

韓國在來式 간장의 醱酵微生物에 關한 研究(第二報)

—韓國在來式 간장의 담금中에 있어서의

醱酵微生物群의 消長에 關한 研究—

李 宇 鎭 · 曹 憲 鉉

(서울대학교 農科大學 食品工學科)

(1971. 8. 15. 수리)

Microbiological Studies of Korean Native Soy-sauce Fermentation

A Study on the Microflora Changes during Korean Native Soy-sauce Fermentation

Woo Jin Lee and Duck Hiyon Cho

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

(Received Aug. 15, 1971)

SUMMARY

Studies were carried out to investigate the main fermentation microorganisms and their flora changes during Korean native soy-sauce fermentation.

Korean native Maeju loaves collected from 5 Do's were separated into surface and inner parts.

Four different soy-sauces—the surface part Maeju fermented soy-sauce, the inner part, the surface and inner part combined Maeju fermented soy-sauce, and the semi-Japanese type soy-sauce were fermented and the changes of fermentation microorganism flora and the various chemical components during the period of their fermentations were studied.

Besides, 14 home-made soy-sauces collected from 14 different places all over Korea were examined in comparison with the laboratory soy-sauces and to determine the characteristics of Korean native soy-sauce.

The results were as follows:

1. The main microorganisms in Korean native soy-sauce fermentation were determined as;

Aerobic bacteria: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*

Lactic acid bacteria: *Pediococcus halophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*

Yeasts: *Torulopsis datila*, *Saccharomyces rouxii*

2. Microflora changes during Korean native soy-sauce fermentation were as follows;

Aerobic bacteria increased until the 2nd week of fermentation and then gradually

decreased.

The lactic acid bacteria increased until the 3rd week, after which decreased.

When the lactic acid fermentation lowered the pH value to below the 5.4, yeasts were able to grow and participate the fermentation.

As the production of organic acids amounted, to a certain height, the growth of all microorganisms lead to the period of decline or death at about the 2nd month of fermentation.

After boiling of soy-sauce most microorganisms except a few of *Bacillus* sp. disappeared. Occosionally yeasts and lactic acid bacteria survived depending upon the composition of soy-sauce.

3. Changes of general chemical components influencing the microflora were investigated for the period of Korean native soy-sauce fermentation.

Tetal acidity, salt concentration and total nitrogen were increasing steadily over the entire period of fermentation. pH values were dropping to a certain degree of about 4.5. Salt concentration and pH value seemed to be the important factors influencing the microflora.

4. The microflora were influenced by chemical components of soy-sauce. Aerobic bacteria were able to survive in all soy-sauce as they made spores.

Growth of lactic acid bacteria was inihited at 23-26% of salt concentration and pH 4.8. Soy-sauce yeasts started to grow only at pH below 5.4 and seemed to be inhibited at around 26% of salt concentration under pH 4.5-4.7.

5. The open kettle boiling of soy-sauce, the characteristic process of Korean native soy-sauce manufacturing, was effective to sterilize microorganisms, increase the salt concentration, and coagulate proteins.

6. The average viable cell counts of microorganism found in collected samples of home-made Korean native soy-sauces were;

Aerobic bacteria: 53×10^2 cell/ml

Lactic acid bacteria: 34 cell/ml

Yeasts: 14 cell/ml

The average values of chemical compositions of samples of home-made Korean native soy-sauce were;

Salt concentration: 28.9%

pH value: 4.79

Total acidity(lactic acid): 0.91g/100ml

Total nitrogen: 1.09g/100ml

I. 緒 論

韓國在來式 간장은 우리나라의 가장 重要한 調味料의 하나로서 오랜 傳統을 가진 韓國의 醱酵食品이다.

우리나라 간장이 언제부터 始作되었는지는 잘 알 수 없으나 文獻上에 最初로 나타난 것은 統一新羅 初期 救荒撮要(955年)에 메주 製造法과 함께

간장 담금법이 記述되어 있는 것이 始初이며 其後 山林經濟(1715年)에도 자세히 記錄되어 있다.

이같이 오랜 세월을 두고 우리의 食生活속에서 發達되고 使用되어 온 在來式 간장은 그러나 이에 對한 近代科學的인 研究는 그리 많이 이루어진 바가 없으며 다만 上野¹⁾의 在來式 간장中の 總窒素와 食鹽分析에 關한 報告, 張^{2,3,4,5)}의 在來式, 간장의 담금증의 化學的 成分을 觀察한 報告; 그리고, 金⁶⁾, 金等⁷⁾의 日本式 製造法에 準한 改良式

製造法에 관한 報告들을 들 수 있다. 特히 在來式 간장의 醱酵微生物에 관한 研究는 極히 드물어 宋等⁹⁾의 간장 腐敗에 關與하는 pellicle forming yeast에 관한 報告, 張⁹⁾의 저장 간장중의 醱酵微生物을 概括的으로 調查한 報告, 李等^{10,11)}의 간장 醱酵에 關與하는 酵母에 관한 研究단 있었던 것을 筆者等은 이 研究의 重要性을 認識하여 처음으로 이 方面의 綜合的 研究에 着手하여 우선 全國 各道의 메주 중의 醱酵微生物群에 對한 研究를 하여 報告한 바 있다.

그러나 韓國 在來式 간장 製造中 메주를 鹽水에 담근 후 담금 중에 있어서의 醱酵微生物에 관한 綜合的인 研究를 한 것은 없다. 이러한 研究는 在來式 간장의 科學的인 研究에 있어서는 基本이 되는 한 研究로서 반드시 이루어져야 할 研究分野이다.

韓國 在來式 간장은 그 맛이 日本式 간장과는 달라서 우리의 食生活에서 이것을 類似製品으로 代替할 수가 없다는 것이 一般에게 認識되어 近來에는 工業的으로도 이러한 製品을 製造하려고 하는 傾向이 顯著하며 이에 따른 李¹²⁾의 特許도 있다. 그러나 아직도 科學的인 根據가 稀薄하여 그 製法이 近代工業化되었다고 하기는 힘들다.

筆者는 在來式 간장의 固有한 製造方式의 科學的 根據를 究明하고자 하는 한 研究로서 在來式 메주로서 간장을 담그고 담금期間中의 微生物群의 變化를 觀察하여 처음으로 한국 在來式 간장의 醱酵過程에 關係되는 모든 微生物을 分類 生態學的으로 研究하여 韓國 在來式 간장의 醱酵에 關하여는 主微生物群을 究明하고 이들의 담금중의 消長과 特性을 觀察하고자 한다.

이와 아울러 筆者는 韓國의 全國 14 個地域에서 現在 食用中인 在來式 간장을 收集하여 microflora와 이에 影響을 미치는 食鹽濃度와 pH 등을 調查하여 筆者의 實驗室 製造간장의 경우와 比較하였다.

