기질로 이용하여 측정하였고 dextranase(25)와 invertase 활성은 1% dextran과 2% sucrose를 효소액과 반응시킨후 DNS법으로 환원당을 정량하여 측정하였다. 또한 β -glucosidase 활성(26)은 5 mM PNPG를 기질로, inulinase(27) 활성은 inulin을 기질로 상법에 따라 측정하였다.

기능성 조사

Killer toxin 생성확인 및 killer 활성측정 메주에서 분리한 47주의 효모를 YM배지에 2일간 배양 후 표준 감수성 균주인 *Saccharomyces cerevisiae*를 3시간 전에 미리 도말한 MB배지에 toothpicking 한 다음 30°C에서 배양하였을 때 clear zone이나 blue zone을 보인 균주를 killer toxin 생성 균주로 하였다(14).

또한, killer 활성은 Somers 등(28)과 정 등(21)의 well

test로 측정하였다. 즉 YPD 배지로 30°C에서 2일간 배양한 killer toxin 생성균주들을 원심분리하여 상등액을 얻은 후 이 상등액 200 μ l를 미리 감수성 균주가 도말되어 있는 killer assay 배지(21) 위의 1 cm 홈에 첨가하여 30°C에서 3일간 배양한 다음 clear zone의 크기를 측정하여 killer 활성으로 표시하였다.

항산화 활성도(전자공여 작용) 세포 배양액과 세포추출액의 항산화 활성을 Blois(29)와 김(30)의 방법에 따라 α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)를 사용하여 측정하였다. 즉, DPPH 12.5 mg을 ethanol 100 ml에 용해시켜 만든 DPPH용액 0.8 ml에 시료 0.2 ml를 가하여 10초간 진탕시킨 후 10분간 방치한 다음, 525 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 대신 에탄올 0.2 ml를 가한 DPPH용액과의 흡광도 차에 100을 곱한 값을 항산화 활성도로 표시하였다.

그 밖에 세포 배양액과 세포추출액의 아질산염 분해작용은 도 등(10)의 방법에 따라 NaNO_2 와 Griess 시약을 사용하여 측정하였고, polyphenol oxidase와 tyrosinase 활성 저해작용은 각각 강 등(6)과 정 등(8)의 방법으로 조사하였다.

결과 및 고찰

각종 효소 활성

재래식 메주에서 분리한 47주의 효모에 대하여 발효 식품산업에서 비교적 많이 사용되고 있는 효소들의 활성을 측정한 결과 Table 1과 같이 산성과 중성 protease 활성은 ahems 균주의 세포배양액(extracellular)에서 나타내었고 α -galactosidase 활성은 38주, invertase 활성은 43주 및 inulinase 활성은 45주의 세포추출액(intracellular)에서 활성을 보였다. 그러나 α -amylase, glucoamylase, β -galactosidase 및 cellulase 활성은 거의 모든 균주의 세포배양액이나 세포추출액에서 없었다.

효모에 의해서 생성되는 protease는 대부분이 산성 protease이고 *Yarrowia lipolytica*만이 알칼리성 protease를 생성하는 것(19)으로 보고되어 있는데 본 실험에서도 모든 균주가 산성 protease를 생산하였고 특히 9주의 효모가 중성과 알칼리성 protease를 생산하였다. 일반적으로 장류 고유의 맛과 향기에는 주로 세균과 곰팡이들이 생성하는 protease가 중요하게 관여하는 것으로 알려져 있지만(22) 본 실험에서 protease 활성을 보인 일부 효모들도 이에 관여할 것으로 추정된다.

또한 빵발효에 관련된 효모들은 대부분이 sucrose를 glucose와 fructose로 가수분해하는 invertase를 생성하는 것으로 알려져 있는데(17), 본 실험에서의 메주 효모들도 대부분 이 효소를 생성하였다.

