

간장발효에 관여하는 효모에 관한 연구(제 1 보)

—제국중에 생육하는 효모에 대하여—

*이택수·이석건

*샘표장유양조장, 충남대학교 농과대학
(1970. 1. 31, 수리)

Studies on the Yeasts for the Brewing of Soy sauce (I)

Isolation, identification and classification of the yeasts in the soy sauce koji

*Taik Soo Lee. Suk kun Lee

*Saimpyo Soy Sause Brewery. College of Agriculture Chung Nam University

(Recieved Jan. 31, 1970)

SUMMARY

This experiment was carried out to investigate the yeasts for the brewing of soy sauce. The yeasts in the soy sauce koji were isolated and identified. And they were classified by coloring with the treatment of TTC(2, 3, 5 triphenyltetrazolium chloride) agar and counted. The results obtained was as follows;

a) The number of the yeasts in the Koji was increased in process of incubation time: about 97×10^8 per gram of Koji incubated for 3 days, 135×10^8 4 days and 179×10^8 5days.

b) They were classified as 53.6—71.9 per cent of TTC white yeasts for the most, 5.6—11.1 per cent of red yeasts, 6.8—19.5 per cent of red pink yeasts and 11.1—22.6 per cent of pink yeasts.

c) 30 strains of yeasts were isolated from the Koji optionally, and they were identified as 6 genera and 11 species: 5 strains of *Saccharomyces rouxii*, 2 strains of *Saccharomyces fermentati*, 1 strain of *Saccharomyces rosei*, 6 strains of *Saccharomyces rosei*, 6 strains of *Hansenula anomala*, 1 strain of *Hansenula suaveolens*, 6 strains of *Pichia polymorpha*, 2 strains of *Debaryomyces hansenii*, 2 strains of *Debaryomyces nicotianae*, 2 strains of *Torulopsis candida* 2 strains of *Torulopsis sake* and 1 strains of *Torulopsis sake* and 1 strain of *Candida pelliculosa*.

d) The yeasts belonging to *Hansenula suaveolens*, *Hansenula anomala* *Candida pelliculosa*, *Debaryomyces nicotianae* and *Pichia polymorpha* were classified as TTC white yeasts, *Saccharomyces rouxii* and *Sacharomyces rosei* were red, *Saccharomyces fermentati* and *Debaryomyces hancenii* were red pink, and *Torulopsis candida* and *Torulopsis sake* were pink.

e) Generally the growth of the yeasts isolated were rapid on the media containing none or 10 per cent of sodium chloride but almost restrained on the media containing 15—18 per cent of sodium chloride.

서론

재래식간장이나 개량식간장 어느 것이나 그 제조에 있어서는 미생물들의 효소에 의하여 원료에 단백질 또는 탄수화물을 가용성으로 분해하는 것에 의한 것이다. 이러한 견지에서 가장 주된 미생물은 *Protease* 나 *Amylase* 를 강력하게 분비하는 것들로서 재래식 간장에 있어서는 주로 세균류와 각종의 곰팡이에 의한 것이고 개량식간장에 있어서는 *Asp. oryzae* 등 속의 황곡균에 의한 것이다. 그런데 간장 발효에 있어서 또한 없어서는 안될 미생물이 효모인 것이다. 일반적으로 주류제조나 빵발효에 있어서의 효모는 상식화되어 있으나 간장 발효에 있어서 효모의 관여에 대해서는 그다지 알려지지 않은 것 같다. 그러나 간장을 담근 후 오랜 기간동안 간장덧증에는 각종의 효모들이 생육하게 되고 이들에 의하여 발효가 진행되며 간장의 풍미와 향기를 높여 준다. 이와 같이 간장 발효에 필요불가결한 내염성 또는 호염성 유용효모가 있는 반면에 간장 발효에 있어서 하등 무익하거나 유용효모의 생육을 억제시켜 발효를 저해하고 또 완제품 간장 중에서도 생육하면서 품질을 저하시키는 호염성 유해효모도 많다.

현재 우리나라에서는 많은 간장공장에서 개량식 방법에 의하여 *Asp. oryzae* 로 제균하여 담금할 뿐이고 효모의 활동에 대해서는 그다지 고려되고 있지 않다. 따라서 각종장주변의 공기중에서 오는 자연균에 의존하는 재래의 상태에 불과하다.