이러한 研究는 固有의 風味를 가진 韓國 在來式

간장의 科學的 및 工業的 製造와 그리고 醱酵微生物學的인 研究의 基礎資料로서 크게 貢獻하리라 믿어 이에 그 研究結果를 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

(1) 試料메주

全國의 各道, 京畿, 江原, 忠清, 慶尙, 全羅道의 家庭이나 市場에서 在來式 메주를 購入하여 使用하였다. 在來式과 比較하기 爲해 改良式 메주를 金¹⁴⁾의 方法에 따라 製造하여 使用하였다.

(2) 간장담금

在來式 메주는 그 粒部分과 속部分의 質이 다르므로 이 兩部分에서 別途로 간장을 담그면 質이 다른 간장이 될 것이 豫想되므로 各 메주 試料는 原料 種이 그다지 變質되지 않은 粒部分과 褐色乃至 黑色으로 變質된 속部分으로 나눈다음, 다음 4種類의 간장을 담그었다.

- (a) 속部分만으로 담근 간장—메주 內部部分 간장區
- (b) 粒部分만으로 담근 간장—메주 表面部分 간장區
- (c) 속部分과 粒部分을 混合하여 在來式 간장담금과 같이 담금간장—在來式 간장區
- (d) 改良式 메주로 담근 간장—改良式 간장區

2. 微生物實驗方法

(1) 醱酵微生物의 分離 및 生菌數의 測定

간장을 담금하여 1週日 간격으로 microflora를 調查하였다. 1/20 稀薄한 Tween 80을 100ml 증류수에 數滴 加한 殺菌水를 써서 階段稀釋法에 依해 稀釋하고, 好氣性 細菌과 耐鹽性 酵母는 注加法(Pour plate method)으로 耐鹽性 乳酸菌은 重層培養하여 肉眼에 依한 취락의 差異로 分離하여 生菌數를 調查하고 純粉分離를 한뒤 同定하였다.

(2) 微生物의 分離培地

使用培地는 간장담금액의 組成을 考慮하여 細菌

<Table 1> Composition of Isolation media

Bacteria		Yeast		Lactic acid Bacteria	
Beef ext.	10g	Beer wort	1l	Liver infusion	500ml
Peptone	10g	Glucose	50g	Tryptone	5g
Glucose	10g	Soy-sauce	10%	Na-thioglycollate	0.1%
NaCl	25g	Na-propionate	0.2%	NaCl	10%
Dist. water	1l			CaCO ₃	3%
				H ₂ O	500ml
Adjust pH to	7.0	Adjust pH to	5.0	Adjust pH to	7.0

은 好氣耐鹽性細菌을 酵母는 耐鹽性 酵母를 그리
고 乳酸菌은 好鹽性 乃至 耐鹽性乳酸菌을 分離할
目的으로 表 1과 같은 組成의 培地를 使用하였다.

(3) 微生物의 同定

分離菌株의 同定은 好氣性細菌과 乳酸菌은 American Bacteriologists Association¹⁵⁾의 Manual of Microbiological Method 에 의거 實驗하여 Skermann¹⁶⁾의 A Guide to the Identification of Genera of Bacteria 및 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology¹⁷⁾에 依據하여 同定하였고, 耐鹽性酵母는 Lodder 等¹⁸⁾의 方法 및 分類法에 依據하여 同定하였다.

3. 化學的 特性的 測定

간장 微生物에 影響을 주는 化學的 特性인 食鹽濃度, pH, 總酸 및 總窒素은 農藝化學實驗書¹⁹⁾의 方法으로 測定하였다.

III. 驗實結果

(1) 간장담금중에 있어서 好氣性細菌群의 消長
韓國在來式메주, 改良式메주, 在來式메주의 表面部分 및 在來式메주의 內部 黑褐色部分의 4 種類메주로 간장을 담그었을 때 이 4 試驗區에 있어서의 好氣性 細菌群의 消長을 調査한 結果는 Fig. 1, 2, 3 및 4에 表示된 바와 같다.

이들 4 試驗區에 있어서 나타난 主要好氣性 細菌의 種類는 모두 2型的 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus pumilus* 이었다. 2型的 *Bacillus subtilis*는 모든 菌學的 特性이 Bergey's manual에 記述된 바와 同一하나 다만 colony의 margin의 形態가 *Bacillus subtilis**는 irregular form 이고 *Bacillus Subtilis***는 circular form 이다.

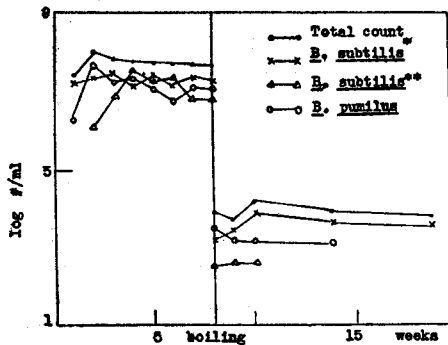


Fig. 1. Flora changes of aerobic bacteria during ordinary Korean native soy-sauce fermentation

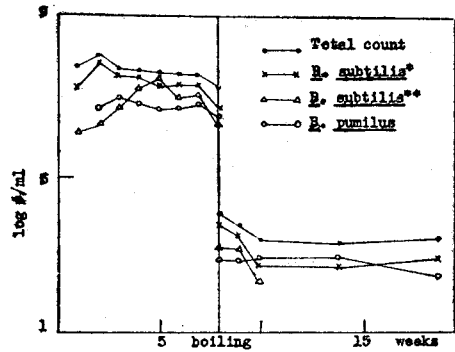


Fig. 2. Flora changes of aerobic bacteria during inner part Maeju fermentation

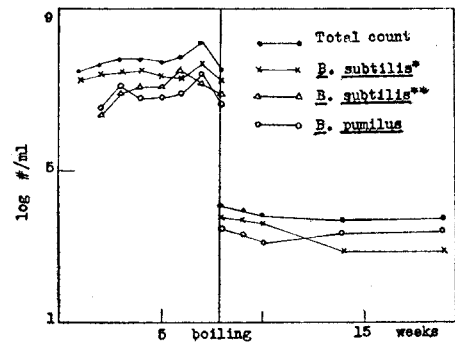


Fig. 3. Flora changes of aerobic bacteria during surface part Maeju fermentation

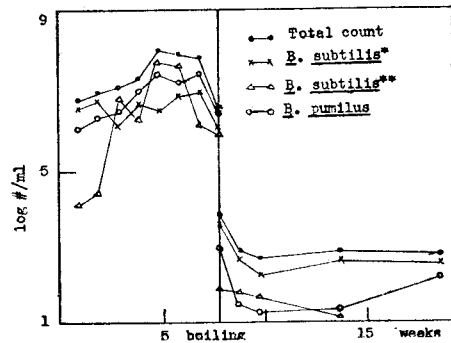


Fig. 4. Flora changes of aerobic bacteria during semi-Japanese style soy-sauce fermentation

以外에 各區에서 간헐적으로 *Micrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis* 등의 菌株가 나타났으나 이들은 메주명어리 粒子內에 殘存하고 있었던 것이거나 간장 담금중의 汚染일 것으로 생각된다.

