

## 한국 재래식간장의 발효미생물에 관한 연구

—한국재래식메주의 발효미생물군에 대하여—

조 덕 현 · 이 우 진

(서울대학교 농과대학 식품공학과)

(1970, 1, 31. 수리)

### Microbiological Studies of Korean Native Soy-sauce Fermentation:

A Study on the Microflora of Fermented Korean Maeju Loaves

Duck Hiyon Cho and Woo Jin Lee

Department of Food Technology, College of Agriculture, Seoul National University

(Received Jan. 31. 1970)

#### Summary

Five samples of Korean native Maeju(fermented soy-bean mash) loaves which were collected each from Kyunggi, Chungchung, Kangwon, Cholla and Kyungsang-Do were examined for their fermenting microorganisms. The results of taxonomic and ecological studies of fermentation microorganisms in these Maeju loaves were as the follows.

(1) The fungus flora grew only in the outer layer of Maeju loaves. Miscellaneous molds, 3 species of *Mucor*, 2 species of *Penicillium*, one species each of *Scopulariopsis* and *Aspergillus*, were isolated. None of them seemed exclusively predominant to be able to designate as the ecologically significant.

(2) The bacterial flora which consisted of two species, *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* were distributed uniformly in the entire Maeju loaves. The inner parts of Maeju loaves were especially inhabited solely by these bacterial flora. Probably the Korean native Maeju fermentation could be characterized by these bacterial flora. A *Staphylococcus* species was also isolated probably as a casual contaminant.

(3) The yeasts, *Rhodotorula flava* and *Torulopsis dattila*, were isolated from Maeju loaves though their ecological significance was not clear.

(4) The ecological aspects of fermentation microbes in the outer and inner parts of Maeju loaves were apparently different, consequently different fermentation processes might have occurred in these two parts and it brought quite different final outlooks in the final matured Maeju loaves. The outer part, rather rigid and dry, retained the light brown color of boiled soy-bean; whereas the inner part, soft and sticky, showed dark brown color indicating severe chemical changes.

(5) The aflatoxin producing mold, *Aspergillus oryzae* was isolated from one sample among 5 of Maeju loaves. In addition to the low probability of isolability from Maeju loaves samples, since this mold grew only in the outer layer of Maeju loaves with such a low population density, about  $10^4/g$ , perhaps the aflatoxin problem in Korean native soysauce may not be critical.

본 연구는 FY-69 문교부 학술연구조성비에 의하여 이루어진 것임.

## 머 리 말

우리나라의 간장은 이미 683년 삼국사기(三國史記)에 기록이 되어 있을 정도로 그 역사가 오래된 것으로 참으로 장구한 세월을 두고 식용되어 오면서 발전된 한국의 기본식품의 하나이다. 그러나 한국 재래식 간장은 1900년 이후의 우리나라 자연과학 연구의 부진과 1910-1945년 동안의 일본식 간장공업의 침입 때문에 그 근대과학적인 연구가 1960년 이전에는 Ueno<sup>(1)</sup>의 간장의 일반분석에 관한 보고외에는 전혀 없었다. 겨우 1960년 이후 최근 10년간 한국 재래식 간장의 연구가 우리나라 사람들의 주목을 끌기 시작하여 Jo<sup>(2)</sup>의 간장의 분석에 관한 보고, 송등<sup>(3)</sup>의 간장의 Pellicle forming yeast의 분리에 대한 보고, 장<sup>(4,5,6,7,8)</sup>의 한국 간장의 생화학적 연구등의 연구보고가 있었다.

이같이 최근 한국 재래식 간장의 연구가 주목을 끌게된 원인은 1910년 이후에 우리나라에 도입된 일본식 간장이 현재 우리나라에서 공업적으로 생산되는 단 한 종류의 간장임에도 불구하고 이것은 우리나라의 가정에서 널리 사용되고 있는 한국 재래식 간장과는 그 맛이나 용도가 달라서 한국가정의 간장 수요를 전적으로 충족시킬 수가 없으므로 한국 재래식 간장의 공업적 생산을 위한 기초연구가 필요하다는 것을 점차 알게 되었기 때문이라고 생각된다.