저자들은 생표간장의 양조에 있어서 발효에 관하여는 효모의 종류와 그 동태를 규명하고 우량효모를 분리선정하여 이것을 담금시에 배양첨가함으로써 발효속성을 안전하게 관리하고 유해효모의 생태를 조사하여 이들의 생육을 억제하기 위한 연구의 일단으로 간장국 제조중에 국균과 함께 생육하는 효모의 분포에 대하여 실험한 결과를 보고하는 바이다.

연구사

간장제조에의 기원과 년대는 확실치 않으나 중국에서는 기원전부터 간장유사한 제품이 제조되기 시작한 것으로 짐작되며 우리나라에서는 삼국시대 이후부터 그리고 일본에서는 1228년 송나라로부터 된장의 양조법이 전래된 것에 비롯한 것으로 알려져 있다⁽¹⁾⁽²⁾. 그러나 오늘날 간장 제조공업의 규모나 기술적 또는 학문적인 면에서 가장 발달한것

은 일본인 것이다. 간장은 쌀을 주식 하는 동양인들에게 오래전부터 가장 중요한 조미료로³ 애용되어 왔으며 우리나라에서는 오늘에 이르기까지 각 가정에서 재래의 방법으로 제조되어 오고 있으나 근래에는 모든 식품제조공업의 발전과 아울러 간장제조면에 있어서도 공업적 규모가 날로 증대되어 가고 있으며 학계에서도 이에 대한 관심도가 점차 높아가고 있다. 그러나 간장발효에 있어서 중요한 역할을 하고 있는 간장발효효모에 대한 연구는 아직 거의 찾아볼 수 없다.

일본에서도 간장효모에 대한 연구는 다른 효모의 연구에 비하여 매우 늦다. 간장양조과정에 있어서 효모가 관여하고 이것이 간장의 향기와 관계가 있다고 짐작하게 된 것은 1897년 NISHIMURA⁽⁴⁾에 의하여 처음으로 시준되었고 이어서 1905년 SAITO⁽⁴⁾⁽⁵⁾는 간장국 및 간장덧에서 비산막성 효모로서 *Zygosaccharomyces Soya*, 산막성 효모로서 *Zygosaccharomyces japonicus*, *Pichia farinosa*, *Mycoderma sp.* *Torula sp.* 등을 분리 보고한 것을 비롯하여 MITSUDA⁽⁶⁾는 간장덧으로부터 5종의 효모를 분리보고하였고 NISHIMURA⁽⁷⁾은 신종으로서 *Torula* 3종을 분리 보고하였다. 1911년 KIDA⁽⁸⁾는 여름에 담금한 발효기의 덧과 겨울에 담금한 미발효상태의 덧에서는 다른 종류의 효모가 분리된다고 하였으며 발효성효모와 미발효성효모 4종을 분리 동정하여 발효성효모는 주로 *Torula* 속이라고 보고하였다. 동시에 TAKAHASHI 등⁽⁹⁾은 일본 각지방의 여러공장에서 수집한 52종의 간장 덧으로부터 비산막성 유용효모로서 *Zygosaccharomyces major* 와 *Zygosaccharomyces soya* 를 분리하였고 산막성 유해효모로서 *Zygosaccharomyces salsus*, *Zygosaccharomyces japonicus*, *Zygosaccharomyces pichia*, *pichia*, *Torula*, *Mycoderma*, *Monilia* 등 9종의 효모를 분리 보고하였다. 1935년에 ISHIMARU⁽¹⁰⁾도 YMASA 공장의 간장 덧으로부터 분리한 효모중 *Zygosaccharomyces major* 와 *Zygosaccharomyces soya* 는 비산막성으로서 발효성과 식염내성이 강한 유용효모이고 *Zygosaccharomyces salsus* 와 *Zygosaccharomyces japonicus* 는 산막성으로서 발효성과 식염내성이 강하나 제품간장표면에 “곰”이라고 하는 산막을 이루어 유해한 효모라고 하였다. 1944년 UMEDA 등⁽¹¹⁾은 간장 덧으로부터 121주의 효모를 분리하여 우수한 간장향을 내는 *Zygosaccharomyces major* 의 세변종과 *Zygosaccharomyces soya* 의 두변종을 얻었다고

보고하였다.

