

국내에 유통되는 종국 곰팡이의 분류학적 특성 및 안전성

홍승범^{1*†} · 홍성용^{2†} · 조규홍¹ · 김영식³ · 도종호⁴ · 도지영⁴ · 노석범⁵ · 윤한홍⁵ · 정수현^{2*}¹국립농업과학원 농업미생물과, ²고려대학교 바이오시스템의과학부, ³하경발효, ⁴(주)수원발효, ⁵(주)충무발효Taxonomic Characterization and Safety of *Nuruk* Molds Used Industrially in KoreaSeung-Beom Hong^{1*†}, Sung-Yong Hong^{2†}, Kyu-Hong Jo¹, Young-Sik Kim³, Jong-Ho Do⁴, Ji-Young Do⁴, Seok-Beom Noh⁵, Han-Hong Yoon⁵ and Soo-Hyun Chung^{2*}¹Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Korea²School of Biosystem and Biomedical Science, Korea University, Seoul 02841, Korea³Hakyeong Fermentation Co., Hwaseong 18324, Korea⁴Suwon Fermentation Co., Hwaseong 18520, Korea⁵Chungmoo Fermentation Co., Ulsan 44956, Korea

ABSTRACT : We examined taxonomic characteristics and safety of eight *Nuruk* molds that are widely used for making soybean paste, soy sauce and alcoholic beverages in Korea. HK1 from Hakyeong Fermentation Co., SW101 from Suwon Fermentation Co., CF1001, CF1002, CF1003 from Chungmoo Fermentation Co. and KACC 93210 are yellow-*Nuruk* molds, and SW201 from Suwon Fermentation Co. and CF1005 from Chungmoo Fermentation Co. are white-*Nuruk* molds. Six strains of yellow-*Nuruk* molds were identified as *Aspergillus oryzae*. HK1, SW101, CF1001 and CF1003 of yellow-*Nuruk* molds have middle length of stipes (711~1,121 μ m), and CF1003 (for sake) produced less conidia and more hyphae than HK1, SW101 and CF1001 (for soybean paste). CF 1002 used for soy sauce has shorter stipes (543 μ m) and is clustered into IBLB- group based on omtA gene analysis although the other yellow-*Nuruk* molds are clustered into ICAo group. KACC 93210 isolated from traditional Korean *Meju* has very short stipes (average 270 μ m), and showed velvety colonies although the others showed floccose colonies. The strain has different DNA sequences of omtA gene from other strains in NCBI GenBank as well as strains used in Korea, suggesting that it is unique from other strains published. SW201 and CF1005 of white-*Nuruk* molds were identified as *Aspergillus luchuensis* or *A. luchuensis* mut. *Kawachii* that is known as safe, non-toxigenic fungus. The six strains of yellow-*Nuruk* molds did not produce mycotoxins including aflatoxin, cyclopiazonic acid, and sterigmatocystin. Therefore, eight strains of *Nuruk* molds used for making soy sauce, soybean paste and alcoholic beverages in Korea were proved to be safe in this study.

KEYWORDS : *Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus oryzae*, *Nuruk* molds, Safety, Taxonomic characterization

서 론

Kor. J. Mycol. 2015 September, 43(3): 149-157
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.3.149
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: funguy@korea.kr; chung59@korea.ac.kr

†These authors contributed equally to this work.

Received September 9, 2015

Revised September 14, 2015

Accepted September 22, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

곰팡이는 기원전부터 다양한 발효식품 제조에 사용되었는데 술 제조 시에는 탄수화물을 당화시키는데, 장의 제조 시에는 콩의 단백질을 구수한 맛이 나는 아미노산으로 분해하는데 사용되었다. 일찍이 문호를 개방한 일본은 유럽의 미생물학을 도입하여 발효식품으로부터 곰팡이를 순수 분리하고 종균으로 개발하여 주류, 장류 등의 산업에 활용하였다. 이미 1900년대 초반에 일본은 황국균(*Aspergillus oryzae*, *A. sojae*), 흑국균(*A. luchuensis*, *A. niger*, *A. tubingenensis*), 백국균(*A. luchuensis* 또는 *A. luchuensis* mut. *kawachii*)을 개발하여 한국을 비롯하여 대만, 중국에 그 기술을 보급하였다[1, 2].

우리나라에서 술과 장의 제조에 종국(種麴, mold starter)을 사용한 것은 정확한 기술은 없으나 일제강점기 초기에 일본인에 의하여 시작된 것으로 추정되며 해방 이후 일본인들이 몰려나고 한국인들이 이를 자연스럽게 물려받아 사용하였다. 해방 이후에도 중국의 생산은 줄지 않았고 오히려 군수용 장류의 대량생산과 주류 제조를 위하여 더 많은 중국이 생산되었고 1970년대에 국내의 중국생산 업체는 16개 업체에 이르렀다. 하지만 정부의 규제적인 조세정책과 기업의 중국 자체 생산으로 그 숫자와 규모는 현저하게 줄었으며 현재 중국을 생산, 판매하는 기업은 3 곳[수원발효(주), 충무발효(주), 하경발효; 철자순]이고 연간 판매량은 25억여원에 불과하다. 국내 장류 시장의 규모가 9,435억원(2011년), 전통주 시장 규모가 6,036억원(2011년)이고 중국이 장류와 주류생산의 핵심 소재이며, 일본이 2015년 현재 약 1,300개의 중국제조업체가 있으며 판매량이 약 15억엔(약 150억원)임을 감안할 때에 국내 중국 시장이 얼마나 위축되어 있는지 짐작할 수 있다(관련자 이메일 교신). 이에 국내 중국 시장 발전을 위한 기초 연구로써 현재 국내에 유통되고 있는 중국 곰팡이(국(麴))을 순 우리말로 누룩이라 칭하므로 본 논문에서는 누룩 곰팡이라 칭한다. 이 때에 누룩은 술 만드는 협의의 누룩뿐만이 아니라 메주까지 포함하는 일어의 koji에 해당하는 넓은 의미로 사용되었다)의 분류학적인 특성과 안전성을 조사하고 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