한편, OE-20과 S-14 두 효모는 세포추출액에서 lac-

Table 1. Enzyme activity of the yeasts isolated from traditional *Meju**

Strain NO.	α -amylase	Glucosylase	Protease			Galactosidase		Dex-tranase	Invertase	Inulinase	β -glucosidase	Cellulase
			Acidic	Neutral	Alkaline	α -	β -					
OE- 1	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE- 2	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	- (-)
OE- 3	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)
OE- 4	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE- 5	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)
OE- 6	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE- 7	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE- 8	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE- 9	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-10	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (+)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-11	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)
OE-12	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-13	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-14	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (+)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-15	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-16	- (-)	- (-)	- (\pm)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-17	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-18	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-19	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-20	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-21	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (+)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-22	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-23	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-24	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-25	- (-)	+ (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-26	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
OE-27	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 1	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 2	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 3	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 4	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)
S- 5	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 6	- (-)	- (-)	- (+)	+ (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 7	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 8	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S- 9	- (-)	- (-)	- (\pm)	- (+)	- (+)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-10	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-11	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-12	- (-)	- (-)	- (\pm)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-13	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-14	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (+)	- (-)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
S-15	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
S-16	- (-)	- (-)	- (\pm)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)
S-17	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
C-1	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
C-2	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)
C-3	- (-)	- (-)	- (+)	- (+)	- (-)	+ (-)	- (-)	- (-)	+ (-)	+ (-)	- (-)	- (-)

*Intracellular(extracellular).

tose를 분해하는 β -galactosidase를 생성하였고(화학 기질인 ONPG에 대한 효소활성은 각각 950 U/ml과 430 U/ml이었음) TLC로 분해산물을 조사한 결과 galacto-

oligosaccharide를 일부 생산하였다. 효모에서의 β -galactosidase에 관하여는 조금 연구되었으나(18) galactooligosaccharide 생산에 관한 연구는 거의 이루어지지 않

있고, 다만 Onishi 등(31)이 *Rhodotorular minuta*를 이용하여 cellobiose와 lactose로부터 galacto-oligosaccharide와 gluco-oligosaccharide를 각각 76 mg/ml와 70 mg/ml을 생산하였다고 보고하였다. Galacto-oligosaccharide는 장내 유용세균인 bifidobacteria의 growth factor로 이용되는 기능성 당류(31)로 알려져 있으므로 이 두 효소는 유제품 공업이나 올리고당 생산에 매우 응용성이 클 것으로 생각된다.

기능성

Killer 독성 물질 생산 Killer 효모에 의하여 생성되는 항균성 killer 물질은 양조공업과 기타 발효식품공업에서 매우 유용한 기능성 물질이다. Killer 감수성 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 38026에 대한 47주의 메주 효모의 killer 물질 생성여부를 조사한 결과 Table 2와 같이 OE-12, S-8(*Candida* spp), OE-19(*Zygosaccharomyces* spp.) S-3(*Saccharomyces* spp.)등 4주의 효모가 감수성 효모의 생육을 저해하였다. 지금까지 killer 효모로

는 실험실 및 발효용 균주나 과일, 버섯, 토양등으로부터 *Saccharomyces* 속균을 중심으로 *Candida* 속, *Debaryomyces* 속, *Hansenula* 속, *Kluyveromyces* 속, *Pichia* 속, *Torulopsis* 속 등 14종이 분리되어 보고되었고(11) 포도 껍질과 알콜생산 공장에서부터 killer 효모인 *Candida dattila* K109(14)와 *Saccharomyces cerevisiae* B15-1, *Hansenular anomala* Y33(21, 32)등이 분리되어 세포융합등으로 육종되었다.

Killer 효모들이 비록 장류나 각종 알코올 발효 등에 관여하는 유용 효모들의 생육을 억제시켜 이들 발효에 다소 장애를 주지만 이들의 항균 특성을 세포융합이나 형질전환법 등을 이용하여 유용효모에 도입시키면 장류의 유통과정 중 효모의 2차 오염에 의한 괴오름 현상(13)과 김치나 알코올 발효 초기 산막 효모 등을 줄이는데 매우 유용하게 응용될 것으로 생각된다. 따라서 현재 이들에 대한 killer 효모들이 길항성과 killer 물질 생산 조건 및 이들의 유전공학적 육종에 관한 후속 실험이 진행되고 있다.