또 이들 간장 효모의 생리적인 실험에 있어서 SATO 등⁽¹²⁾은 *Zygosaccharomyces major* 가 농후한 식염배지에서는 함유 Amino 산이 특히 생육촉진작용을 준다고 보고하였고 NAKAHAMA 등⁽¹³⁾은 *Zygosaccharomyces salsa*의 산막성은 무기염류와 당류를 첨가하여 어느정도 표면장력을 상승시킨 배지에서 산막생육하고 Tween 계의 계면활성제를 0.05~0.1% 첨가하면 염류존재하에서도 전혀 산막하지 않고 단지 배양후기에 약간의 Ring을 형성하는데 이것은 Tween 분자가 배지의 표면장력을 감소시켜 균의 응집을 방해하기 때문이라고 보고하였다.

한편 1952년 Lodder and Kreger Van Rij⁽¹⁴⁾은 효모의 분류에 있어서 *Zygosaccharomyces* 속과 *Saccharomyces* 속간의 명확한 구별이 없으므로 종래 간장덧에서 분리된 *Zygosaccharomyces* 속과 Osmophilic *Zygosaccharomyces* 속으로 기재된 것들을 모두 *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces rouxii* var. *polymorphus* 및 *Saccharomyces mellis* 등으로 일괄했다. 그후 1954년 OHARA 등⁽¹⁵⁾은 TAMARI 간장국 및 덧으로부터 *Saccharomyces*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus* 등 다수의 신종 또는 신변종을 Lodder 등의 신분류법에 의하여 분리 동정하였고 ONISHI⁽¹⁶⁾ (17)는 간장국 및 간장덧에서 효모의 분리를 시도했으며 또 일본각지의 균주보존기관으로부터 기왕에 간장국 또는 간장덧으로부터 분리 보관중인 *Zygosaccharomyces salsa*, *Zygosaccharomyces major*, *Zygosaccharomyces soya*, *Zygosaccharomyces japonicus* 등과 MOGI⁽¹⁸⁾가 일본된장에서 분리한 *Saccharomyces miso*, *Zygosaccharomyces miso* group의 균주들을 수집하여 Lodder의 신분류법에 따라 분류학적 연구를 한결과 이들 균주의 대부분이 *Saccharomyces rouxii*에 속하며 이 중에는 식염첨가배지에서만 산막성을 보이고 식염무첨가배지에서는 산막성이 아닌 것도 있다고 보고하였다. 또 그는 *Saccharomyces rouxii*의 발육에 대한 배지의 고농도식염 및 질소의 영향과 18% 식염배지에서의 pH의 영향등에 대하여 많은 연구결과를 보고⁽¹⁹⁾하였다. SATO 등⁽²⁰⁾ (21) (22) (23)은 간장효모의 내염성에 관계하는 영향인자 및 저해제의 영향에 대하여 다수의 보문을 발표하였고 1962년 SHINODA 등⁽²⁴⁾은 일본 북해도내의 간장덧 중에 생육하는 효모의 동태에 대하여 보고하였고

HONMA 등⁽²⁵⁾은 신식 2호간장발효에 있어서 간장효모의 이용에 관한 실험결과를 보고한바 있다. SAAI⁽²⁶⁾은 간장효모의 증식배양에 대하여 보고하였으며 NAKAMURA⁽²⁷⁾는 관리방법을 달리한 간장덧에서 숙성경과일수에 따른 효모의 동태에 대하여 보고하였다. 근래에 이르러 SASAKI 등⁽²⁸⁾은 일본북해도내의 간장덧으로부터 7속 23종의 효모를 분리 동정하고 *Debaryomyces halotolerans* nov. sp를 신종으로 기재하였으며 식염농도와 효모의 생육 및 발효와의 관계에 대하여 보고하였다. 1966년 ENDO 등⁽²⁹⁾은 간장덧의 pH 및 농도에 따른 효모의 균수에 대하여 보고하였고 같은해 MACHI⁽³⁰⁾는 천연식 및 온양식 간장덧 중에 생육하는 효모의 동태에 대하여 보고하였으며 SAKAGUCHI⁽³¹⁾는 *Saccharomyces rouxii*의 생육 pH 범위가 식염농도 18% 일 때 3~4로 제한된다고 보고 한바 있다. 1969년 ASAO 등⁽³²⁾은 간장의 방향물질생성의 점에서 효모의 역할에 대한 실험결과를 보고하였고 MORIMODO 등⁽³³⁾은 간장의 향기성분에 관한 연구에서 *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces Carlsbergensis*, *Saccharomyces cheralieri* 등이 Furfuryl alcohol을 많이 생성한다고 보고한바 있다.