Bacillus sp.의 flora 變化는 根本的으로 메주內

部部分, 메주表面部分, 在來式 및 改良式간장의 4 試驗區에 커다란 差異는 없는 것 같다. 그러나 메주 表面部分간장區와 改良간장區는 8 週까지 계속하여 生菌數가 若干 增加하는 傾向이 비슷하고 메주內部 部分간장區와 在來式 간장區는 반대로 若干 減少하는 傾向이다.

달인 後에는 어느 區를 莫論하고 *Bacillus* sp.의 flora는 달인 11 週까지 계속 減少하여 가고 있으며 그중 *Bacillus subtilis***는 早期死滅하고 있다.

(2) 간장담금중에 있어서의 乳酸菌群의 消長

4 試驗區에 있어서의 耐鹽性 乳酸菌群의 消長을 調査한 結果는 Fig. 5에 表示된 바와 같다.

이들 4 試驗區에 있어서 나타난 主要耐鹽性 乳酸菌의 種類는 모두 같아 *Pediococcus halophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* 및 *Lactobacillus plantarum*의 3種이었으며 改良式 간장區에서는 *Lactobacillus* sp.는 나타나지 않았다. 그의 未知의 菌種이 간헐적으로 나타났었다.

耐鹽性 乳酸菌의 flora의 變化는 4 試驗區가 거의 類似하였으며 乳酸菌의 總生菌數의 消長의 特徵은 모두가 3 週가 되기까지 旺盛한 增殖을 보이다가 3 週에 定常期에 達한 뒤 急激한 減退期를 갖고 있다.

달인 後에는 어느 區에서도 乳酸菌은 分離되지 않았다.

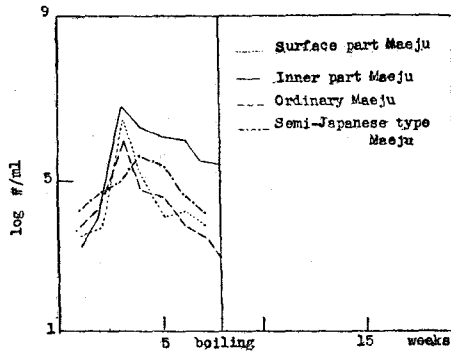


Fig. 5. Flora changes of lactic acid bacteria during Korean native soy-sauce fermentation. The 4 sample soy-sauces

(3) 간장담금중에 있어서의 酵母群의 消長

4 試驗區에 있어서의 耐鹽性 酵母群의 消長을 調査한 結果는 Fig. 6, 7 및 8에 表示된 바와 같다.

耐鹽性 酵母의 菌種은 메주 表面部分과 在來式 간장區는 같아 *Rhodotorula flava*와 *Torulopsis dattila*의 2種이었고 改良式 간장區에서는 *Torulo-*

*psis dattila*의 1種만이 그리고 메주內部分 간장區에서는 *Rhodotorula* sp.만이 나타났다.

酵母의 flora의 變動은 4 試驗區가 各已 달랐으며 메주內部分 간장區를 除外하고는 酵母가 醱酵에 參與하는 時期는 4 週째부터이었다.

달인 後엔 메주內部分 간장區를 除外하고는 菌

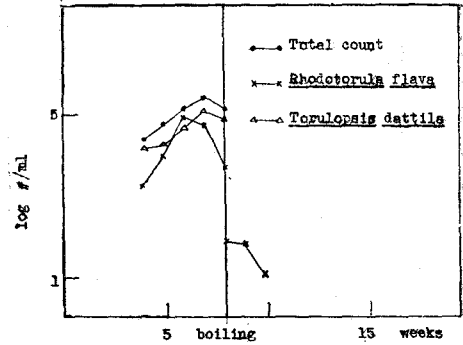


Fig. 6. Flora changes of yeasts during ordinary Korean native soy-sauce fermentation

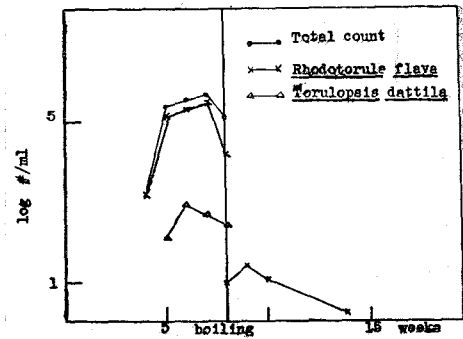


Fig. 7. Flora changes of yeasts during surface-part Maeju fermentation

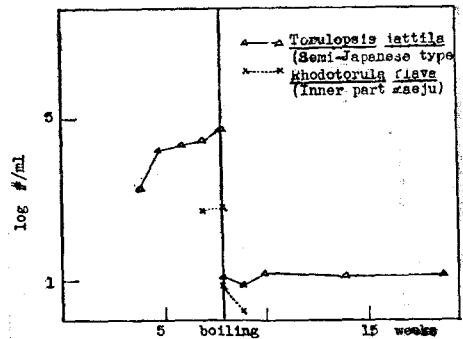


Fig. 8. Flora changes of yeasts during the inner part Maeju fermentation and the semi-Japanese style soy-sauce fermentation

種도 적어지고 그 生菌數도 계속 減少하고 있으며 달인 後 6週 前後하여 死滅하거나 혹은 늦어도 11週後엔 모두가 死滅하였다.

(4) 在來式 간장 담금中의 microflora에 影響을 미치는 成分으로 알려진 pH, 總酸, 食鹽濃度 및 總窒素를 測定한 結果는 Fig.9, 10, 11 및 12와 같다.