Table 2. Killing activity of the yeasts isolated from traditional Meju to killer sensitive yeasts

Strain NO.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 38026	Strain NO.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 38026
OE- 1	-	S- 1	-
OE- 2	-	S- 2	-
OE- 3	-	S- 3	7.0 mm
OE- 4	-	S- 4	-
OE- 5	-	S- 5	-
OE- 6	-	S- 6	-
OE- 7	-	S- 7	-
OE- 8	-	S- 8	7.5 mm
OE- 9	-	S- 9	-
OE-10	-	S-10	-
OE-11	-	S-11	-
OE-12	10.0 mm*	S-12	-
OE-13	-	S-13	-
OE-14	-	S-14	-
OE-15	-	S-15	-
OE-16	-	S-16	-
OE-17	-	S-17	-
OE-18	-	C- 1	-
OE-19	-	C- 2	-
OE-20	-	C- 3	-
OE-21	12.0 mm		
OE-22			
OE-23			
OE-24			
OE-25			
OE-26			
OE-27			

*;Killing activity, size of cler zone after incubation for 3days at 30°C.

항산화활성(전자공여작용)

α , α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)를 사용하여 47주 효모의 세포 배양액과 세포추출액의 항산화 활성 즉 전자 공여능을 조사한 결과(Table 3), 모든 균주들의 세포추출액에서는 항산화활성이 없었지만 OE-23, S-9 균들의 세포배양액에서 각각 61.3%와 59.2%의 활성을 나타내었다. 일반적으로 간장에는 숙성중 생성되는 maillard 반응에 의한 갈색물질로 항산화 활성이 있고(2-4), 재래식 메주 중의 수용성 갈변물질과 페놀 화합물이 linoleic acid에 대하여 강한 항산화 활성이 있으며(5), 계피(30), 솔잎과 쑥(6), 결명자, 들깨 등(10)의 천연 추출물에서도 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있다. 또한 최근 박 등(33)은 한국 발효식품으로부터 항산화 물질을 생산하는 *Bacillus* sp.을 분리하여 항산화 물질 생산 조건을 검토하고 이를 정제하여 몇 가지 성질을 조사하여 보고하였다. 본 실험에서 미생물 특히 메주 발효에 관여하는 효모가 DPPH에 대하여 항산화활성이 있는 것은 식품에서의 노화 억제 물질 선별에 매우 중요한 자료로 활용될 것이고 항산화 물질의 규명과 생성기작 등에 관한 추가의 실험이 요구된다.

아질산염 소거 작용과 tyrosinase 및 polyphenol oxidase 활성 저해 작용

메트 헤모글로빈 중독증 등을 유발시키는 것으로 알려져 있는 아질산염(8) 소거 작용을 조사한 결과 모든 균주의 세포배양액과 세포추출액에서 아질산염 소거 작용이 없었다(data not shown). 강 등(6)은 결명자, 들깨, 대추, 오미자, 생강 추출물의 경우 pH 3.0에서 80~90%의 높

Table 3. Antioxidant activity (Electron donating ability) of the yeasts isolated from traditional Meju

Strain NO.	Electron donating ability (%)		Strain NO.	Electron donating ability (%)	
	Extracellular	Intracellular		Extracellular	Intracellular
OE- 1	27.5	-	S- 1	31.1	-
OE- 2	27.0	-	S- 2	9.40	-
OE- 3	42.8	-	S- 3	54.8	-
OE- 4	33.9	-	S- 4	47.3	-
OE- 5	34.8	-	S- 5	30.3	-
OE- 6	35.8	-	S- 6	13.6	-
OE- 7	33.2	-	S- 7	16.5	-
OE- 8	17.4	-	S- 8	44.7	-
OE- 9	44.7	-	S- 9	59.2	-
OE-10	33.7	-	S-10	44.2	-
OE-11	26.7	-	S-11	54.7	-
OE-12	13.0	-	S-12	42.8	-
OE-13	45.9	-	S-13	27.6	-
OE-14	22.1	-	S-14	16.9	-
OE-15	43.7	-	S-15	36.2	-
OE-16	40.7	-	S-16	46.1	-
OE-17	50.9	-	S-17	48.2	-
OE-18	50.5	-	C- 1	26.5	-
OE-19	38.8	-	C- 2	39.9	-
OE-20	46.3	-	C- 3	43.5	-
OE-21	50.8	-			
OE-22	47.0	-			
OE-23	61.3	-			
OE-24	54.2	-			
OE-25	28.1	-			
OE-26	48.1	-			
OE-27	45.2	-			

은 아질산염 소거 작용이 있다고 보고하였다.