우리나라에서 간장효모에 관한 연구보고로서는 1963년 송(宋) 등⁽³³⁾ (35)이 선향간장덧을 방치하여 자연발생한 산막으로부터 또는 부패간장으로부터 9주의 효모를 분리하고 그중 산막성이 강한 효모 3주에 대하여 식염내성 및 간장방부에 미치는 영향에 대하여 보고한바 있고 1968년 장(張)⁽¹⁾은 저장간장증의 내염성 Yeast-flora에 대하여 검토한 결과 효모의 생균수는 간장을 묵힐수록 어느 시기이후 식염농도의 저하 및 pH 값의 강하등에 좌우된다고 보고한 것 등이 있을 뿐 별로 알려져 있지 않다. 우리나라에서도 간장제조공업이 날로 발전되어가고 있으므로 앞으로 이방면에 대한 많은 연구가 계속되리라고 믿는다.

실 험

1. 시료국(試料糶)

정선된 탈지대두에 중량비 130%의 정수(井水)를 균일하게 산수하고 30분 경과후에 NK 증자술에 넣어 무압으로 20~30분간 증자한다음 1.1~1.2 kg의 가압으로 50~60분간 더욱 증자하고 곧 40~45°C로 진공냉각한 것에 볶아서 분쇄한 소맥을 원곡용량비 1:1로 혼합하고 또 원료중량에 대하여 약 1% 정도의 중국(선향간장 연구실에서 순수

분리한 *Asp. oryzae* 를 대택에 배양한 것)을 골고루 혼합하여 국상에 담아 선포간장 창동공장국실에서 상법에 따라 제국한 3일국, 4일국, 5일국(출국)을 시료로 하였다.

2. 효모균수의 측정

시료들을 각각 일정량 채취하여 멸균한 mortar로 잘마쇄한 후 그 1g을 평취하여 멸균수로 100, 1,000, 5,000, 10,000배 희석한 액을 다음의 AKIYAMA B 배지⁽⁸⁶⁾ ⁽⁸⁷⁾ ⁽⁸⁸⁾ 평판상에 0.1ml 적하하고 건열살균한 glass spreader⁽⁸⁸⁾ ⁽⁸⁹⁾로 도말하여 25°C에서 3일간 배양한후 나타난 Colony를 계수하였다. 또 TTC(2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride) agar를 증충⁽⁸⁶⁾시켜 30°C에서 3시간 정치한 후 나타난 Colony의 정색(形色)에 의하여 White, Red, Red pink 등으로 유별하였다.

※AKIYAMA B 배지

glucose	10g	MgSO ₄ 7H ₂ O	0.4g
peptone	2g	Na-propionate	2g
Yeast ext.	1.5g	H ₂ O	1000ml
KH ₂ PO ₄	1g	Agar	25g

(이들을 녹인 다음 pH 5.5로 조정하고 건열살균한 Shale에 분주 고화한다)

3. 효모의 분류

5일국을 시료로 하여 상기 방법으로 나타난 Agar plate 상에 나타난 Colony 수가 10개 정도인 Shale를 수개 취하여 TTC agar를 증충하기 전에 분리하고 평판희석 및 Lindner 점적배양법에 의하여 순수 분리하였다.

4. 분리효모의 동정

분리된 효모들을 Lodder⁽¹⁴⁾의 방법에 의하여 실험을 하였다.

결과 및 고찰

1. 제국종의 효모균수

3일국, 4일국, 5일국(출국)으로부터 생육하는 효모의 총균수를 계측하고 TTC 정색으로 유별한 결과는 Table 1과 같다.

Table 1. The yeast flora in soy sause koji one gram

TTC color	White	Red	Red pink	pink	Total
Samples					
3-days koji	52	8	15	22	97
4-days koji	96	15	9	15	135
5-days koji	110	10	35	24	179

(Unit 10⁸)