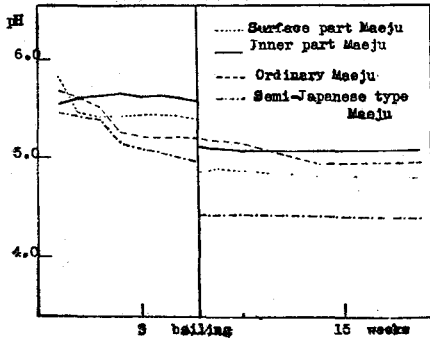


Fig. 9 Changes of pH values during Korean native soy-sauce fermentation

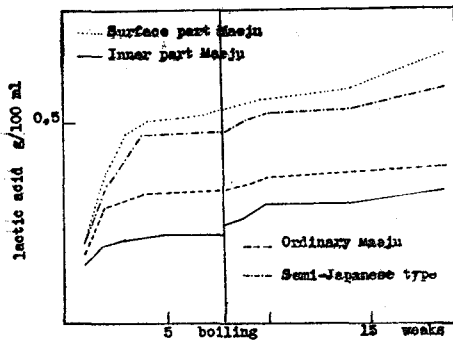


Fig. 10. Changes of total acid contents during Korean native soy-sauce fermentation

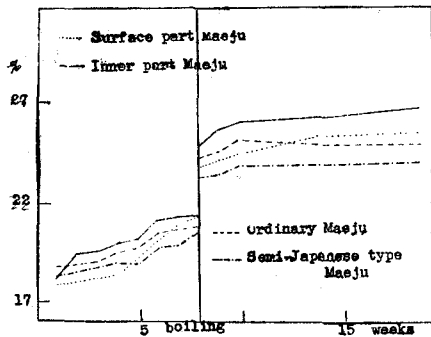


Fig. 11. Changes of salt concentrations during Korean native soy-sauce fermentation

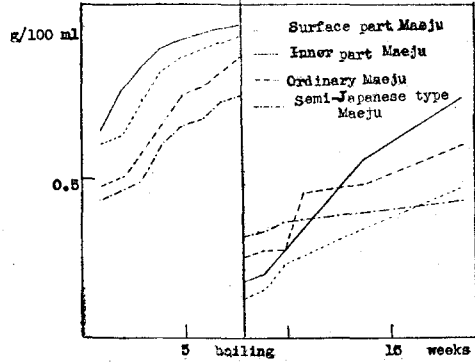


Fig. 12. Changes of total nitrogen contents during Korean native soy-sauce fermentation

(a) 在來式 간장 담금中의 pH의 變化

4 種類의 試驗간장은 모두 담금中 pH가 서서히 減少하는 傾向이 비슷하다. 다만 pH는 메주 内部部分간장區가 가장 높았고 改良式간장區는 反對로 가장 낮은 pH值를 보이고 있다. 간장은 달일 때 pH가 0.4 정도 降下되나 달인 後에는 別로 pH變動이 없었다.

(b) 在來式간장담금中의 總酸의 變化

4 試驗區의 간장은 담금中 그 總酸含量이 계속 하여 完전히 增加하는 傾向을 보이고 있다. 總酸含量이 가장 많은 간장은 메주 表面部分 간장區이며 가장 적은 것은 메주 内部部分 간장區이었다. 간장을 달이므로써 總酸의 絕對量에는 急激한 變化는 없었다.

(c) 在來式 간장담금 中의 食鹽濃度의 變化 8週까지는 2.5~3.5g/100ml 程度씩 높아지고 달이므로써 急激히 높아지며 달인 後 2週까지는 높아지다가 달인 後 3週부터는 濃度가 그다지 變하지 않았다.

(d) 在來式간장담금 中의 總窒素量의 變化

4 種의 試驗간장은 모두 總窒素量이 간장담금 8週까지는 漸次 增加하다가 장달이기를 할 때 急激히 減少한 後 다시 緩漫히 增加하는 傾向을 보이고 있다.

(5) 韓國全域에서 收集한 在來式간장의 醱酵微生物 및 測定

(a) 醱酵微生物의 菌種과 生菌數

全國各地 14城個地方에서 收集한 現在 食用中인 在來式간장에서 分離된 醱酵微生物의 菌種과 生菌數를 調査한 結果는 Table 2와 같다.

(i) 好氣性 細菌群

Table 2. Microflora and general properties of Korean native soy-sauces

	Microflora			Chemical compositions				
	Bacterium	Lactic acid bacteria	Yeast	pH	Total acidity (%)	NaCl (%)	Total N (%)	
경기도	수원	<i>B. subtilis</i> * 136×10 ³ <i>B. pumilus</i> 1×10 ³ <i>M. caseolyticus</i> 4×10 ³			4.8	0.93	29.6	9.98
	천안	<i>B. subtilis</i> * 24×10 ³ <i>B. pumilus</i> 8×10 ²			4.8	0.85	30.2	1.30
	안성	<i>B. subtilis</i> * 18×10 ²		<i>Sacch. rouxii</i> 1×10 ³	5.1	0.75	31.1	0.97
경상남도	부산	<i>B. subtilis</i> 13×10 ³ <i>B. pumilus</i> 1×10 ³			5.2	0.85	29.7	0.96
	대구	<i>B. subtilis</i> * 20×10 ² <i>B. pumilus</i> 2×10 ²		<i>Torulopsis datila</i> 3×10 ³	5.0	0.85	25.8	1.25
강원도	횡성	<i>B. subtilis</i> * 105×10 ³ <i>B. subtilis</i> ** 1×10 ³ <i>B. pumilus</i> 16×10 ³	<i>Ped. halophilus</i> 16×10 ³ <i>Lact. casei</i> 2×10 ³ <i>Lact. plantarum</i> 5×10 ³		5.0	1.22	24.4	1.05
	춘천	<i>B. subtilis</i> * 25×10 ²			4.7	0.95	29.4	0.87
충청도	보령	<i>B. subtilis</i> * 61×10 ³ <i>B. subtilis</i> ** 1×10 ³ <i>B. pumilus</i> 6×10 ³	<i>Leuc. mesenteroides</i> 3×10 ³ <i>Lact. casei</i> 2×10 ³		4.5	1.08	29.4	0.94
	단양	<i>B. subtilis</i> * 33×10 ³			4.6	0.85	30.9	0.83
전라북도	광주	<i>B. subtilis</i> * 146×10 ³ <i>B. subtilis</i> ** 8×10 ³	<i>Lact. casei</i> 1×10 ³ <i>Leuc. mesenteroides</i> 3×10 ³		4.8	0.9	24.8	0.88
	목포	<i>B. subtilis</i> * 157×10 ²		<i>Sacch. rouxii</i> 4×10 ³ <i>Sacch. acidifaciens</i> 3×10 ³	4.6	1.0	24.8	0.79
전주	<i>B. subtilis</i> * 7×10 ²		<i>Sacch. rouxii</i> 138×10 ³	4.8	0.85	24.5	1.28	
도서지방	제주	<i>B. subtilis</i> * 42×10 ³ <i>B. subtilis</i> ** 2×10 ³	<i>Leuc. mesenteroides</i> 3×10 ³		4.7	0.95	30.8	1.12
	진도	<i>B. subtilis</i> ** 240×10 ² <i>M. caseolyticus</i> 1×10 ³			4.5	0.85	29.7	1.46
개량식간장	수원	<i>B. subtilis</i> * 204×10 ²			4.1	1.15	23.2	1.30
전국평균		<i>B. subtilis</i> * 5304 <i>B. subtilis</i> ** 8 <i>B. pumilus</i> 88 <i>M. caseolyticus</i> 3	<i>Ped. halophilus</i> 11 <i>Lact. casei</i> 4 <i>L. plantarum</i> <i>Leuc. mesenteroides</i> 6	<i>Sacch. rouxii</i> 10 <i>Sacch. acidifaciens</i> 2 <i>Torulopsis datila</i> 2	4.79	0.91	28.9	1.09

在來式간장에서 分離된 好氣性 細菌群은 *Bacillus subtilis**, *Bacillus subtilis***, *Bacillus pumilus*, 및 *Micrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus aureus* 等으로 實驗室에서 製造한 4種試驗간장에

서分離된菌種과同一한菌種들이分離되었으며 그들의生菌數는實驗室製造간장보다平均的으로 약간 많았다.