역시 일본식 간장은 일본사람들에 의하여 그들의 식성과 용도에 맞게끔 연구 발전된 것이 그 것이 모든 면에 있어서 우리나라의 재래식 간장을 대치하여 줄 수 있는 것은 결코 못되고 또 공업적으로 생산 판매되고 있는 일본식 간장은 가격도 비싸서 우리나라에서는 아직도 집집마다 한국 재래식 간장을 가정에서 만들고 있는 형편이다. 그러나 우리나라의 경제구조가 점차 농업에서 공업으로 변화하여 가며 인구밀도가 높은 도시의 수가 증가하여 감에 따라 재래식 간장도 자가제조하는 것 보다는 공업적으로 대량생산하여 염가로 각 가정에 공급하여 주는 공장생산이 사회적으로 필요하게 되는 바 이같은 한국 재래식 간장의 공업화를 위한 기초과학적인 연구가 절실히 요망되는 것이다.

그러나 한국 재래식 간장은 전적으로 발효법(fermentation)에 의하여 만들고 있으므로 이의 과학적인 연구는 그 발효미생물의 연구가 기초가 되

는 것이다. 한국 재래식 간장의 발효 미생물에 관한 연구는 극히 미미하여 송등<sup>(3)</sup>의 간장의 부패에 관여하는 pellicle forming yeast에 관한 보고, 장<sup>(8)</sup>의 저장 간장중의 발효 미생물을 크게 aerobic bacteria, lactic acid bacteria 및 halophilic yeasts의 3군으로 나누어서 그 생균수(viable counts)를 조사한 결과가 있을 뿐이므로 이제 필자들은 처음으로 한국 재래식 간장의 전 발효과정에 관계되는 모든 미생물을 분류 및 생태학적으로 연구하여 한국 재래식 간장의 발효에 관계하는주 미생물군을 발견하여 한국 간장발효의 특성을 구명함으로써 앞으로의 한국 재래식 간장의 과학 및 공업적인 발전에 필요한 기초를 확립하고자 하는 바 우선 재래식 간장의 원료가 되는 한국 재래식 메주 중의 발효미생물군의 분류 및 생태학적인 연구를 완료하였으므로 이에 보고하는 바이다.

한국 재래식 메주중의 발효 미생물의 생태학적 연구는 상기한 이유외의 다른 면에서 또한 중요한 의미를 갖고 있다. 일본식 간장은 그 메주를 만드는데 발효 미생물로서 순수한 *Aspergillus oryzae*를 사용하는 바 이 미생물은 독성분인 aflatoxin을 생산하는 *Aspergillus flavus*와 매우 가까운 균종으로서 이 균을 사용하는 일본식 간장의 인체에 대한 유해성 여부가 세계적으로 문제가 되고 있는 것이다. 한국 재래식 메주는 그 발효 미생물의 생태가 본 연구 이전에는 알려진 바가 없는데 다만 1969년 TIME<sup>(9)</sup>에 한국 재래식 메주에는 *Aspergillus flavus*가 많이 있다고 언급된 바 있다. 한국 재래식 메주의 발효미생물의 연구에 있어서 이 문제는 과학적으로 해명하여야 할 중대한 문제로서 필자들은 본 연구에 있어서 한국 메주중의 특히 *Aspergillus flavus* 및 이에 가까운 균주의 생태 및 aflatoxin 문제를 연구 고찰하고자하는 바이다.

본 연구는 1969년도 문교부 학술 연구 조성비로 연구하여 이와같이 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 메주 시료

본 실험에서 발효미생물의 생태를 조사하기 위한 메주 시료는 가급적 한국 전역에서 골고루 채취할 의도하에 다음과 같은 5개 도에 소재하는 임의의 개인가정에서 자가제조한 한국 재래식 메주 중의 각각 한개씩 임의로 택한 5개의 시료를 사용하였다.

경기도-수원

충청도—부여  
 강원도—횡성  
 전라도—광주  
 경상도—김천

상기 5개의 매주 시료는 1969년 5월경에 수집하였으므로 숙성이 완료된 매주라고 할 수 있다. 이들 매주의 모양은 5개 매주 시료가 다 같은 배모기둥 모양의 것으로서 그 크기(세로×가로×높이)는 각각 다음과 같았다.

경기도—20×20×6cm(부피 2400cm<sup>3</sup>)  
 충청도—15×15×7cm(부피 1575cm<sup>3</sup>)  
 강원도—20×20×6.5cm(부피 2600cm<sup>3</sup>)  
 전라도—9×15×9cm(부피 1215cm<sup>3</sup>)  
 경상도—16×20×8cm(부피 2560cm<sup>3</sup>)

이들 매주를 수직으로 절단한 절단면을 조사하면 이들 5개 매주 시료가 모두 다음 Fig. 1에 보

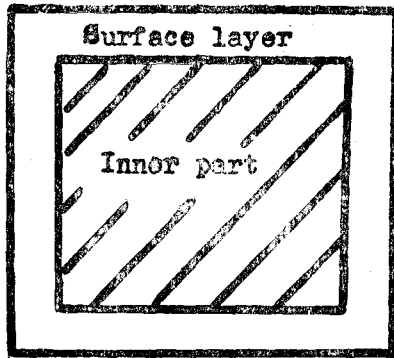


Fig. 1. The longitudinal cross section of Maeju loaves

인 바와 같이 비교적 단단하고 색이 옅은 갈색의 겉표면층의 부분과 색이 진하고 검은 갈색이며 그 질이 끈끈하고 비교적 연한 내부부분으로 되어 있다는 것을 알 수 있었다.