현재 시중에 유통되는 수원발효의 황국균(SW101), 백국균(SW201), 충무발효의 된장용 황국균(CF1001), 간장용 황국균(CF1002), 청주용 황국균(CF1003), 하경발효의 황국

균(HK1)과 최근에 저자 등이 전통메주에서 분리하여 수원발효와 충무발효에 기술이전한 황국균(KACC 93210)을 실험에 사용하였으며 자세한 내용은 Table 1에 있다. 공시한 균주 중에서 수원발효와 하경발효의 균주는 판매되는 제품으로부터 균주를 순수분리하였으며 충무발효 균주는 회사에서 직접 분리한 균주를 제공받았다.

공시균주의 형태적 특성 분석을 위하여 Samson 등[3]이 제시한 *Aspergillus*속의 형태적 특성 분석의 표준 방법을 따랐다. Malt extract agar (MEA), Czapek yeast extract agar (CYA) 배지에서 배양 형태를 관찰하였으며 MEA 배지에서 자란 곰팡이의 대(stipe), 분생포자머리(conidial head), 분생포자(conida) 등을 관찰하였다. 분자생물학적 동정을 위하여 공시균주의 β -tubulin 유전자 염기서열을 분석하였으며[4] 분석한 염기서열은 황국균의 경우에는 Pildain 등[5]의 논문에서 나오는 표준균주와 백국균의 경우에는 Hong 등[6]의 논문에서 나오는 표준균주들과 염기서열을 비교하였다. 황국균의 경우에는 β -tubulin 유전자분석으로 *Aspergillus oryzae*와 *A. flavus*가 서로 구분되지 않기 때문에 Hong 등[7]의 논문의 방법에 따라 norB/cypA polymerase chain reaction (PCR) 증폭, omtA, aflR 유전자의 염기서열을 분석하였다. 염기서열에 근거한 계통수작성은 MEGA version 6.0 [8] 프로그램을 사용하였는데 균주간 거리 계산은 Tamura-Nei 상수거리계산모형을 계통도 작성은 neighbor-joining 법을 사용하였다.

공시균주의 안전성을 평가하기 위하여 황국균의 경우에는 *Aspergillus oryzae*, *A. flavus*, *A. parasiticus*가 생성할 수 있는 곰팡이 독소인 aflatoxin, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin의 생성여부를 조사하였다. 이 때 사용한 균주는 국내산 벧짚에서 분리하여 aflatoxin 생성능이 확인된 *A. flavus* KU027 (KACC 45441) 및 *A. parasiticus* KU115 균

Table 1. Nuruk molds used industrially in Korea

Scientific name	Isolate no.	KACC no.	Manufacturer	Colony	Stipe size (μ m)	Conidia size (μ m)	Aflatoxin	Cyclopiazonic acid	Sterigmatocystin
<i>Aspergillus oryzae</i>	CF 1001	47838	Choongmu	floccose	middle, 423~1,377 (806)	3.7~6.7 (5.1)	×	×	×
	CF 1002	47839	Choongmu	floccose	short, 339~860 (543)	3.0~4.0 (3.5)	×	×	×
	CF 1003	47840	Choongmu	floccose	middle, 612~1,657(1121)	3.9~5.5 (4.9)	×	×	×
	HK 1	47488	Hakyeong	floccose	middle, 562~1,363 (883)	4.2~5.9 (5.4)	×	×	×
	SW 101	47843	Suwon	floccose	middle, 538~1024 (711)	4.0~5.8 (5.3)	×	×	×
	KACC 93210	93210	Choongmu, Suwon	velvety	very short, 189~324 (270)	4.1~6.3 (5.3)	×	×	×
<i>Aspergillus luchuensis</i>	CF 1005	47841	Choongmu	velvety	315~513 (432)	3.4~4.9 (4.2)	ND	ND	ND
	SW 201	47844	Suwon	velvety	355~575 (469)	3.2~4.6 (3.8)	ND	ND	ND

ND, not determined.

주로서 고려대학교 바이오시스템의과학부에 보존 중인 균주였다. 두 aflatoxin 생성 균주와 공시한 *A. oryzae* 6균주의 aflatoxin, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin의 생성능 확인을 위하여 각 균주를 Czapek yeast extract broth 및 agar 배지에 접종하여 28°C, 10일간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 균주의 aflatoxin 생성능 확인은 Tao와 Chung [9]의 방법, cyclopiazonic acid 생성능은 Hayashi와 Takumi [10]의 방법, sterigmatocystin 생성능은 Rank 등 [11]의 방법에 따라 전처리 후 HPLC를 사용하여 UV 또는 형광검출기에 의한 정량분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