국 1g 중에 존재하는 효모의 총균수는 3일국에 약 10만, 4일국에 약 14만, 5일국에 약 18만개의 효모가 존재하였다. 간장국의 제조에 있어서 황국인 *Asp. Oryzae*의 증국을 점종 배양하는 동안에 부착생육하는 효모의 균수를 제국일수 별로 계측한 결과에 의하면 제국일수의 경과에 따라 점차 많아져서 5일국의 1g 중에는 효모가 약 18만개 존재하였고 TTC agar 정색반응에 있어서 이들중의 약 60% 내외가 TTC White 효모이었다. MIYAZAKI 등⁽⁴⁰⁾은 간장국 1g 중의 효모수가 3일국에서 2,300~7,600만, 4일국에서 300~5,300만개로서의 국의 배양일수와 온도의 차에 따라 효모의 수가 다르다고 보고한바 있고 IMAI 등⁽⁴¹⁾은 간장국을 기계제국으로 저온배양했을 때 출국한 것 1g 중에는 100~6,000만개의 효모가 존재한다고 보고한바 있다. 또한 AOKI 등⁽⁴²⁾과 HAGA 등⁽⁴³⁾도 간장국의 효모수가 약 800~1,000만개 존재한다고 보고한 결과들과 비교할 때 선포간장국중의 효모수는 상당히 적었다. 이와같은 사실은 사용한 증국에 따라 좌우된다고도 생각된다. 일본에서는 간장제국용증국의 대부분이 유용효모를 첨가한 것으로서 제국중에 이들효모의 증식을 도모하고 있으나 현재까지 우리나라에서는 간장발효 유용효모를 첨가한 증국이 생산되고 있지 않으며 저자들의 실험에 사용된 증국 역시 효모무첨가의 황국이었다. ITO 등⁽⁴⁴⁾은 간장국의 제조에 있어서 3일국중에는 20~6,000만, 4일국중에는 2~3,500만 5일국(출국)에는 2.2~1,400만개로서 제국일수가 경련함에 따라 효모수는 적었겠으나 저자들의 실험에 있어서는 반대로 다소 증가되는 것을 볼 수 있었다.

2. 분리효모의 균학적 성질 및 동정

5일국으로부터 분리된 30주의 효모에 대하여 형태적 및 생리적 제성질을 실험한 결과는 Table 2와 같다.

이상의 실험결과를 Lodder⁽¹⁴⁾의 분류동정법에 의하면 K₂ 균주는 *Hansenula suaveolens* 형 K11, K17, K22, K26, K27, K29 등의 균주는 *Hansenula anomala* 형에 유사하였고 K10, K13, K18, T23, K25, K30 등의 균주는 *Pichia polymorpha* 형에 유사하였다. K6, K7의 균주는 *Debaryomyces nicotianae* 형, K15, K19의 균주는 *Debaryomyces hansenii* 형이었다. K1, K8, K16, K24, K28의 균주는 *Saccharomyces rouzii* 형 K₁₄의 균주는 *Saccharomyces rosei* 로 K5, K20의 균주는 *Sac-*

Table 2. The microbiological characteristics of the isolated 30 Strains in the Soysause Koji

Group	Strain	Cells	Spore	PM	Cultures		Fermentation GL Ga S M La	Assimilation GL Ga S M La	KNO ₃	EtOH	15~18% NaCl media	Splitting of arbutin	TTC color
					Malt ex.	Malt agar							
1	K2	round(2.3~3.8) μ oval(7.5×4.5)~ (3.0×2.3) μ	round		sediment creeping pellicle	white-yellowish raised delicately wrinkled	+ - + - -	+ + + + - -	+	+	scanty growth	+	white
2	K11, K17, K22, K26, K27, K29	round(3.3~4.5) μ hat shape (2.3~3.0) μ	1-4	+	sediment wrinkled cree ping pellicle	cream color flat or raised shiny smooth	+ + + + -	+ + + + -	+	+	scanty growth	+	white
3	K10, K13, K18, K23, K25, K30	oval(2.5×4.0) (4.2×6.0) μ	round 1-2	+	sediment wrinkled pellicle	flat yellowish somewhat wrinkled	+ + + + -	+ + + + +	+	+	scanty growth	+	white
4	K6, K7	round(2.3~4.0) μ oval(4.5×9.0)~ (3.0×4.5) μ	round 1	-	wrinkled or smooth creeping pellick sediment	yellowish-white slightly glistening slightly wrinkled	± ± ± ± ±	+ + + + -	-	+	scanty growth	+	white
5	K15, K19	round(3.0~4.0) (2.8~6.0) μ	round 1-2	-	sediment wrinkled or smooth cree ping pellicle	greyish-white dull raised	± - ± - -	+ + + + +	-	+	scanty growth	+	red pink
6	K1, K8, K16, K24, K28	round(4.0~6.0) μ oval(3.0×4.0) (4.0×6.0) μ	round 1-4	-	sediment thin ring	cream color raised smooth shining	+ - - + -	+ + ± + -	-	-	scanty growth	-	red
7	K14	round(3.0~6.0) μ ellipsoidal(3.0× 4.5) μ	round 1-3	-	sediment small ring some islets	greyish to cream color smooth small warts	+ - + - -	+ - + + -	-	+	scanty growth	-	red
8	K5, K20	round(2.0~3.8) μ ellipsoidal(4.5×9 .0)~(3.0×4.5) μ	round 1-2	-	sediment thin ring	cream color slig- hly raised gliste- ning smooth	+ - + + -	+ - + + -	-	-	scanty growth	-	red pink
9	K12	round(3.3~4.8) μ oval(3.8×5.3)~ (4.8×6.0) μ	-	+	wrinkled pellicle sediment	white to yellowish dull, dry little vevety	+ + + - -	+ + + + -	+	+	scanty growth	+	white
10	K3, K4	round(2.3~3.8) μ oval(4.0×4.5)~ (3.0×2.3) μ	-	-	sediment thin pellicle or islets	white to cream color radical stripes some glistening	± - ± - -	+ + + + +	-	+	scanty growth	+	pink
11	K9, K21	round(3.0~3.8) ~11.5~2.0) μ	-	-	sediment islets thin pellicle	yellowish-grey soft some glister- ing slightly point	+ ± ± ± ±	+ + + + -	-	+	scanty growth	+	pink