(ii) 耐鹽性 乳酸菌

全國에서 收集한 在來式 간장에서 分離된 乳酸菌群은 *Pediococcus halophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Leuconostoc mesenteroides* 등으로 대체로 實驗室제조 간장에서 分離한 것과 비슷하며 生菌數는 平均的으로 많은 것으로 나타났다.

(iii) 耐鹽性 酵母群

全國에서 收集한 在來式 간장에서 分離된 酵母는 *Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis datila*, *Saccharomyces acidifaciens* 등으로 實驗室製造 간장보다 多樣하였으나 그 生菌數는 커다란 差異가 없는 것으로 나타났다.

(b) Microflora 에 影響을 미치는 諸成分

全國에서 收集한 在來式 간장中の microflora 에 影響을 주고 있는 것으로 알려진 pH, 總酸, 食鹽濃度 그리고 總窒素를 測定한 結果는 Table 2 와 같았다. 이들 결과에 比하면 實驗室 製造한 試料 간장들은 一般的으로 pH가 낮고 食鹽濃度가 약간 높은 편이었다.

IV. 考 察

간장은 原來 담금중에 있어서 메주의 熟成中 이 미 微生物에 依하여 그 속에 生成된 蛋白質分解酵素가 메주의 原料大豆蛋白質을 徐徐히 加水分解하여 amino 酸 및 peptide 等を 生成시키고 뒤이어 空氣中에서 들어가거나 人爲的으로 接種시켜준 乳酸菌과 酵母에 依한 醱酵作用으로 乳酸 等の 有機酸과 alcohol 類가 生成된 것이 간장의 熟成과 더불어 ester 로 되는 등 간장의 香味成分을 만들어 간장의 맛을 높이는 것이라고 생각되고 있다.

本研究는 韓國在來式 간장에 있어서 이 같은 順次的인 熟成過程을 主로 微生物學的인 觀點에서 研究하여 보고저 한 것이다.

따라서 上記한 바와 같은 觀點에서 간장 담금中の 醱酵에 關係되는 微生物群을 메주와 더불어 담금중에 들어 갈 *Bacillus* 等 好氣性 細菌群과 第二次的으로 담금중에 들어 갈 乳酸菌 및 효모군으로 나누어 간장의 달이기 前과 後에 있어서의 이들 群의 消長을 조사한 本 實驗結果를 考察하여 보면 다음과 같다.

간장 담금중에 나타난 好氣性 細菌群은 在來式 메주 試料에 나타난 菌種과 같은 *Bacillus* 群들로 이들 菌들이 그대로 간장 담금液에 移行된 것으로 보인다.

또한 改良式 간장도 담금中에는 *Bacillus* sp. 가 중요한 好氣性細菌이라고 생각된다.

生菌數가 試料메주보다 약간 적은 듯한 것은 主로 食鹽의 阻害作用 때문이라고 생각된다.

이들 好氣性細菌群의 담금中の 消長을 보면 메주表面 부분 간장區와 개량식간장區는 담금후 8週日까지 계속하여 增加하고 있으나 在來式 간장區와 메주內部 部分간장區는 이와 반대로 담금후 8週까지 漸減하는 傾向을 보인다.

이는 메주表面部分 간장區는 메주製造中 심한 乾燥로 原料大豆가 그다지 變質되지 못하였으며 改良式 메주도 곰팡이가 短時日間 자랐을 뿐 細菌에 依한 長時日間의 變質이 일어나지 않아 原料大豆가 간장담금 中에 이를 好氣性 細菌群의 充分한 營養源이 될 수 있기 때문이라고 생각된다.

在來式 및 內部部分 간장區는 이와 反對로 原料大豆가 微生物에 의한 變質이 심하여 營養源이 不充分하여 담금 後期엔 不足되기 때문인지 好氣性 細菌이 담금後 漸次減少하고 있다.

坂口²⁰⁾에 의하면 好氣性 細菌은 간장의 담금中 乳酸菌의 生酸으로 점차 生育치 못하고 孢子로 生存하고 있을 程度라고 報告하고 있는데 本 實驗結果에서는 이 結果와 完全히 一致하지는 못하고 있다.

아마도 本 實驗에서는 담금中 水分의 증발로 인한 鹽分의 增加 乳酸의 生成에 의한 pH의 降下, 콩의 分解로 인한 各種 溶解性 物質의 增加, 營養分의 고갈등 여러가지 原因의 綜合的인 結果로 好定性 細菌의 生菌數가 漸次減少되는 것이라고 생각된다.

달인 뒤에는 모든 試驗區에 있어서 好氣性 細菌數가 일단 적어졌다가 달인후 11週까지 漸次減少하는 傾向을 보이고 있다. 그러나 他微生物 보다 많은 生菌數를 보이며 殘存하고 있다.

好氣性 細菌은 孢子를 生成하기 때문에 高濃度의 食鹽에 對해서도 다른 微生物에 比해 抵抗이 強하고 달인 후의 高濃度의 食鹽濃度에서도 殘存하여 生存率이 높은 것으로 보인다.

好氣性 細菌群中 간헐적으로 分離되는 細菌으로는 *Micrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis* 등이 있으나 이들은 간

현적으로分離된 醬 간장담금 中에 重要한 醱酵微生物群을 形成하는 것 같지는 않다.

亂酸菌群은 *Pediococcus halophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* 등으로서 4 試料 간장에 있어서 모두 同一한 菌種이 分離되었고 이들 乳酸菌群의 消長도 同一하여 4 週까지 菌數가 增加하였다가 그후 死滅하여 가는 경향을 보이고 있다.

이같이 乳酸菌이 急激한 死滅期 乃至 減退期를 갖는 것은 原料메주가 이미 醱酵된 것이며 따라서 生育因子가 定常期 이후 急激히 소모되고 自身の 生酸으로 pH 降下와 總酸含量이 增加되어 急激한 生菌數의 減少를 招來하고 있는 듯 하다.