본 실험에 공시한 국내의 중국회사에서 판매하고 있는 황국균은 모두 *A. oryzae*로 동정되었다. β -tubulin 유전자 계통수에서 이들은 모두 *A. oryzae*, *A. flavus*와 하나의 그룹을 형성하였으나 *A. sojae*와는 먼 유연관계를 보였다(Fig. 9). 특히 충무발효의 CF1002를 제외한 5균주는 β -tubulin 유전자 염기서열이 서로 완전히 일치하였다. 하지만 β -tubulin 유전자로는 이들이 *A. oryzae*인지 *A. flavus*인지 구분이 불가하기 때문에 Hong 등 [7]의 방법에 따라 이플라톡신 생합성 유전자 클러스터 내의 *norB/cypA* 유전자의 PCR 증폭과 *aflR*, *omtA* 유전자 염기서열 분석을 실시하였다. 그 결과 국내의 누룩곰팡이 6균주는 *norB/cypA* 분석시에는 Type I 결실, *aflR* 유전자에서는 Ao 타입에 속함으로써 *A. oryzae*로 동정되었다(결과 미제시). 특히 *omtA* 유전자 유연관계도에서 CF1001, CF1003, SW 101, HK-1 균주는 전형적인 *A. oryzae* 그룹인 ICAo 그룹 [12]에 속하는 *A. oryzae* SRRC 493 균주와 하나의 그룹을 형성하였다(Fig. 10). 그러나 충무발효의 간장용 황국 균주인 CF1002는 일본의 Kikkoman Co. 간장 제조에 사용되는 IBLB- 그룹에 속하는 RIB40 균주와 하나의 그룹을 형성하였다. 반면 국내 전통 메주에서 분리된 KACC 93210 균주는 국내에서 유통되고 있는 균주와는 차별성을 보였다. 특히 이 균주는 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에서 BLAST 분석을 실시하였을 때에도 기존에 보고된 어떤 균주와도 염기서열이 일치하지 않아(데이터 미제시), 이 균주가 기존에 사용되는 어떤 균주와도 차별되는 균주임을 알 수 있었다.

*A. oryzae*로 동정된 6균주는 MEA, CYA에서의 생장특성, 대(stipe)의 길이, 분생포자(conidia)의 크기 등에서 서로 구분되었다(Table 1, Figs. 1~6). 먼저 배양 특성에서 KACC 93210 균주는 벨벳모양(velvety)으로(Fig. 6) 기타 5균주는 양털모양(floccose)으로(Figs. 1~5) 서로 다른 집락(colony) 형태를 나타냈다. 포자 형성은 KACC 93210 > SW101, CF1001 > HK1 > CF1003 > CF1002 순서로 빠르게 그리고 많이 형성되었다. 대(stipe) 길이는 HK1, SW101, CF1001, CF1003 균주가 짧게는 711 μ m에서 길게는 1,121 μ m

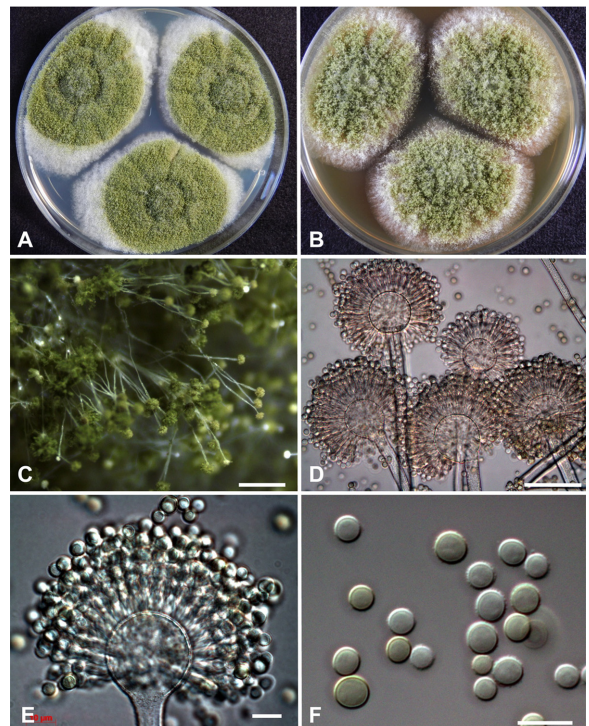


Fig. 1. CF1001 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C); Conidial heads (D, E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

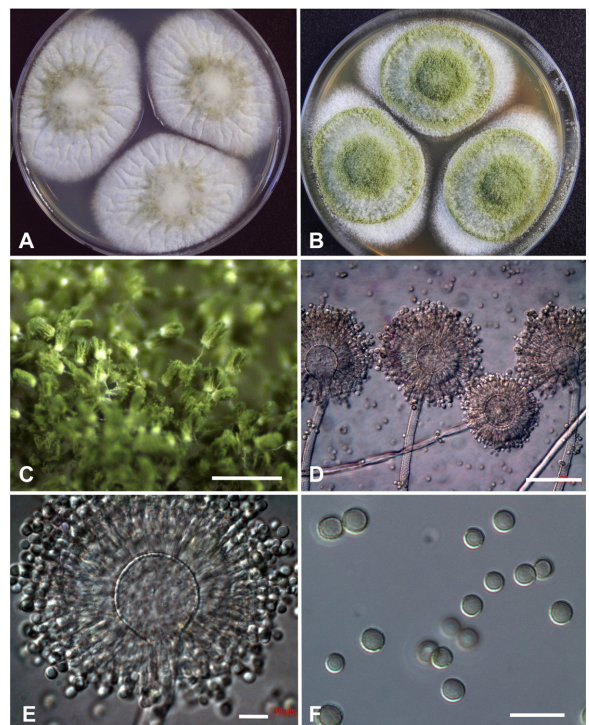


Fig. 2. CF1002 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C); Conidial heads (D, E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