상기 5개 매주의 내부부분 및 표면부분의 크기는 다음 Table 1에 표시된 바와 같았다.

Table 1. The sizes of the light colored surface layer and dark colored inner part of matured Korean Maeju loaves.

Maeju samples	Surface or Inner part	Thickness (cm)	Volume (cm <sup>3</sup> )
Kyunggi-Do	Surface	0.8	1104
	Inner		1296
Chungchong-Do	Surface	2.0	1212

Kangwon-Do	Inner	2.0	363
	Surface		1960
	Inner		640
Cholla-Do	Surface	1.0	578
	Inner		637
Kyungsang-Do	Surface	1.0	1048
	Inner		1512

## 2. 매주종의 미생물의 분리 및 동정

매주에 있는 발효미생물을 분리하는 때는 상기 5개 매주 시료에서 각각 그 표면부분과 내부부분에서 되도록 무균적으로 약 10g 썩의 총 10개의 매주부분을 취하여 살균한 mortar로 무균실에서 분말을 만들고 각 1g 썩을 삼자후라스크에 담긴 100mls의 살균수에 넣어 충분히 흔들어서 suspension을 만든 다음 dilution method로 미생물의 viable count 및 순수분리를 하기에 편리한 농도로 희석한다. 특별한 경우를 제외하고 보통 본 실험에서는 bacteria의 viable count에는 10<sup>-6</sup>~10<sup>-8</sup>, mold 및 yeasts의 viable count에는 10<sup>-2</sup>~10<sup>-4</sup>의 희석도를 사용하였다.

미생물의 viable count는 bacteria와 yeasts는 pour plate method, molds는 spreading method로 위에 말한 매주 현탁 희석액 각 1ml씩과 미생물에 따라 각 Table 2에 보인 바와 같은 배양기 및 배 Table 2. The media for viable count and isolation of microorganisms in Maeju.

Bacteria	Molds	Yeasts
Nutrient broth agar	Peptone-dextrose agar	Wort agar
Beef extract 3g	Dextrose 10g	Beer wort (15 degree Balling)
Peptone 5g	Peptone 5g	11.
Water 11.	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1g	Agar 20g
Agar 20g	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O 0.5g	Sodium propionate 0.25%
	Agar 20g	
	Water 11.	
	Rosebengal 1:30,000	
	Streptomycin 30r/ml	

Incubating temp. was 28°C for all the microorganisms.

양조건을 사용하여 실험하였다. 이같은 조건하에

서 bacteria는 24 시간, molds와 yeast는 3~7 일 간 배양후 viable count 및 미생물의 순수분리를 하였다.

미생물의 동정은 bacteria는 American Bacteriologists Association<sup>(11)</sup>의 Manual of Microbiological Method에 있는 방법에 준하고 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology<sup>(12)</sup> 및 Skermann<sup>(13)</sup>의 A Guide to the Identification of Genera of Bacteria에 의거 하였으며, molds는 주로 Guilman<sup>(14)</sup>의 A Manual of Soil Fungi, Raper & Thom<sup>(15)</sup>의 Manual of the Penicillia 및 Fennel & Raper<sup>(16)</sup>의 The Genus Aspergillus 등에 의거하여 동정하였고, Yeasts는 Lodder 등<sup>(17)</sup>의 방법 및 분류법에 의거하여 동정하였다.

### 결 과

#### 1. 메주에 있는 molds 균의 조사

한국의 5개 도 경기, 충청, 강원, 전라 및 경상도에서 각각 1개씩 취한 5개의 한국 재래식 메주의 표면 및 내부에 있는 molds를 조사한 결과는 Table 3에 있는 바와 같았다. 이 결과를 보면 경기도 메주를 제외하고는 메주 덩어리의 내부에서는 molds를 분리할 수가 없었으며 거의 전부 메주 덩어리의 표면층에서만 분리할 수가 있었다. molds의 종류는 의외로 그렇게 많지 않았으며 4개의 genera 및 7개의 Species에 불과 하였다.