어느 試料區를 莫論하고 달인 뒤에는 乳酸菌을 分離할 수가 없을 程度가 되는데 그 가장 큰 原因은 韓國在來式 간장이 食鹽濃도가 24~26%로 높고 pH도 4.5~4.9로 낮은 것에 그 原因이 있는 것 같다.

이러한 結果는 日本간장에서 Sakaguchi²³⁾가 18% 食鹽濃度에서는 *Pediococcus* sp.의 增殖으로 pH 降下와 더불어 담금 2 個月後에는 一般乳酸菌이 현저히 阻害되고 있으며 또한 *Ped. sojae*는 食鹽濃度 22~26%에서 生育이 可能하나 pH 5.0 以下에서는 抑制되고 pH 4.8에서는 거의 生育이 阻害된다는 報告와 一致한다.

飯塚²²⁾는 耐鹽性乳酸菌인 *Ped. halophilus*의 生育限界食鹽濃도는 26% 前後라고 報告하였는데 이는 本 實驗結果와 類似하다. 町²³⁾도 日本간장에서 18%의 食鹽濃度 pH 4.8 以下에서는 乳酸菌을 發見할 수 없다가었는데 本 實驗結果에서와 같이 26%의 食鹽濃도와 pH 4.8 以下에서는 乳酸菌의 生育은 不可能하다고 보겠다.

따라서 韓國在來式 간장에서 乳酸菌群에 의한 乳酸醱酵는 담금後 3週에 最高에 達하였다가 그後 急激히 減退하여 달인後에는 全히 일어나지 않는다고 보는 것이 타당할 것 같다.

간장담금中의 酵母群은 本 實驗간장에 있어서는 試料메주中의 菌株들이 그대로 간장담금液에 移行되고 있었으며 原料 메주中에 있던 *Rhodotorula flava*와 *Torulopsis datila*의 2種 酵母가 在來式 간장區와 메주表面部分 간장區에서 모두 나타났으나 改良式 간장區에서 *Torulopsis* sp. 만이 1種이 出現하고 있었을 뿐이었다.

이들 酵母의 出現은 共通의 所以로 乳酸菌이 最高數를 보인 定常期 1주後인데 이때의 담금液은 pH

5.4 以下이었다.

따라서 試料 메주中에 生存해 있던 酵母는 담금液의 組成이 生育에 不適하여 增殖치 못하고 있다. 乳酸菌의 生酸으로 pH 5.4 以下로 降下된 適應된 酵母가 醱酵에 참여하고 있다.

酵母가 存在치 않았던 메주內部部分에서는 담금 4주제에도 pH가 5.6으로 높아서 酵母는 增殖치 못하고 있다. 乳酸菌이 다시금 旺盛하게 生育을 하여 pH 5.4 附近이된 8주제에 酵母가 나타나고 있다.

이러한 結果는 坂口²⁰⁾가 日本 간장에서는 乳酸菌의 生酸으로 간장의 pH가 酵母의 至適 pH인 5.4 以下로 되어야 酵母의 醱酵가 行하여 진다는 報告와 一致하고 있다.

달인 後에 있어서 간장中의 酵母는 간장 담금液의 pH와 食鹽濃도에 따라 生存 與否가 決定될 것으로 생각되는데 4 試驗區의 달인後의 pH는 비슷하게 4.5~4.7인데 食鹽濃도가 가장 높아 26.3%나 되는 메주內部部分 간장區에서만은 酵母가 死滅하고 있음을 볼 때 酵母의 生育限界食鹽濃도는 26% 前後로 推定된다.

日本 간장에서 坂口²⁰⁾는 *Sacch. rouxii*는 18% 食鹽에서의 生育범위가 pH 3~5로 制限된다고 報告하였고 太西^{24,25)}는 食鹽濃度 18% 培地에서는 pH 5.0 부근서 酵母가 發育하기 始作하며 pH 6.0 인때는 먼저 乳酸菌의 發育에 의해 pH 5.0 부근으로 된 後에 發育을 始作한다고 報告하였으며 窒素의 影響보다는 高濃度食鹽이 현저한 影響을 미친다고 하였다.

限界食鹽濃도는 宋⁸⁾이 產膜酵母의 경우 26% 以上이면 전혀 자라지 못한다고 하였는데 이들 研究와 本 實驗結果는 매우 類似하며 在來式간장의 酵母의 境遇도 pH 5.4 附近서 發育을 始作하고 있으며 限界食鹽濃도도 26% 附近이라고 할 수 있다.

本 實驗結果에서 보면 간장은 달임으로 微生物群에 있어서나 化學性質이 급격히 變하고 있음을 볼 수 있다.

原來 간장을 달이는 理由는 殺菌, 蛋白質의 凝固, 臭이므로서 食鹽濃도를 높이고 惡臭을 제거하여 貯藏성과 品質을 좋게 하기 위한 것이라고 한다.

本 實驗結果에서는 이 같은 事實이 잘 나타나고 있다. 惡臭의 除去에 對해서는 本 實驗에서는 直接 實驗하지는 않았으나 張²⁾의 報告에 의하면 실제 고된 냄새를 갖는 揮發性 有機酸의 揮發로 惡臭의 一部가 除去된다고 하였다.

本實驗에 의한 結果에서도 달임으로 總酸의 변화가 없는 것은 증발농축과 휘발과의 평형으로 생각되며 메주 內部分 간장區에서만 증가하는 것은 악취를 갖는 휘발성 성분이 비교적 적다는 것을 의미하며 간장의 냄새도 좋았다.

本實驗結果에 의하면 달인後 食鹽濃度가 상당히 增加되어 23~26%에 達하고 있다.

pH 및 總酸은 別變化가 없는 것으로 나타났으나 總窒素含量은 1/2~1/3로 減少하고 있는데 이는 蛋白質의 熱變性으로 凝固 除去되는 것에 基因된다고 생각된다.

또한 달인후에도 간장은 徐徐히 그 pH는 계속 降下되어 가며 食鹽濃度는 점차 상승한다.

微生物群은 全般的으로 달임으로서 急激히 除去되는 傾向을 보였으며 특히 乳酸菌은 달인後에는 完全히 死滅되어 나타나지 않았다.

好氣性 細菌도 1/3,000~1/10,000로 生菌數가 줄어들고 酵母도 極少數만이 殘存하고 있을 뿐이다. 달인 後에는 담금중에 간헐적으로 나타났던 다른 好氣性 細菌도 死滅되어 버려 그 후에도 分離되지 않았다. 간장을 달인 다음에는 오로지 *Bacillus* 만이 간장 貯藏中 계속 生存하여 正常的으로 恒常 나타나는 것 같으며 간장의 貯藏條件에 따라 酵母는 간혹 生存하는 수가 있을 정도로 微生物의 作用은 微弱하여 진다.