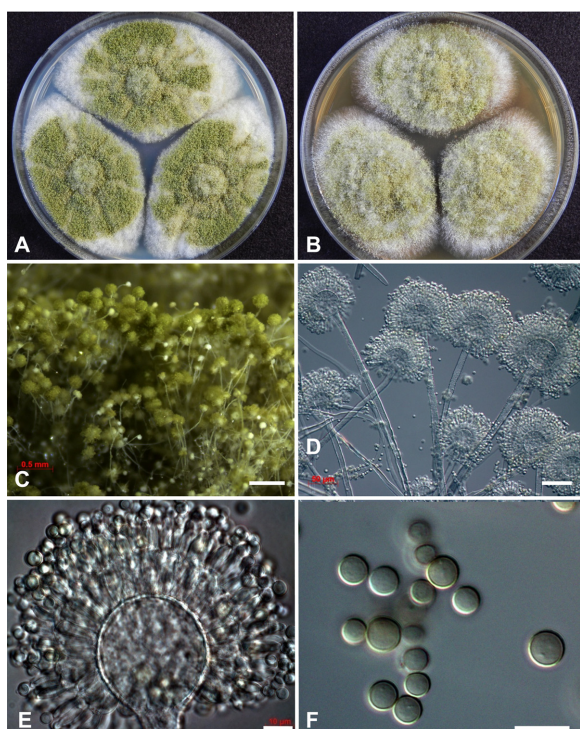


Fig. 3. CF1003 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C); Conidial heads (D, E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

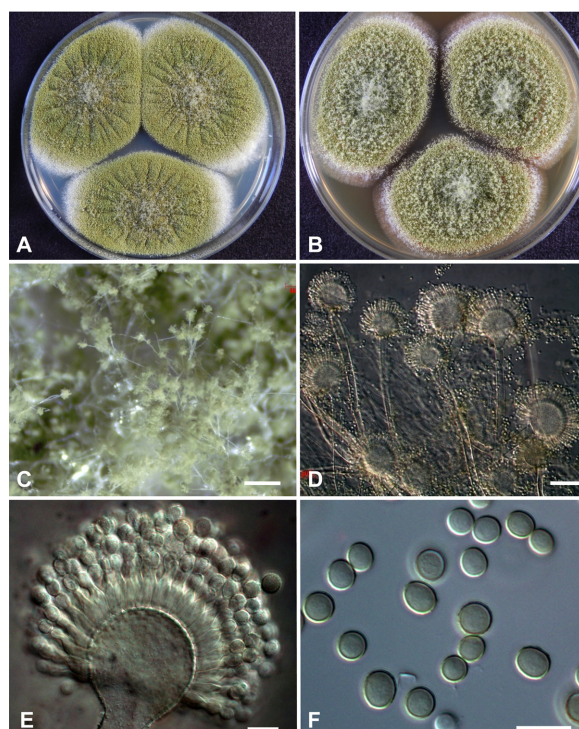


Fig. 5. SW101 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C); Conidial heads (D, E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

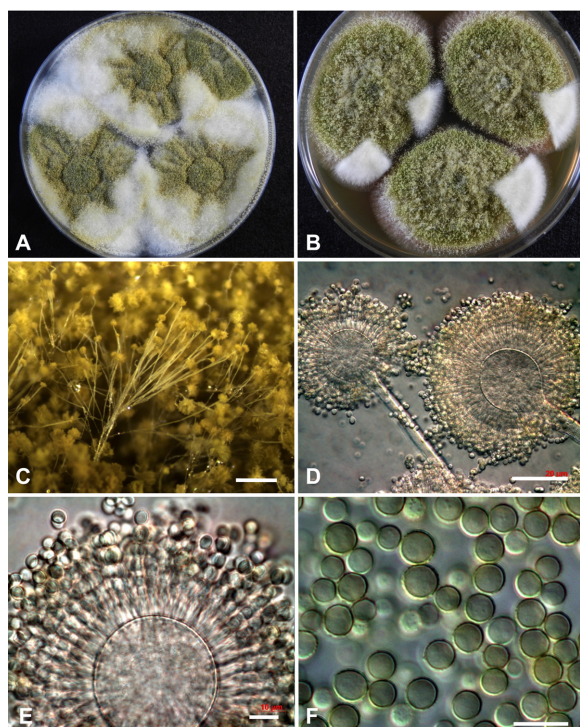


Fig. 4. HK1 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C); Conidial heads (D, E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

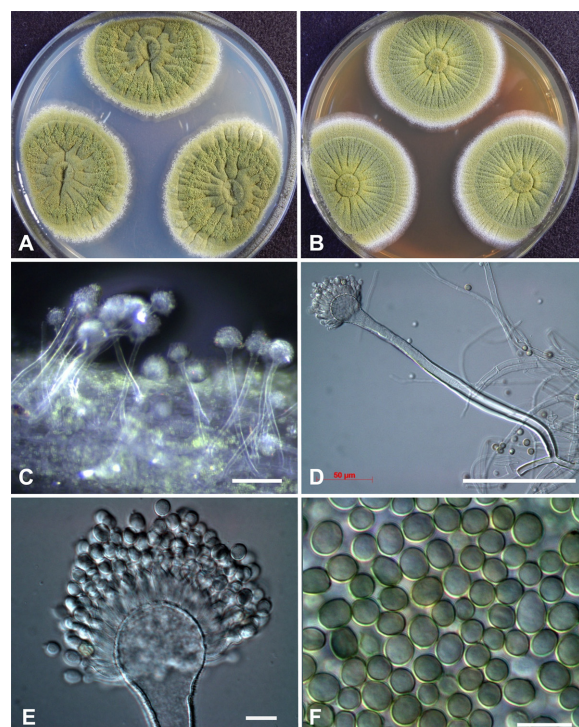


Fig. 6. KACC 93210 *Aspergillus oryzae*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Stipes and conidial heads (C, D); Conidial head (E); Conidia (F). (scale bars: C, D = 100 μ m, E, F = 10 μ m).