또한 멜라린 생합성 과정에 관여하는 tyrosinase와 광합성 대사산물로서 건강 유지에 중요한 polyphenol 화합물을 산화시키는 polyphenol oxidase 활성에 대한 메주 효모들의 저해를 조사한 결과 썩 등의 천연추출물(6)에서와는 달리 모든 메주효모의 세포배양액이나 세포추출액에서 이들 효소활성을 저해시키지 못하였다(data not shown).

요 약

재래식 메주에서 분리한 47주의 효모에 대하여 각종 효소활성, killer독성 물질생산, 항산화 활성과 아질산염 소거 작용 등을 세포배양액과 세포추출액으로 구분하여 조사하였다. α -galactosidase활성은 38주, invertase활성은 43주 및 inulinase 활성은 45주의 세포추출액에서 나타내었고 산성 및 중성 protease는 모든 세포배양액에서 활성을 보였으며 OE-20과 S-14 효모는 세포추출액에서 β -galactosidase 활성을 보였다. 분리 균주중 OE-12, S-8

(*Candida* 속균), OE-19(*Zygosaccharomyces* spp.), S-3 (*Saccharomyces* 속균) 등이 killer 독성 물질을 생성하였고 OE-23과 S-9의 세포배양액에서는 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)에 대하여 각각 61.3%와 59.2%의 항산화 활성을 보였다. 그러나 모든 균주는 아질산염 소거 작용과 tyrosinase 및 polyphenol oxidase 활성 저해작용이 없었다.

감사의 말

본 연구는 과기처 지원에 의한 G-7 신기능 생물소재 사업중 "전통 장류용 메주 생산의 산업화 연구"의 일환으로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. 유진영 1995. 전통장류용 메주의 산업화를 위한 기반 기술 연구. 한국식품개발 연구원 과학기술처 연구 보고서, 41-44.
2. 문갑숙, 최홍식. 1986. 우육 지방질의 산화에 미치는 간장의 항산화 작용에 관한 연구. 한국 식품과학회지 **18**(4): 312-318.
3. 문갑숙, 최홍식. 1987. 양조간장의 항산화 작용 및 항산화성 물질에 관한 연구. 한국 식품과학회지 **19**(6): 537-542.
4. 문갑숙. 1991. 간장제품의 종류에 따른 황산화 능의 비교. 한국 식품영양회지 **20**(6): 582.-589.
5. 이종호, 김미혜, 임상선. 1991. 재래식 메주 및 된장중의 항산화 물질에 관한 연구. 한국 식품영양학회지 **20**(2): 148-155.
6. 강운한, 박용곤, 오상룡, 문광덕. 1995. 솔잎과 썩 추출물의 기능성 검토. 한국 식품과학회지 **27**(6): 978-984.
7. 이 성, 권동진, 유진영, 정동효. 1996. 썩 추출물의 항돌연변이 활성효과. 한국산업미생물학회지 **24**(1): 105-110.
8. 정승원, 이남경, 김석중, 한대석. 1995. Tyrosinase 활성을 저해하는 식물체의 탐색. 한국식품과학회지 **27**(6): 891-896.
9. 오홍석, 함승시. 1992. 양송이 유래 polyphenol oxidase에 의한 polyphenol 화합물의 효소적 갈변생성물의 돌연변이 억제효과. 한국 식품화학회지 **24**: 341-345.
10. 도정룡, 김선봉, 박영호, 박영범, 김동수. 1993. 기호 음료성분의 아질산염 소거 작용. 한국 식품과학회지 **25**(5): 530-534.
11. Rose, A. H. and J. S. Harrison, 1987. The Yeast Vol.(2) Yeats and the Environment. Academic Press. pp. 131-161.
12. Bostian, K. Al, J. E. Hopper., D. T. Rogers and D. T. Tipper. 1980. Translational analysis of the killer-associated virus-like particle dsRNA genome of *S. cerevisiae*: M dsRNA encodes toxin. *Cell* **19**: 403-414.
13. Lee, J. S., Y. J. Choi, S. J. Kwon, J. Y. Yoo and D. H. Chung, 1996. Screening and characterization of osmotolerant and gas-producing yeast from traditional *Doenjang*