※ Malt ex: Malt extract culture Malt ag: Malt agar streak culture PM: Pseudo mycelium GL: glucose Ga: Galactose S: Sucrose M: Maltose L: Lactose
+, - : Positive, negative : KNO₃ : KNO₃ assimilation EtOH: Ethanol Utilization

aromyces fermentati 형에 유사하였으며 K12의 균주는 *Candida pelliculosa* 형 K3, K4의 균주는 *Torulopsis Candida* K9, K21의 균주는 *Torulopsis sake* 형에 유사하였다.

3. 제국종의 효모분포

간장국을 제조하는 동안에 생육하는 효모들을 30주 분리하여 동정한 결과 6속 11종으로 나타났으며 그 분포는 다음과 같다. 즉 *Hansenula suaveolens* 1주, *Hansenula anomala* 6주, *Pichia polymorpha* 6주, *Debaryomyces nicotianae* 2주, *Debaryomyces hansenii* 2주, *Saccharomyces rouxii* 5주, *Saccharomyces rosei* 1주, *Saccharomyces fermentati* 2주, *Candida pelliculosa* 1주, *Torulopsis Candida* 2주, *Torulopsis sake* 2주였다.

즉 *Saccharomyces rouxii*, *Hansenula anomala*, *Pichia polymorpha* 등이 많이 나타났다. OHARA 등⁽¹⁵⁾은 일본간장 및 국으로부터 *Saccharomyces rouxii* 4주, *Torulopsis* 속 2주, *Pichia* 속 6주, *Debaryomyces* 속 2주, *Trichosporon* 속 1주 등을 분리 동정하여 보고한바 있는데 저자들의 실험결과와 거의 비슷한 분포라고 생각된다. TAKEDA 등⁽⁴⁵⁾은 일본청주미국증에서 가장 많은 분포를 보이는 것이 *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Torulopsis*, *Debaryomyces* 속 등이고 *Saccharomyces* 속의 출현은 적었다고 보고한 바에 의하여 간장국에서는 간장발효유용효모인 *Saccharomyces rouxii*를 비롯하여 *Saccharomyces* 속의 분포가 많다고 생각된다.

또한 제국증에 생육하는 효모들의 TTC 정색에 의한 유별을 백분률로 표시하면 Table 3와 같다.