Table 3. The fungus flora in the surface layer and inner parts of fermented Maeju loaves

Maeju sample	Fungus	Viable count No./g
Kyunggi-Do		
Surface	<i>Mucor abundans</i> Povah	6 × 10 <sup>3</sup>
	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> Bainier	7 × 10 <sup>4</sup>
Inner		14 × 10 <sup>4</sup>
Chungchong-Do		
Surface	<i>Aspergillus oryzae</i> (Ahlberg) Cohn	12 × 10 <sup>4</sup>
Kangwon-Do		
Surface	<i>Mucor griseo-cyanus</i> Hagen	14 × 10 <sup>5</sup>
	<i>Penicillium kaupscinskii</i> Zaleski	1 × 10 <sup>4</sup>
Cholla-Do		

Surface	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> Bainier	1 × 10 <sup>4</sup>
---------	---	---------------------

#### Kyungsang-Do

Surface	<i>Penicillium lanosum</i> Westling	2 × 10 <sup>4</sup>
	<i>Mucor griseo-cyanus</i> Hagen	4 × 10 <sup>3</sup>

Remark; No mold was isolated from inner parts of Maeju leaves of Chungchong, Kangwon, Cholla and Kyungsang-Do.

Table 3에 있는 molds를 동정 명명하는데 있어서 필자들이 관찰한 주로 species 분류상의 key가 된 그들의 형태학상의 특징만을 기록하면 다음과 같다.

*Mucor abundans* Povah...Spores not unquely globose, short oval to globose (1. 1-1.5) Sporangial walls diffuent. Turf less than 20mm high. Gemmae present. No giant cells in the substrate.

*Scopulariopsis brevicaulis* Bainier Conidia one-celled with basal ring and pore, on phialides, in heads, not enclosed in mucus, and in mass light brown to chocolate. Conidiophores distinct from vegetative hyphae, not swollen and branched at the tip.

*Aspergillus oryzae* (Ahlberg) Cohn...Sterigmata both biseriata and uniseriate. Conidial heads in yellow green to deep olive-brown shades, globose when young, loosely columnar in age. Conidiophores born primarily from the substrate, not constricted below the vesicle. Vesicles subglobose. Conidia large globose to subglobose. Colonies, shifting to light brownish green in age on Czapek's agar.

*Mucor griseo-cyanus* Hagen...Spores not globose, short oval. Sporangia black, less than 100μ in diameter. Sporangial walls not diffuent, fragile. Gemmae in sporangiohophores numerus.

*Penicillium lanosum* Westling...Penicilli not divaricate, not divergent, and compact. Colony floccose, in shades of greens in conidial area. Colony reverse uncolored. Conidiophores long arising as branches from aerial hyphae. Conidia globose, finely roughened less than 4μ in diameter.

#### 2. 메주에 있는 bacteria 균의 조사

한국 전역에서 골고루 시료를 취하기 위하여 경

**Table 4.** The bacterial flora in the surface layer and inner parts of fermented Maeju loaves.

Maeju msaple	Surface or inner	Bacteria	Viable count No./g
Kyunggi-Do	Surface	<i>Bacillus subtilis</i> *	$61 \times 10^8$
	Inner	<i>Bacillus subtilis</i> **	$71 \times 10^7$
Chungchong-Do	Surface	<i>Bacillus subtilis</i> *	$53 \times 10^4$
		<i>Bacillus subtilis</i> **	$1 \times 10_5$
	Inner	<i>Bacillus subtilis</i> *	$1 \times 10^4$
		<i>Bacillus subtilis</i> **	$1 \times 10^4$
Kangwon-Do	Surface	<i>Bacillus subtilis</i> *	$5 \times 10^9$
	Inner	<i>Bacillus subtilis</i> **	$45 \times 10^7$
		<i>Bacillus pumilus</i>	$3 \times 10^7$
Cholla-Do	Surface	<i>Bacillus subtilis</i> *	$5 \times 10^7$
	Inner	<i>Bacillus subtilis</i> *	$43 \times 10^8$
		<i>Staphylococcus aureus</i>	$19 \times 10^7$
Kyungsang-Do	Surface	<i>Bacillus subtilis</i> *	$13 \times 10^9$
		<i>Bacillus pumilus</i>	$4 \times 10^9$
	Inner	<i>Bacillus subtilis</i> **	$2 \times 10^9$
		<i>Bacillus subtilis</i> *	$25 \times 10^7$

기, 충청, 강원, 전라 및 경상 의 5도에서 각각 1 개씩 취한 5개 한국 재래식 메주 덩어리의 표면층 및 내부부분에 있는 bacteria 의 종류 및 viable count 를 조사한 결과는 Table 4에 보인 바와 같다 이 결과에 의하면 한국 재래식 메주의 표면과 내부에 있어서 bacteria 의 분포는 차이가 별로 없는 것 같으며 한국 재래식 메주중의 중요한 bacteria 는 *Bacillus subtilis* 의 두 strain 과 *Bacillus pumilus* 이며 전라도 메주에서 *Staphylococcus aureus* 가 분리 되었다.