이러한 諸現象을 考慮하면 장달이기에 있어서는 熱에 의한 蛋白質의 變性凝固와 微生物群의 除去가 가장 뚜렷한 現象이라 할 것이며 달인 後의 간장 熟成은 極少數의 耐鹽性 微生物의 作用보다는 오히려 化學的인 熟成이 主가 되는 作用이라고 推測되며 長期貯藏中の 증발로 인한 濃縮過程에서 化學成分의 變化로 인하여 간장의 風味가 좋아지는 것이라고 考慮된다.

本實驗에서 實驗室에서 製造한 在來式 간장의 담금中の 微生物學的 變化가 실제로 各 家庭에서 의 在來式 간장담금 中에 일어나는 微生物學的 變動과 같은가 아닌가를 確認하기 위하여 全國 各 家庭에서 收集한 간장中에서 分離된 微生物群을 調査하여 實驗室에서 제조한 在來式 간장中の 微生物群과 그 種類 및 生菌數를 比較하여 보았다.

그 結果에 의하면 韓國 全域에서 收集한 在來式 간장中の 微生物群에 있어서 好氣性 細菌中 가장 主要한 菌種은 *B. subtilis* 와 *B. pumilus* 이었으며 以外에 간혹 *M. caseolyticus*, *Staphylococcus aureus* 등도 生存해 있었다.

이들은 實驗室 製造 在來式 간장의 主要好氣性 細菌들과 같은 菌種들이다.

耐鹽性 乳酸菌도 *Leuc. mesenteroides*, *Lact. casei*, *Lact. plantarum*, *Pediococcus halophilus* 등으로서 主要菌種은 實驗室 製造간장에서 分離된 菌種들과 亦是 같다.

乳酸菌의 生菌數는 平均 25개/ml 程度인데 14個 試料中 4個 試料간장에서만 生存하고 있으므로 實驗結果가 다르다고 할 수 없다.

耐鹽性 酵母는 各地方에서 收集한 在來式 간장에서 分離된 것은 *Torulopsis datila*, *Sacch. rouxii*, *Sacch. acidifaciens* 등이었는데 實驗室 製造간장에서는 分離되지 않았던 많은 酵母가 分離되고 있다. 또 實驗室간장에는 있었던 *Rhodotorula* sp. 는 分離되지 않았다.

따라서 酵母는 간장담금의 地域的 및 其他의 條件의 差異에 심하게 영향을 받는 것이라고 할 수 있다.

生菌數는 平均 110개/ml 이었으나 14개 試料 간장中 4가지 간장에서만 生存하고 있었다.

韓國 全域에서 收集한 在來式 간장中에서 微生物群에 영향을 준다고 생각되는 食鹽濃度 pH, 全窒素量 및 總酸量을 調査하여 본 結果를 考察하여 보면 다음과 같다.

食鹽濃度는 全國간장의 平均値가 28.9%로서 장기 저장으로 과포화상태를 이루어 食鹽이 析出되고 있는 것을 알 수 있다.

이는 $Jo^{26)}$ 가 在來式 간장의 食鹽濃度는 27.3±2.86g/dl 라고 報告한 것과 類似하며 食鹽濃도가 포화도에 이르고 있다.

pH는 목을수록 낮아지는 結果를 보여 주고 있는데 主酸酵 中에는 乳酸菌의 作用으로 그러던 것이 長期貯藏 中에는 殘存微生物, 有機酸, amino酸 및 無機酸類와 他化學成分과의 複雜한 作用으로 一定限度까지 pH가 降下하는 것 같다.

町²³⁾는 이같은 理由로 日本간장이 1年後에 pH 4.8까지 降下된다고 報告하였고 張^{3,4,5)}은 在來式 햇간장은 pH 5.37~5.60, 改良式 간장은 5.0~5.25라고 報告하였으나 本 實驗室간장의 경우는 이보다 낮아 1년 저장후엔 pH 4.4~4.6까지 降下되었었다.

간장이 목을수록 總酸量이 커지는 것은 蒸發로 인한 濃縮과 殘存 微生物에 의한 生酸 때문이라고 생각된다.

總窒素는 在來式 간장이 改良式 간장보다는 높

으며 그중 메주內部分 간장區가 가장 높다. 이는 메주內部分 간장區가 他區보다 大豆의 蛋白質分解가 심하여 담금액중에 녹아 나오는 N분이 많기 때문이라 생각된다.

太原²⁷⁾은 總窒素量은 食鹽濃度와 關係가 깊어 食鹽濃度가 낮을 수록 總窒素量이 많으며 製메주에 關係가 깊다고 報告했는데 本實驗結果도 이같은 關係 때문에 그런 것이 아닌가 生覺된다.

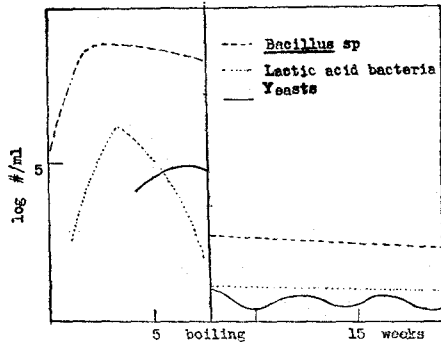


Fig. 13. Schematic microflora changes during Korean native soy-sauce fermentation

以上の 모든 事情을 綜合해 보건대 韓國在來式 간장 製造過程中 醱酵微生物群의 消長의 特徵은 Fig. 13에 나타낸 바와 같다고 할 수 있을 것이다.

即 好氣性 細菌은 담금 2週까지 若干 增加하는 것 같이 보이다가 그후 漸次 減少하며 耐鹽性 乳酸菌群이 담금 3週째에 最高에 이르렀다가 pH를 5.4附近으로 降下시키고 有機酸을 急激히 增加시키므로서 自身과 好氣性 細菌의 生育을 阻害한다.

이때 酢하여 酵母는 pH等 生育條件이 갖춰지므로서 醱酵에 참여하게 되고 酵母의 增殖期에는 乳酸菌이 급격히 減少하고 細菌도 漸次 減少하여 간다.

달인 뒤에는 酵母와 乳酸菌은 死滅乃至 아주 微少하게 殘存하고 다만 好氣性 細菌만이 恒常 少數로 간장담금液에 生存하여 있다.

간장을 달인後는 따라서 달이기 前에 微生物의 醱酵에 의하여 生成된 化合物들의 純化學的 作用으로 간장의 風味가 熟成되어 간다. 即 可溶性 窒素化合物의 含量이 增加하고 pH는 漸次 降下되어 어느 一定限度까지 이르고 있으며 有機酸 含量도 若干 增加되는 등 風味가 좋아지는 것이라고 할 수 있다.