Table 3. The ratio(%) of Yeast groups in the Soy Sauce koji by TTC reaction

TTC Color	White	Red	Red pink	Pink
Samples				
3-days koji	53.6	8.24	15.4	22.6
4-days koji	71.9	11.1	6.8	11.1
5-days koji	61.5	5.6	19.5	13.4

한편 일본청주국증에 생육하는 효모들의 TTC정색반응에 대하여 보고된바를 살펴보면 AKIYAMA⁽³⁶⁾는 Red 효모가 0.4~21.4% pink 효모가 41.5~98.8%, white 효모가 0~57.6%라고 보고하였고 MURAKAMI 등⁽⁴⁶⁾은 Red 14.5% pink 32.8%, white 51.5%, 기타 *Rhodotorula* 가 1.2%라고 보고하였다. 또 ASHIZAWA 등⁽⁴⁷⁾은 Red 가 18%, pink 42%, white 가 40%라고 보고한바 있고 김

(金)⁽⁴⁸⁾은 S 누룩 중에는 pink 56.5%, Red pink 16%, Red 8%, White 19.5%이고 T 누룩 중에는 pink 42%, Red pink 21%, Red 28%, White 9%로 나타났다고 보고한바 있다. 간장국증에 존재하는 효모의 TTC 정색군은 이들의 결과와 비교하여 많은 차이가 있었다.

또한 분리동정된 효모들의 TTC 정색반응에 의한 유별은 Table 4와 같다.

Table 4. The grouping of the isolated 30 yeasts by TTC reaction

TTC Color	Species
White	<i>Hansenula suaveolens</i> , <i>Hansenula anomala</i> , <i>Candida pelliculosa</i> , <i>Debaryomyces nicotianae</i> , <i>pichia polymorpha</i>
Red	<i>Saccharomyces rouxii</i> , <i>Saccharomyces rosei</i>
Red pink	<i>Saccharomyces fermentati</i> <i>Debaryomyces hansenii</i>
pink	<i>Torulopsis candida</i> , <i>Torulopsis sake</i>

간장국효모의 60% 내외를 차지하는 TTC White 구에는 *Hansenula*, *Debaryomyces nicotianae*, *Pichia*, *Candida* 등으로 나타났고 *Saccharomyces rouxii*는 Red 로 나타났다. AKIYAMA⁽³⁶⁾ (37) (38)는 청주효모를 TTC 정색에 따라 유별한바 있다.

간장국에 생육하는 효모의 분포는 청주국이나 누룩에 생육하는 효모의 분포와는 많은 차이가 있다 즉 국의 조성지역의 환경에 따라 다른 분포를 보인다고 생각된다. 그러나 간장국증에 분포하는 효모의 대부분이 식염농도 15~18%에서 생육이 거의 억제되는 것으로 볼때 이들중 담근후 덧에서 계속 발효에 관여하는 것은 극히 소수인 것으로 짐작된다.

요 약

간장국제조과정중에 생육하는 효모들을 계수 및 분리 동정하고 TTC 정색에 의하여 유별한 결과 다음과 같다.

1. 간장국 1g 중의 효모수는 3일국에 97×10^8 , 4일국에 135×10^8 , 5일국에 179×10^8 개로서 제국일수의 경과에 따라 효모수가 증가하였다.

2. 이들 효모의 TTC 정색에 있어서 White 가 53.6~71.9%, Red 가 5.6~11.1%, Red pink 가 6.8~19.5% pink 가 11.1~22.6% 로서 white 효모가 가장 많았고 Red 효모가 가장 적었다.

3. 30주를 임의 분리하여 동정한 결과 *Sacchar-*

omyces rouxii 5 주, *Saccharomyces fermentati* 2 주, *Saccharomyces rosei* 1 주, *Hansenula suaveolens* 1 주, *Hansenula anomala* 6 주, *Pichia polymorpha* 6 주, *Debaryomyces nicotianae* 2 주, *Debaryomyces hansenii* 2 주, *Torulopsis candida* 2 주, *Torulopsis sake* 2 주, *Candida pelliculosa* 1 주 등 6 속 11 종으로 동정되었다.

4. 동정한 이들 효모를 TTC 정색에 따라 유별한 결과 *Hansenula suaveolens*, *Hansenula anomala*, *Candida pelliculosa*, *Debaryomyces nicotianae*, *Pichia polymorpha* 등은 국중에 생육하는 전체 효모의 약 60%를 차지하는 TTC white 효모구에 속하였으며 *Saccharomyces rouxii*와 *Saccharomyces rosei*는 Red 로 *Saccharomyces fermentati*와 *Debaryomyces hansenii*는 Red pink 로 *Torulopsis candida*와 *Torulopsis sake*는 pink 로 나타났다.

5. 분리된 효모의 대부분이 무염 또는 식염 10% 함유배지에서 잘 생육하나 15-18% 식염 함유배지에서는 생육이 거의 억제되었다.