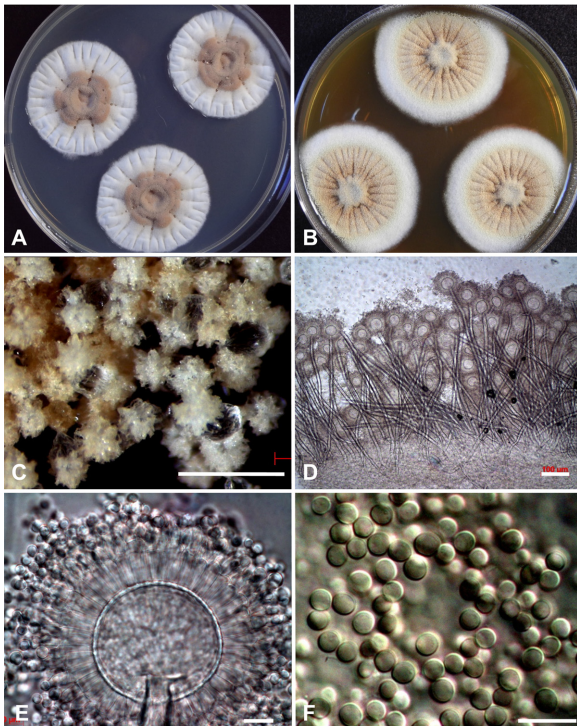


Fig. 7. CF1005 *Aspergillus luchuensis*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Conidial heads (C~E); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 50 μ m, E, F = 10 μ m).

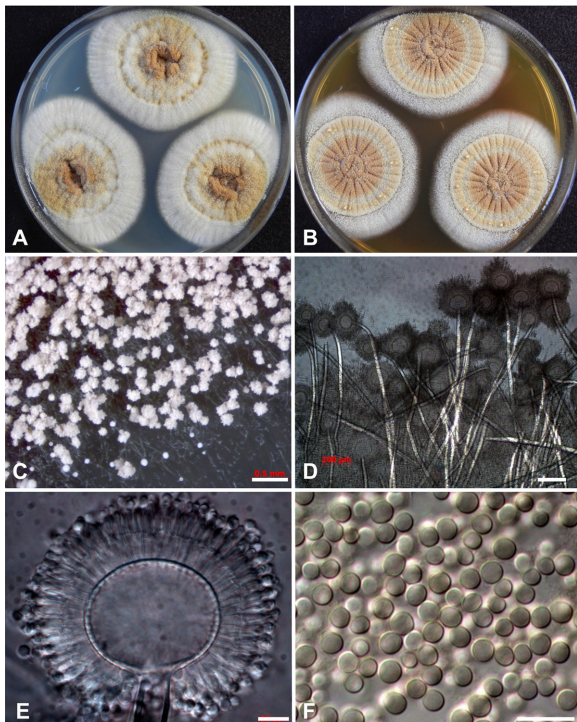


Fig. 8. SW201 *Aspergillus luchuensis*. Colonies of Czapek yeast extract agar (A) and malt extract agar (B); Conidial heads (C, E); Stipes and conidial heads (D); Conidia (F). (scale bars: C = 500 μ m, D = 100 μ m, E, F = 10 μ m).

까지의 중간 정도의 길이 (중모, 中毛)로 관찰되었고, 간장용 균주인 CF 1002는 평균이 543 μ m로 단모(短毛)를 나타내었다. KACC 93210 균주는 대의 길이가 평균 270 μ m로 단모보다도 더 짧은 초단모(超短毛)로 관찰되었다(Table 1, Figs. 1~6). 이 균주는 대의 길이가 짧기 때문에 포자를 일찍 그리고 많이 형성하였으며 또한 벨벳 모양의 집락을 형성하였다(Fig. 6). 분생포자는 간장용 균주인 CF1002가 평균 3.5 μ m로 다른 균주(4.9~5.4 μ m)에 비하여 현격히 작았다(Table 1, Fig. 2).

이상의 분류학적 특징을 종합하면 국내에서 유통되는 황국균은 크게 4가지 그룹으로 구분될 수 있다. 먼저 하경발효의 HK1, 수원발효의 SW101, 충무발효의 CF1001은 β -tubulin과 omtA 유전자 염기서열에서(Figs. 9, 10) 그리고 분생포자, 배양형태 등의 형태적 특징에서도 서로 구분되지 않았다. 특히 SW101과 CF1001은 여러 가지 특징에서 서로 구분되지 않았다. 다만 대(stipe)의 길이에서는 HK1이 SW101, CF1001보다 다소 길었다(Figs. 1, 4, 5). 이들은 모두 아밀라아제와 프로테아제를 양호하게 생성하여 된장 제조에 주로 이용된다. 청주 제조에 주로 사용되는 CF1003은 omtA 유전자에서 그리고 분생포자 크기 등에서 된장용 균주인 HK1, SW101, CF1001과 서로 구분되지 않았으나 이들에 비하여 대의 길이가 길고, 포자 생성량이 다소 적고, 균사가 더 발달한 것으로 관찰되었다(Fig. 3). 하지만 분류학적으로 이들은 서로 명확히 구분되지는 않았다. 반면에 간장용 균주인 CF1002는 다른 5균주의 황국균과는 명확히 구분되었다. 먼저 집락 모양에서 포자형성이 상대적으로 부족하고 포자의 크기가 다른 균주에 비하여 명확히 작았다. 또한 대의 크기도 중모균인 SW101, CF1001, CF1003, HK1 보다 짧았고 초단모균인 KACC 93210에 비하여 명확히 길었다(Fig. 2). 무엇보다도 OmtA 유전자 분석에서 나머지 황국균이 모두 ICAo 그룹에 속하는 반면에 CF1002 균주는 IBLB- 그룹에 속하여 명확히 구분되었다(Fig. 10). 끝으로 국내유통을 준비하고 있는 KACC 93210 균주는 형태적으로는 대의 길이가 평균 270 μ m로서 중모균인 SW101, CF1001, CF1003, HK1의 711~1,121 μ m는 말할 것도 없고 단모균 CF1002의 543 μ m에 비하여도 명확히 짧았다(Fig. 6). 이로 인하여 이 균주는 다른 황국균에 비하여 포자를 빨리 그리고 많이 생성하며 다른 황국균이 양털모양으로 자라는데 반하여 이 균은 벨벳 모양으로 자라므로 배양 후 육안관찰만으로도 쉽게 구분할 수 있었다. 또한 이 균은 omtA 유전자 분석에서 ICAo 그룹에 속하는 SW101, CF1001, CF1003, HK1 균주와 가까운 유연관계를 나타내긴 하였으나 서로 명확히 구분됨으로써(Fig. 10) 이 균은 기존에 국내에서 유통되고 있는 황국균과 차이가 있음을 보였다.