Table 4에 있는 bacteria 를 동정 명명하는데 있어서 필자들이 관찰한 분류학상의 제특성을 기술하면 다음과 같다.

*Bacillus subtilis*\*

Rods,  $0.5 \times 2.0$  microns, not in chains. Not encapsulated. Motile. Gram positive.

Spores,  $0.5 \times 1.5$  microns, ellipsoidal to cylindrical, central to terminal, formed in 40 hrs,

Sporangia not definitely swollen.

Gelatin stab: Liquifaction napiform to infundibuliform.

Agar colonies: Elevation fiat, Form irregular, Margin erose.

Agar stroke: Form spreading.

Agar stab. Villous form.

Glucose agar slants: Growth better than on agar.

Soybean agar slants: Good growth.

Broth: Pellicle, flocculent, membranous.

NaCl broth: Growth in 7% NaCl broth.

Starch is hydrolyzed.

Nitrites produced from nitrates. No gas Produced from nitrate broth under anaerobic condition.

Growth scant in glucose broth under anaerobic condition, pH of culture is higher than. 5.5

*Bacillus subtilis*\*\*

이 strain 은 상기의 *Bacillus subtilis*\*와 모든 특성이 같은데 다만,

Agar colonies: Rhizoid form, elevation convex, margin lobate.

Agar slant: Rhizoid form 의 2개 특성만이 상이하므로 필자들은 별개의 strain 으로서 취급하였다.

*Bacillus pumilus*

필자들이 본 실험의 한국 재래식 메주에서 분리한 *Bacillus pumilus* 는 starch 를 hydrolysis 하지 못하는 특성만을 제외하고는 그 모든 특성이 상기의 *Bacillus subtilis*\*\*하고 같았다.

*Staphylococcus aureus*

Sphaers, 0.8 to 1.0 micron in diameter, occurring in irregular clumps. Non-motile. Gram positive.

Gelatin stab: Infundibuliform liquefaction

Agar colonies: Circular form, elevation convex, margin entire.

Agar slant: filiform

Agar stab: villous

Nitrites produced from nitrates

Starch not hydrolyzed

Ferments mannitol

3. 메주중에 있는 yeasts 균의 조사

상기한 5개의 한국 재래식 메주에 있는 yeasts의 종류 및 viable count를 조사한 결과는 Table 5와 같았다. 이 결과에 의하면 5개의 메주 시료중 강원 및 경상도 메주 시료의 표면부분에서만 *Rhodotorula flava*와 *Torulopsis dattila*의 2종의 yeasts를 분리할 수 있었다. *Rhodotorula flava*는 이 두개의 메주 시료에서 모두 검출된 것으로 한국메주중에 흔한 yeast가 될지도 모른다.

Table 5. The yeast flora in the fermented Korean Maeju loaves

Maeju sample	Surface or Inner	Yeasts	Viable Count No./g
Kangwon-Do	Surface	<i>Rhodotorula flava</i> (Saito) Lodder	$3 \times 10^5$
		<i>Torulopsis dattila</i> (Kluyver) Lodder	$14 \times 10^4$
Kyungsang-Do	Surface	<i>Rhodotorula flava</i> (Saito) Lodder	$3 \times 10^3$

Remarks: No yeast was isolated in other samples of Maeju loaves.

Table 5에 있는 yeasts를 동정 명명하는데 있어서 필자들이 관찰한 분류학상의 제특성을 기술하면 다음과 같다.

*Rhodotorula flava* (Saito) Lodder

Growth in liquid wort: After 10 days at 25°C cells are oval  $(2.5-5) \times (3.5-5)\mu$ , single or in pairs. After 10 days at 25°C a ring is formed.

The streak culture on wort agar: After 10 days yellow, highly glossy, soft, convex, border straight.