끝으로 본 실험을 하는 동안 시중 지도를 하여주신 모교 박윤중은사님과 격려와 후원을 하여주신 샘포 장유양조장 박규희사장님과 김정규 상무님께 심심한 사의를 표하는 바입니다.

참 고 문 헌

1. 張智鉉：韓國農化誌 9, 9, (1968)
2. 高田亮平編：調味科學 p. 217(1967)
3. 西村榮：東京大農學部學術報告 3, No.2(1897)
4. 齊藤賢道：東京稅務監督局報告 8, 12(1905)
5. 齊藤賢道：醱酵菌調查報告 第 1 回(1905)
6. 滿田隆一：日農學會報96號(1910)
7. 西村寅三：日內國稅彙纂 45, 46, 47號 (1910)
8. 喜多源逸：日工化誌 14, 109(1911)
9. 高橋偵造, 湯川又夫：日農學會報 112號(1911)
10. 石丸義夫：日釀造學雜誌 13, 295(1935)
11. 梅田勇雄, 山田正一郎：野田醬油報告 VI, 30 (1944)
12. 佐藤正弘, 植村定治郎：日農化誌 32, 79(1958)
13. 中濱敏雄, 令原廣次：日農化誌 33, 949(1959)
14. J. Lodder and N.J. W. Kreger-van Riji The Yeasts, a taxonomic Study (1952)
15. 小原巖, 野野村英夫：日農化誌 28, 122, 160, 717, 721, 837, 886(1954)
16. 大西博：日農化誌 28, 134, 546(1954)
17. 大西博：野田釀油研究報告 第 2 輯 (1961)
18. 茂木正利：日農化誌 15, 921, 1023, 1221(1939)
19. H. Onishi: Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 24, 386(1960)
20. 佐藤正弘, 山田一彌, 植村定治郎：日農化誌 30, 492, 497(1956)
21. 佐藤正弘, 植村定治郎：日農化誌31, 675(1957)
22. 佐藤正弘, 齊藤恭子, 植村定治郎：日農化誌 31 680(1957)
23. 佐藤正弘, 植村定治郎：日農化誌
24. 藤田清, 越田清彥, 寺井悌三：日調味科學誌 10 (3), 21(1962)
25. 本間仲夫, 今井誠一, 田代友藏, 桑原美智子：日調味科學誌 11, (3), 11(1964)
26. 佐合努：日醬油と技術 443, 1143(1963)
27. 中西清：日醬油と技術 444, 1149(1964)
28. 佐木西二, 吉田忠：日釀工誌 44, 61, 158(1966)
29. 遠藤勝之, 高橋甫, 中村清：日醬油と技術491, 1517(1966)
30. 町美根子：日調味科學誌 13, (3), 1 (1966)
31. 坂口建二：日調味科學誌 13, (3), 31(1966)
32. 淺尾保夫, 逆井利夫, 横塚保：日釀工誌 47, 318(1969)
33. 森本茂美, 松谷教子：日釀工誌 47, 518(1969)
34. 宋錫勳, 金鍾協, 李啓瑚, 鄭允秀, 張建型：陸技研報 2, 32(1963)
35. 宋錫勳：陸技研報 2, 38(1963)
36. 秋山裕一, 古川敏郎：日農化誌 37, 398(1963)
37. H. Akiyama, N. Sugawa: J. Fermentation Technology 45, 1093(1967)
38. 秋山裕一：日釀協誌 58, 1155(1963)
39. 東京大學：實驗農藝化學 上卷 p.267, 232 朝倉書店
40. 宮崎桂一, 本川保之, 日調味科學誌 11, (4), 21 (1964)
41. 今井誠一, 若林昭：日調味科學誌 13, (2), 12 (6)13, (1966)
42. 青木定夫, 大島一德：日醬油と技術 448, 1177 (1964)
43. 芳賀宏, 佐久木重夫, 中村清, 梅田勇雄：日調味科學誌 13, (2), 25(1969)
44. 伊藤寬：日調味科學誌 13, (3), 22(1966)
45. 竹田正久, 塚原寅次：日釀工誌 44, 61, (1966)
46. 村上, 大協, 橋本：日釀工誌 60, 803(1965)
47. 蘆澤長, 齊藤孔男：日釀協誌 57, 1046(1962)
48. 金燦祚：韓國農化誌 10, 69(1968)