황국균이 인체에 유해한 독소를 생성하는지를 조사하였다. *A. oryzae*와 *A. flavus*가 생성할 수도 있는 aflatoxin, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin의 생성에 대하여 HPLC

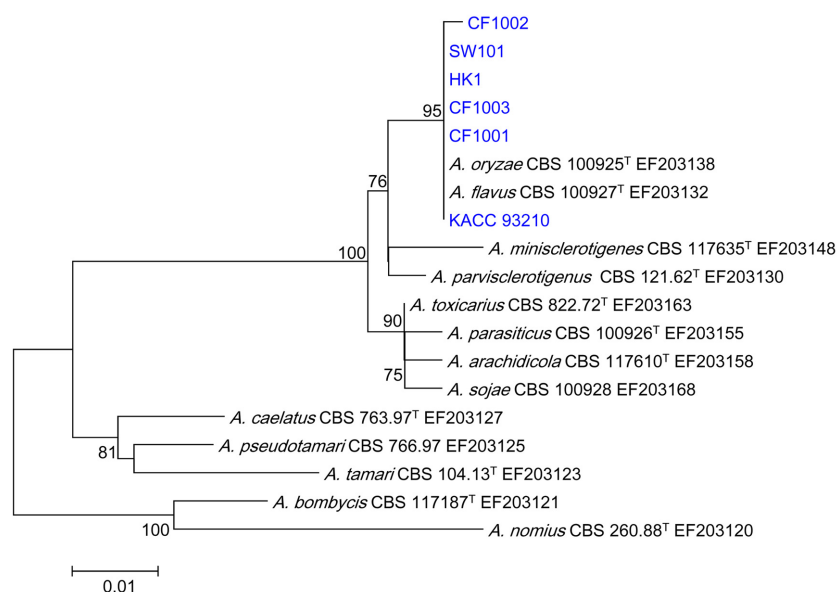


Fig. 9. Taxonomic position of yellow-Nuruk molds based on β -tubulin gene.

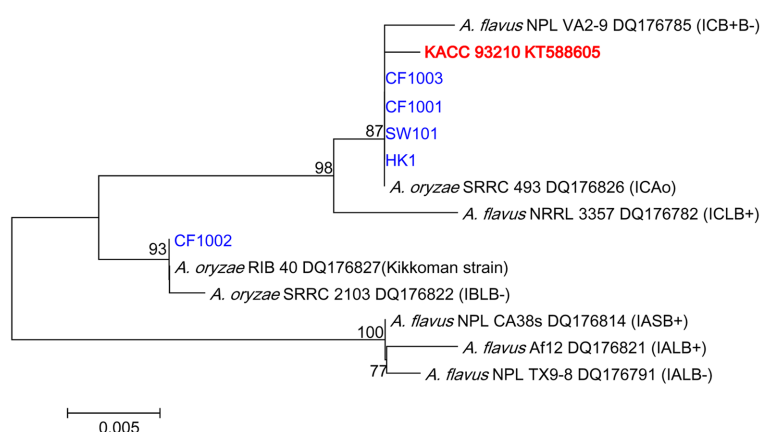


Fig. 10. Dendrogram of yellow-Nuruk molds based on *omtA* gene analysis.

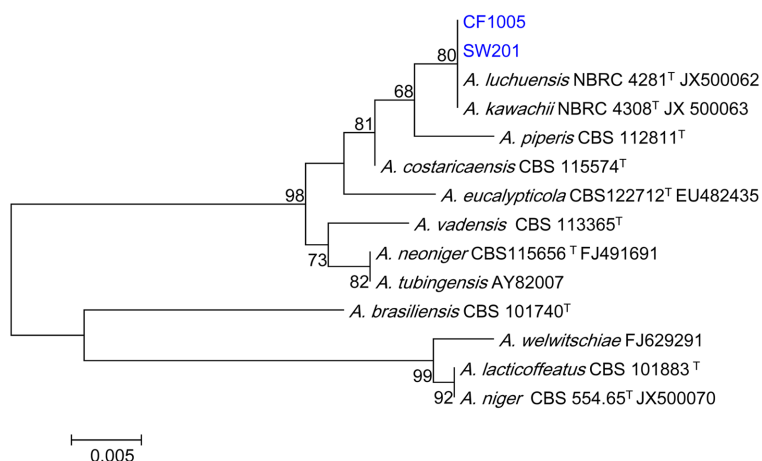


Fig. 11. Taxonomic position of white-Nuruk molds based on β -tubulin gene.