Slide culture: No pseudomycelium

Fermentation: Absent

Sugar assimilation: Glucose+, lactose+, galactose+, maltose+, sucrose+,

Assimilation of potassium nitrate: Absent

Ethanol as sole source of carbon: No growth

Starch production: Negative

Splitting of arbutin: Positive.

*Torulopsis dattila* (Kluyver) Lodder

Growth in liquid wort: After 10 days at 25°C cells are almost round or oval,  $(2-2.5) \times (2.5-4.5)\mu$ , single or in short chains. After 10 days ring and pellicle are formed.

The streak culture on wort agar: After 5 days cream-colored, smooth, highly glossy, soft, margin straight.

Slide culture: No pseudomycelium

Fermentation: glucose+, galactose-, maltose+, sucrose+, lactose-, raffinose+, 1/3.

Sugar assimilation: Glucose+, galactose+, maltose+, sucrose+, lactose.

Assimilation of potassium nitrate: Absent

Ethanol as sole source of carbon: Some growth.

Splitting of arbutin: Positive

고 찰

한국 재래식 간장 제조법은 그 메주를 만드는 방법이 독특하다. 본 연구에서 사용한 5개의 메주 시료들은 그 부피가  $1200 \sim 1500\text{cm}^3$ 의 좁은 직육면체들이었으며 이들은 한국가정에서 메주를 만드는 방법과 같이 늦은 가을에서 겨울 사이에 콩을 삶은 다음 절구로 찧고 상술한 모양들의 메주 덩어리를 만들어 겨우내 벽에 매달아 두어서 말리고 이른 봄에 온돌에 포개 쌓아 채워서 띄운 것들로서 본 실험을 시작한 1969년 6월~7월 경에는 간장을 담그기에 알맞은 정도로 숙성된 메주들이었다. 이들 메주 덩어리들은 이미 실험방법에서 말한 바와 같이 그 가운데 부분에서 끈게 절단하여 절단면을 보면 단단하게 건조하고 삶은 콩의 원색과 모양이 그대로인 메주덩어리 표면층에 해당하는 두께가 0.8~2.0cm의 플레와 색이 검은 갈색의 끈끈하고 연한 내부부분으로 되어 있다. 메주의 이 표면층의 두께는 메주의 세로, 가로 및 높이에 비하면 그리 두껍지는 않으나 그 표면층의 부피는 Table 1에 나타나 있는 바와 같이 메주 덩어리

리 전체의 부피의 4/10~7/10에 해당하여 오히려 메주의 주요 부분일 경우도 있다.

늦은 가을, 겨울 및 봄을 지나는 동안에 한국식 메주가 숙성되어 감에 따라 메주 덩어리에서 미생물, 화학 및 물리적으로 어떠한 변화가 일어나는지는 아직 연구 보고된 바가 없으나 외관상으로만 관찰하여도 메주의 표면층과 내부에 이같이 뚜렷한 차이가 있는 점으로 보아 이 두 부분에 있어서는 분명히 서로 다른 미생물 및 이화학적인 변화가 일어났으리라는 것은 쉽게 짐작할 수 있다.

필자들은 이러한 점을 고려하여 메주 덩어리의 표면부분과 내부부분에 있어서의 미생물들의 분포가 다를 것이라고 생각하여 메주 덩어리의 표면부분과 내부부분에서 각각 미생물들의 생태를 조사한 바 필자들이 예견한 바와 같이 이 두 부분에 있어서 미생물의 생태에 큰 차이가 있음을 발견할 수 있었다.

메주 덩어리의 표면과 내부에 있어서의 미생물들의 분포중 가장 큰 차이점은 결과에 나타난 바와 같이 곰팡류(molds)의 분포이다. 본 실험 결과를 살펴 보면 molds는 경기도산 메주 시료를 제외하고는 4개 시료의 메주 덩어리 내부부분에서는 분리하지 못하였다. Molds는 원래 그 생리적 성질이 aerobic 이므로 공기와 접촉하고 있는 메주 덩어리의 표면부분에서만 자라고 공기가 잘 유통되지 않는 메주 덩어리 내부에서는 자라지 못할 것이므로 이 결과는 쉽게 설명이 된다. 경기도산 메주 시료에서는 그 내부에서도 표면과 마찬가지로 mold인 *Scopulariopsis brevicaulis*가 발견된 것은 메주의 갈라진 틈으로 내부까지 이 mold가 들어가서 생육하였거나 균의 분리시 실험조각의 과실에서 온 것이 아닌가 생각이 된다.