- and Kochujang. *Food and Biotechnol.* **5**(1): 54-58.
14. 최언호, 장해춘, 정은영, 정원철. 1990. 야생 Killer 효모 *Candida dattila*의 분리 및 동정, 한국 산업미생물학회지 **18**(1): 1-5.
 15. 정원철, 최언호. 1990. *Candida dattila* K109와 포도주 발효효모의 세포융합. 한국 산업미생물 학회지 **18**(2): 121-125.
 16. 이창호, 우철주, 이종수, 정기택, 박희동. 1996 Killer 효모 *Saccharomyces cerevisiae* B15-1의 에탄올 발효 특성. 한국 산업미생물학회지 **24**(3): 331-335.
 17. Gascon, S. and J. O. Lampen. 1968. Purification of internal invertase of yeast. *J. Biol. Chem.* **243**: 1567-1572.
 18. Choi, Y. J., I. H. Kim, B. H. Lee and J. S. Lee. 1995. Purification and characterization of β -galactosidase from alkalophilic and thermophilic *Bacillus* sp. TA-11. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **22**: 191-201.
 19. 유춘발, 김창화, 진영호, 진익렬. 1996. *Yarrowia lipolytica* TH65가 생산하는 alkaline proteinase의 정제 및 특성. 한국 산업미생물학회지 **24**: 316-320.
 20. 이종수, 이성훈, 권수진, 안철, 유진영. 1996. 재래식 메주로부터 효모의 분리, 동정 및 배양조건. 한국 산업미생물학회지(submitted).
 21. Chung, K. T., K. W. Bang., H. I. Song., J. K. Kim and Y. J. Jung. 1989. Isolation of the killer yeasts and its characteristics. *Kor. J. Microbiol.* **27**: 415-421.
 22. 이종수, 권수진, 정성원, 최영준, 유진영, 정동효. 1996. 한국 재래식 된장과 고추장의 숙성중 미생물, 효소활성 및 주요 성분의 변화. 한국 산업미생물학회지 **24**(2): 247-253.
 23. 김영수, 권동진, 구민선, 오훈일, 강통삼. 1993. 재래식 고추장 숙성중 미생물과 효소력의 변화, 한국식품과학회지 **25**: 502-509.
 24. 금종화, 이종수, 신철승, 1992. *Asp. niger*와 대두 α -galactosidase의 kinetic 성질. 배재대 자연과학 논문집. **5**(1): 53-57.
 25. 이종태. 1994. *Asp. ustus* GR-98에 의한 dextranase의 생산 및 특성에 관한 연구, 충남대학교 대학원 식품공학과 박사학위 논문. pp.6.
 26. Akiba, S., Y. Kimura., K. Yamamoto. and H. Kumagai. 1995. Purification and characterization of a protease-resistant cellulase from *Asp. niger* *J. Ferment. Bioeng.* **79**(2): 125-130.
 27. 최영준, 이종수. 1995. 호알칼리성, 고온성 *Bacillus* sp. TA-11에 의한 β -fructofuranosidase의 생산. 한국산업미생물학회지 **23**(2): 197-202.
 28. Somers, J. M. and E. A. Bevan. 1968. The inheritance of the killer character in yeast. *Genet. Res.* **13**: 71-83.
 29. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature.* **191**: 1199-1202.
 30. 김나미. 1992. 추출조건이 계피의 이화학적 특성에 미치는 영향. 세종대학교 대학원 식품공학과. 박사학위 논문.
 31. Onishi, N. and K. Yokozeki. 1996. Gluco-oligosaccharide and galacto-oligosaccharide production by *Rhodotorula minuta* IFO 879. *J. Ferment. Bioengineering.* **82**(2): 124-127.
 32. Chung, K. T., K. W. Bang., H. I. Song., J. K Kim and Y. J. Jung. 1989. Conditions for protoplast formation and fusion of the killer yeasts. *Kor. J. Microbiol.* **27**: 422-429.
 33. Park, E. Y. and B. H. Ryu. 1996. Antioxidant producing microorganism from Korean fermented food. Proceeding of Kor. Soc. Appl. Microbiol.(1996. 10). p.330.

(Received 24 February 1997)