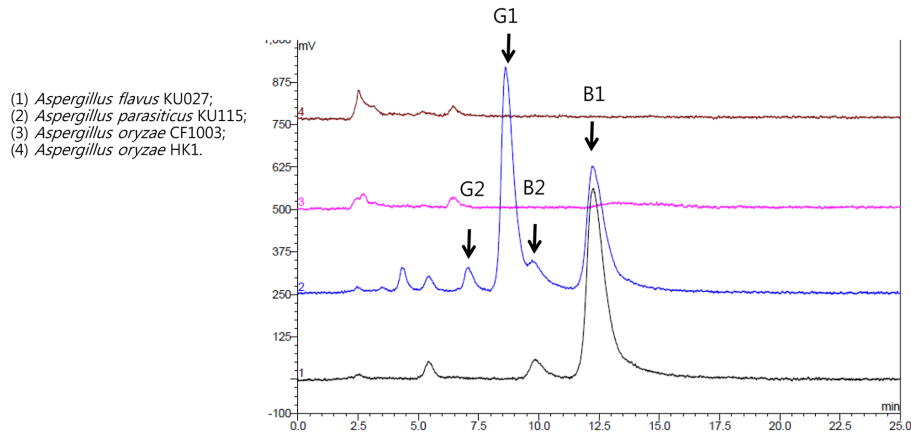


Fig. 12. HPLC chromatograms of aflatoxin analysis.

분석을 실시한 결과, 대조균으로 사용한 *A. flavus* KU027 균주는 aflatoxin B1, B2를 생성하였고, *A. parasiticus* KU 115 균주는 aflatoxin B1, B2, G1, G2과 sterigmatocystin을 생성하는 것에 비하여 본 연구에서 공시균주로 사용한 *A. oryzae* 6균주는 aflatoxin, cyclopiazonic acid 및 sterigmatocystin을 생성하지 않았다. 각 공시균주 및 대조균주의 aflatoxin, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin의 생성능 결과는 Table 1 및 Figs. 12~14에 각각 나타내었다.

백국균은 일본의 양조업자인 Kawachi Kenichiro가 보관 하던 흑국균(당시의 *A. awamori*, 현재는 *A. luchuensis*)에서 자연적으로 발생한 백색 돌연변이주를 선별하여 양조 실험을 한 결과, 발효학적인 특성이 우수하여 일본을 비롯한 대만, 중국, 한국 등에 유통시킨 균주이다[13]. 이 균주는 1920년 이래 동아시아의 서로 다른 지역에서 사용됨으로써 배양적인 특징의 차이는 다소 있을지라도 주요 형태적인 특징과 분자생물학적인 특징은 서로 다르지 않을 것으로 추정된다. 본 실험에서도 수원발효의 SW201과 충무

발효의 CF1005는 β -tubulin 유전자 염기서열이 Kawachi의 원균주인 NBRC 4308과 100% 상동성을 보였다(Fig. 11). 또한 형태적 특성 중에서 집락 형태에서 다소 차이는 있으나 대의 길이, 포자크기 등의 주요 분류특성에서는 Kitahara와 Yoshida [13]가 기록한 표준균주의 특성과 서로 구분이 되지 않았다(Table 1, Figs. 7, 8). 따라서 수원발효의 SW 201과 충무발효의 CF1005는 *A. luchuensis*로 더 명확하게는 *A. luchuensis* mut. *kawachii*로 동정되었다. Hong 등[6]이 세계적으로 수집한 다수의 *A. luchuensis*가 인체에 유해한 어떤 독소도 생성하지 않는 안전한 곰팡이임을 보고하였으므로 본 실험에서는 백국균이 생성하는 독소에 대하여 추가적인 실험은 실시하지 않았다.

적 요

장류와 주류 제조를 위하여 국내에서 유통되는 하경발효의 황국균(HK1), 수원발효의 황국균(SW101), 백국균(SW

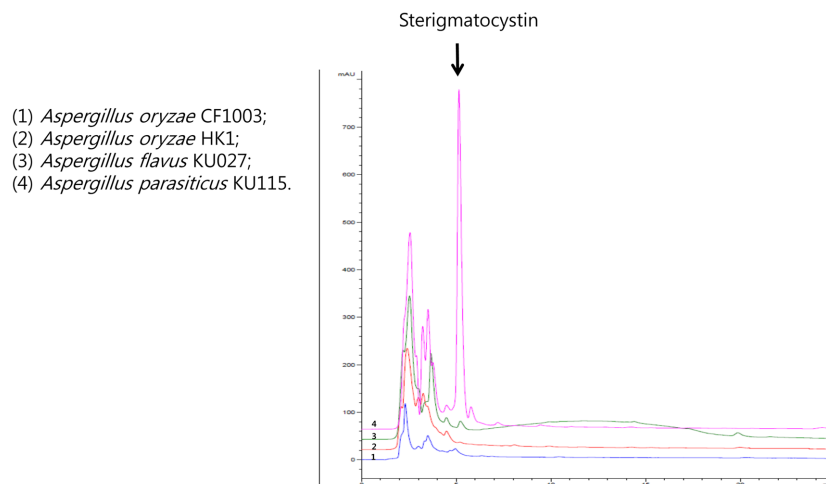


Fig. 13. HPLC chromatograms of sterigmatocystin analysis.