메주의 표면층에 있는 이들 molds의 종류는 잡다하여 특히 어떤 한 종류의 mold가 우세하다고 말할 수가 없는데 이들 메주는 다 어떤 한 종류의 molds를 순수 인공배양하여 접종하여 준 것이 아니고 mold의 자연발생을 기다린 것이므로 이같이 잡다한 molds의 생태를 보여 준 것은 당연하다고 하겠다. 분리된 molds중 *Aspergillus oryzae*와 *Mucor*는 단백질 및 전분분해효소 때문에 식품가공에 이용되고 있으나<sup>(18)</sup> 다른 molds의 이 목적을 위한 이용가치는 명백치 않다. 이러한 molds의 분포양상으로 보아 한국 메주의 제조법이 메주 덩어리의 1/2 이상의 부피를 차지하고 있는 그 표면부분에 molds를 증식시켜 molds의 단백질 및 전분

분해효소를 이용하고자 하는 것이라면 그 과학적인 근거는 아주 미약하다. 이 방법은 희망하는 우수한 mold를 순수분리하여 인공접종시키는 일본식 간장의 메주제조법에 비하면 극히 원시적이라고 할 수 있다.

그러나 한국식 메주에는 본 실험결과에서 보면 일본식 간장 메주와 달라서 *Aspergillus oryzae* 및 *Aspergillus flavus* 같은 독소 aflatoxin을 생성하는 molds가 그 속에 압도적으로 우세하게 자라고 있을 확율이 훨씬 적다. 본 실험에서도 5개의 메주 시료중 다만 충청도산 메주에서만 *Aspergillus oryzae*를 분리할 수 있었다. 이 *Aspergillus oryzae*의 생균수도 일본식 간장고지에 비하면 육안으로 보아도 그 미미함을 짐작할 수가 있다. 한국식 메주에는 aflatoxin 문제가 TIME<sup>(9)</sup>에 기술된 것같이 심각한 문제가 될 것 같지는 않다.

한국 재래식 메주의 가장 독특한 발효 미생물은 bacteria인 것 같다. 본 실험결과에 의하면 한국메주 중에 있는 주요 bacteria는 극히 그 종류가 단순하여 *Bacillus subtilis* 및 이에 가까운 종류인 *Bacillus pumilus*의 2종이었다. 메주중에 들어있는 bacteria는 수효도 molds나 yeasts에 비하면 월등히 많고 메주 덩어리의 표면 및 내부에 골고루 분포되어 있다. 특히 메주 덩어리의 내부에는 molds나 yeasts가 없으므로 bacteria만이 속에서 자란 것이라고 할 수 있다. *Bacillus subtilis*는 facultative anaerobe인 strain이 있으므로 공기가 적으리라고 생각되는 메주 덩어리 내부에서도 생육할 수가 있을 것이다. 메주 덩어리의 내부가 외부와는 현저하게 다른 모양으로 메주가 숙성되는 것은 메주 덩어리 내부의 독특한 이화학적 조건하에서 이들 세균에 의한 특이한 발효가 진행되기 때문이라고 생각된다. *Bacillus subtilis*는 강력한 단백질 분해효소<sup>(15)</sup>나 탄수화물 분해효소<sup>(16)</sup>를 갖고 있으므로 식품가공에 많이 이용되고 있으며 일본식 된장의 숙성에 있어서도 주요 발효미생물로서 큰 역할을 한다고 보고되어 있다<sup>(19)</sup>.

한국 재래식 메주에서도 효모는 발견할 수 있었다. 본 연구에서도 5개의 메주 시료중 2개의 메주 시료에서 *Rhodotorula flava*와 *Torulopsis ditata*를 분리할 수 있었다. *Rhodotorula flava*는 강원 및 경상도산의 2개의 메주 시료에서 다 분리할 수 있었으므로 한국 재래식 메주중에 비교적 흔한 yeast일 것 같기도하나 본 연구 결과만으로는 아직 단정하기가 어려우며 또한 한국 재래식 메주의

속성에 있어서도 이들 yeasts가 어떤 역할을 하는지의 여부도 현재로서는 확실치 않다.

결국 한국 간장은 bacteria 만에 의하여 특이하게 발효 숙성된 메주 덩어리의 내부부분과 molds와 bacteria에 의하여 발효 숙성된 메주 덩어리의 외부부분의 이질적인 두 메주를 반반 사용하여 만드는 간장이라고 할 수 있겠으나 이들 메주들의 독특한 특성의 과학적인 이용법과 그 가치의 평가는 앞으로 특히 화학적인 면에 있어서의 연구에 기대하여야 할 것이라고 생각된다.