本 研究의 結果로 보아 韓國在來式 간장은 그 微生物學的 現象이 담금後에는 日本式 간장이나

改良式 간장과 別로 크게 다른 바는 없는 것 같다. 亦是 韓國在來式 간장의 獨特한 特徵은 固有한 메주제조법에 있다 할 수 있을 것이다.

筆者等이 이미 前報에서 報告한 바와 같이 韓國在來式 메주는 그 메주의 熟成에 關與하는 微生物이 細菌 特히 *Bacillus subtilis* 및 *Bacillus pumilus*에 의한 것이다.

在來式 메주의 獨特한 形態와 長期間의 製메주 期間中의 固有한 條件으로 獨特한 메주가 生成되는 것이다. 이는 改良式이나 日本式 메주가 *Aspergillus oryzae*나 *A. sojae*를 使用하여 4~5日 동안에 메주를 만드는 것과 全然 다르다. 韓國在來式 간장이 이들 다른 간장과 다른 것은 熟成된 메주의 質이 전혀 다르므로서 이들은 담금후 大略 같은 微生物學的 條件下에서 醱酵가 되어도 質이 다른 간장이 되는 것인지 담금중에 있어서의 差異에 크게 起因하는 것은 아닌 것 같다.

萬一 韓國在來式 간장을 工業的으로 生産하고자 할때는 따라서 무엇보다도 製메주過程에 對한 根本的으로 새로운 科學的인 檢討가 要求된다고 생각된다.

V. 要 約

韓國在來式 메주를 全國 5個道에서 收集하여 메주 表面部分, 內部分, 在來式 메주 및 日本式 方法을 導入한 改良式 메주로 간장을 담금어 담금중의 微生物의 消長에 關하여 研究하고 이들 微生物의 flora에 影響을 주는 pH, 總酸, 食鹽濃度, 및 總窒素를 調査하였다.

아울러 韓國全境 14個 地方에서 現在 食用中인 在來式 간장을 收集하여 microflora 및 化學的 成分을 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 韓國在來式 간장의 主醱酵微生物群을 究명한 결과 好氣性 細菌群은 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus pumilus* 乳酸菌群은 *Pediococcus halophilus* 및 *Leuconostoc mesenteroides*, 그리고 酵母群은 *Rhodotorula flava*, *Torulopsis datila* 및 *Saccharomyces rouxii*이었다.

2. 韓國在來式 간장, 담금 중의 醱酵微生物群의 消長은 먼저 好氣性 細菌이 담금후 2週까지 增加하고 다음 乳酸菌이 3週째에 最高의 增殖을 보여 乳酸 等の 有機酸含量을 높이고 pH를 5.4附近으로 降下시킨 다음에 酵母가 增殖하기 始作하여 醱酵에 참여하고 있다.

乳酸菌은 生酸에 依해 自身과 好氣性 細菌의 生育을 阻害하고 있으며 담금 2個月 後엔 모든 醱酵 微生物이 減退期 乃至 死滅期에 접어들고 달인 뒤에는 大部分 死滅하고 少數 *Bacillus* sp.만이 殘存하나 담금液의 組成에 따라 酵母와 乳酸菌이 極少數 殘存하고 있는 경우도 있었다.

3. 담금중의 microflora에 影響을 주는 成分의 變化를 調査한바 간장의 全담금 期間을 通하여 總酸, 食鹽濃度 및 總窒素는 점차 增加하고 있으며 pH는 約 4.5 程度까지 降下하고 있다.

4. Microflora는 主로 食鹽濃度와 pH에 支配되는 것 같았다.

好氣性細菌은 胞子의 形成으로 가장 生存力이 強한 것 같으며 乳酸菌은 食鹽濃度 23~26%, pH 4.8에서 生育이 阻害되었으며 酵母는 담금液의 pH가 5.4 以下에서 비로소 發育을 始作하였고 pH 4.5~4.7에서의 限界食鹽濃度는 26% 前後로 보였다.

5. 韓國在來式 간장 製造過程中的 特徵인 長時間의 장달이기는 本 實驗結果에서 보인 殺菌 蛋白質의 凝固 食鹽 및 其他 成分의 濃縮 등에 있어서 매우 效果的인 方法이라는 것이 明白하다.

달인 後의 간장의 熟成은 微生物學的이라기 보다는 오히려 化學的 熟成이 主가 되는 것이라고 認定되었다.

6. 全國에서 收集한 韓國在來式 간장의 醱酵微生物의 平均生菌數는 好氣性細菌 53×10^2 개/ml, 乳酸菌 34개/ml, 酵母 14개/ml 이었고 諸化學成分의 平均値는 食鹽濃度 28.9%, pH=4.79, 總酸(乳酸) 0.91g/100ml, 總窒酸 1.09g/100ml 이었다.

參 考 文 獻

- 1) 上野敏男; 朝督試 9, 44(1927)
- 2) 張智鉉; 韓農化 6, 8(1965)
- 3) " ; " 7, 35(1966)
- 4) " ; " 8, 1(1967)
- 5) 張智鉉; 서울農業大學論文集第1輯 p.212(1963)
- 6) 金浩植等; 韓農化., 2, 23(1961)
- 7) 김재욱, 조무제; " 11, (1969)
- 8) 宋錫勳, 李啓瑚等; 기술연구소보고 2, 32(1963)
- 9) 張智鉉; 韓農化., 9, 9(1968)
- 10) 李澤守等; " 13, (1) 97(1970)
- 11) " ; " 13, (2) 172(1970)
- 12) 조덕현, 이우진; " 13, (1) 35(1970)
- 13) 이양희; 特許公報
- 14) 金浩植; 農產加工學 p.140(1961)
- 15) American Bacteriologists Association; Manual of Microbiological Methods, Mc. Grow-Hill Book Co., New York (1957)
- 16) Skermann, V.D.B.; A Guide to the Identification of Genera of Bacteria, the Williams & Wilkins Co. (1957)
- 17) Breed, S.R. Murray, E.G.D. & Smith N.R.; Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., The Williams & Wilkins Co. (1957)
- 18) Lodder, J. & Kreger Van Rij., N.T.W; The yeasts, A taxonomic study, Interscience publisher, Inc. (1952)
- 19) 東京大; 農藝化學實驗書 p.154 (1956)
- 20) 板口建二; 調味科學., 13, (3) 31 (1961)
- 21) K. Sakaguchi; Bull, Agr. Chem. Soc. Japan, 23, 22 (1959)
- 22) 飯塚, 山里; 日農化., 33, 383 (1966)
- 23) 町美根子; 調味科學., 13, (3) 1 (1969)
- 24) 大西博; 野田研究報 2輯 (1961)
- 25) H. Onishi; Bull, Agr. Cham. Soc., Japan, 24, 386 (1960)
- 26) Jo Joo Seang; New Med. J. (Seoul Korea) 7, (10) 85 (1964)
- 27) 太原森口; 調味科學., 3, (3) 12 (1955)