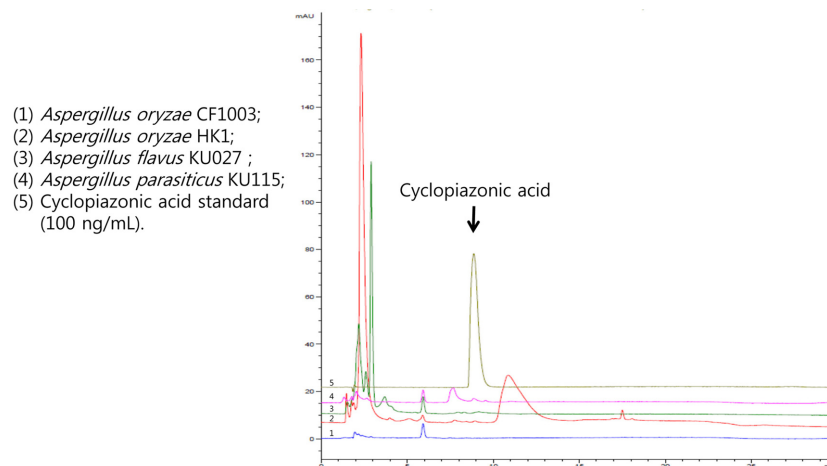


Fig. 14. HPLC chromatograms of cyclopiazonic acid analysis.

201), 충무발효의 된장용 황국균(CF1001), 간장용 황국균(CF1002), 청주용 황국균(CF1003), 주류용 백국균(CF1005)과 전통 메주에서 분리하여 산업화 준비를 하고 있는 황국균(KACC 93210)의 분류학적 특성과 안전성을 조사하였다. 공시한 6균주의 황국균은 모두 *A. oryzae*로 동정되었으며 이 중 HK1, SW101, CF1001, CF1003은 분생포자를 생성하는 대(stipe)의 길이가 중간크기(711~1,121 μm , 中毛)로써 서로 유사한 형태적 및 분자계통학적 특성을 나타내었으나 청주용인 CF1003이 다른 3균주에 비하여 포자를 다소 적게 그리고 균사를 다소 많이 생성하였다. 간장제조용인 CF1002는 대의 길이가 평균 543 μm 로서 짧았으며(短毛) *omtA* 유전자 분석에서 다른 황국균이 ICAo 그룹에 위치하는 반면에 IBLB- 그룹에 소속되어 명쾌히 구분되었다. 전통메주에서 분리되어 산업화 과정에 있는 황국균 KACC 93210 균주는 대(stipe)가 평균 270 μm 로 매우 짧았으며(超短毛) 다른 황국균이 양털모양의 집락을 형성하는 반면 벨벳모양의 집락을 형성하여 형태적으로 쉽게 구분되었고 *omtA* 유전자에서도 공시한 황국균은 물론 세계적으로 보고된 어떤 황국균과도 염기서열이 서로 달랐다. 수원발효의 백국균(SW201)과 충무발효의 백국균(CF1005)은 모두 *A. luchuensis* (또는 *A. luchuensis* mut. *kawachii*)로 동정되었으며 집락 형태가 다소 상이하였으나 기타의 형태적 특징과 분자계통학적 특징에서 서로 구분되지 않았다. 황국균 6균주는 aflatoxin, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin의 곰팡이 독소를 생성하지 않았고 백국균(*A. luchuensis*)은 유해한 독소를 생성하지 않는 것으로 이미 보고되었으므로 국내에 유통되는 황국균과 백국균은 모두 곰팡이독소에서 안전한 곰팡이임이 입증되었다.

Acknowledgements

This study was carried out with the support (Project

no. PJ01124801) of National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

REFERENCES

- Hong SB, Yamada O, Samson RA. Taxonomic re-evaluation of black koji molds. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014;98:555-61.
- Murakami H. Taxonomic studies on Japanese industrial strains of the *Aspergillus* (Part 32). *J Brew Soc Jpn* 1979;74:849-53.
- Samson RA, Visagie CM, Houbaken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB, et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol* 2014;78:141-73.
- Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *App Environ Microbiol* 1995;61:1323-30.
- Pildain MB, Frisvad JC, Vaamonde G, Cabral D, Varga J, Samson RA. Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008;58:725-35.
- Hong SB, Lee M, Kim DH, Varga J, Frisvad JC, Perrone G, Gomi K, Yamada O, Machida M, Houbaken J, et al. *Aspergillus luchuensis*, an industrially important black *Aspergillus* in East Asia. *PLoS One* 2013;28:e63769.
- Hong SB, Lee M, Kim DH, Chung SH, Shin HD, Samson RA. The proportion of non-aflatoxigenic strains of the *Aspergillus flavus/oryzae* complex from Meju by analyses of the aflatoxin biosynthetic genes. *J Microbiol* 2013; 51:766-72.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 2013;30:2725-9.
- Tao L, Chung SH. Non-aflatoxigenicity of commercial *Aspergillus oryzae* strains due to genetic defects compared to aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *J Microbiol Biotechnol* 2014;24:

- 1081-7.
10. Hayashi Y, Takumi Y. Analysis of cyclopiazonic acid in corn and rice by newly developed method. Food Chem 2005;93: 215-21.
11. Rank C, Nielson KE, Larsen TO, Varga J, Samson RA, Frisvad JC. Distribution of sterigmatocystin in filamentous fungi. Fungal Biol 2011;115:406-20.
12. Chang PK, Ehrlich KC, Hua SS. Cladal relatedness among *Aspergillus oryzae* isolates and *Aspergillus flavus* S and L morphotype isolates. Int J Food Microbiol 2006;108:172-7.
13. Kitahara K, Yoshida M. On the so-called Awamori white mold part III. (1) morphological and several physiological characteristics. J Ferment Technol 1949;27:162-6.