### 요 약

한국의 경기, 충청, 강원, 전라 및 경상도에서 각각 한개씩 취한 5개의 한국 재래식 메주의 발효 미생물을 분류 및 생태학적 견지에서 조사 연구한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발효 미생물중 molds는 메주 덩어리의 표면층의 부분에만 존재하며 그 종류는 잡다하여 주요 균종을 알아낼 수는 없었으나 본 실험에서는 3종의 *Mucor*, 2종의 *Penicillium*, 각 1종의 *Scopulariopsis* 및 *Aspergillus*를 분리할 수 있었다.

2. 발효 미생물중 bacteria는 메주덩어리 전체에 골고루 조밀하게 분포되어 있었으며 특히 덩어리 내부에는 bacteria만이 존재하였다. Bacteria의 균종은 단순하여 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus pumilus*가 한국 메주의 거의 전 bacteria군을 형성하고 있어 한국 메주의 발효 숙성은 bacteria군의 발효에 의한 것이 그 특색이 아닌가 생각되었다. 한국 메주에서는 그외에 *Staphylococcus*의 1종도 분리되었다.

3. 5개의 메주 시료중 2개의 메주 시료에서는 *Rhodotorula flava* 및 *Torulopsis dattila*의 2종의 yeasts가 분리되었으나 이들 yeasts가 메주의 발효 미생물군 형성에 필요한 것인지의 여부는 아직 분명치 않았다.

4. 한국 재래식 메주는 그 부피의 약 1/2을 차지하는 덩어리의 표면층의 부분과 내부부분에 있어서 발효 미생물의 생태가 다르며 따라서 이들 발효미생물에 의한 메주의 발효 숙성에 따른 화학적인 변화도 이 두 부분이 서로 상이하여 숙성된 메주는 그 질이 이 두 부분에 있어서 다르다고 인정되었다. 즉 메주의 외측부분은 견고하게 건조하여 삶은 콩이 그리 변질되지 않았으나 메주내부는 삶은 콩이 세균에 의하여 연하고 끈끈하고 암갈색으로 심하게 변하였다.

5. 한국 재래식 메주 5개 시료중 한개 시료에서

만 *Aspergillus oryzae*가 분리되었으며 그 생육밀도도  $\sim 10^4/g$ 의 희박한 것이고 또 이 mold가 자랄 수 있는 것은 메주 덩어리의 표면층 뿐이므로 한국재래식 메주에 있어서는 이 mold가 생산하는독소 *afatoxin*은 일본식 메주의 경우처럼 심각한 문제가 되지는 않는다고 생각되었다.

### 참 고 문 헌

- (1) 上野敏勇; 朝督試, 2, 44 (1927)
- (2) Jo Joo Seang: New Med. J., (Seoul, Korea) 7 (10), 85 (1964)
- (3) 宋錫勳, 金鍾協, 李啓瑚, 鄭允秀, 張建型; 기술연구소보고, 2, 32 (1963)
- (4) 張智鉉; 서울農業大學論文集, 第1輯, p.212 (1963)
- (5) 張智鉉; 農化學會誌, 6, 8 (1965)
- (6) 張智鉉; 農化學會誌, 7, 35 (1966)
- (7) 張智鉉; 農化學會誌, 8, 1 (1967)
- (8) 張智鉉; 農化學會誌, 9, 9 (1968)
- (9) TIME, May 9, 48p (1969)
- (10) Martin, J.P.: Soil Sci., 69, 215 (1950)
- (11) Society of American Bacteriologists; Manual of Microbiological Method, McGraw-Hill Book Co., New York (1957)
- (12) Breed, S.R., Murray, E.G.D., & Smith, N. R.; Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th edition, The Williams & Wilkins Co. (1957)
- (13) Skermann, V.D.B.; A Guide to the Identification of Genera of Bacteria, The Williams & Wilkins Co. (1967)
- (14) Guilman, J.C.; A Manual of Soil Fungi, The Iowa State College Press (1957)
- (15) Raper, K.B., Thom, C., & Fennel, D.I.; Manual of the Penicillia, The Williams & Wilkins Co (1949)
- (16) Raper, K.B. & Fennel, D.I.; The Genus *Aspergillus*, The Williams & Wilkins Co. (1965)
- (17) Lodder, J. & Kreger-Van Rij, N.J.W.: The Yeasts, A Taxonomic Study, Interscience Publishers, Inc. (1952)
- (18) 金浩植; 醱酵微生物學, 郷文社 (1966)
- (19) 薄田亘, 益子房之助, 松尾實文極; 醱酵工學雜誌, 39, 1 (1961)