

된장의 變質防止에 關한 研究

(第 1 報) 産膜酵母의 發育抑制

車 源 燮

建國大學校 農科大學 農化學科

(1978년 6월 15일 수리)

Studies on the Preservation of Soybean Paste

(Part 1) Inhibition of the Growth of Film-forming Yeast

Cha Won Suep

Department of Agricultural Chemistry
College of Agriculture, Kon-Kuk University
(Received June 15, 1978)

Abstract.

Film-forming yeasts were isolated from deteriorated soybean paste and after identification factors affected on the growth of the organisms were studied to provide information on the protection of the product from deterioration.

The isolated yeasts were identified as *Pichia membranaefaciens*.

The yeasts could grow within the temperature limit of 10°C and 68°C with optimum at 25°C. The optimum pH was 6.0 and the growth was reduced in order at 7.0, 5.0, 8.0 and 4.0. The maximum concentration of sodium chloride in Hayduck solution was 15% above which the yeasts ceased to grow.

緒 論

우리 생활에 중요한 調味食品인 醬類에 關여하는 미생물에 關해서 많은 연구가 되어왔다. 간장의 産膜酵母에 대해서는 齊藤⁽¹⁾가 산막효모인 *Zygosaccharomyces japonicus* 및 *Pichia farinosa*, *Mycoderma* 및 *Torula* 속 菌株에 關한 菌學的 연구가 있었고 宋⁽²⁾ 등은 *Hansenula anomala*, *Zygosaccharomyces japonicus*, *Zygosaccharomyces* 중 한 group의 産膜酵母를 分離同定하고, 최적발육온도는 28~32°C, 死滅溫度가 52~55°C, 발육최적 pH는 4.5~5.5, 鹽分濃度 26% 이상에서는 발육이 되지 않는다고 하였다. Etchells⁽³⁾과 Bell 은 미국

5개주에서 수집한 市販 cucumber pickle brine 40종에서 산막효모의 분리동정 연구를 하여 염분농도 5, 10, 15% 및 20%의 cucumber brine 에서 산막을 형성하는 *Zygosaccharomyces halomembranis*를 報告하였다. 간장의 방훈를 위한 방훈劑로는 宋⁽⁴⁾李⁽⁵⁾ 등의 연구가 있으며 朱⁽⁶⁾ 등은 *Saccharomyces rouxii*를 산막효모로 분리동정하고 최적 pH가 5.0, 최적배양온도 30°C, 사멸온도 62~65°C, 최적식염농도 5%이며, 防腐劑로는 butyl para benzonate, sodium benzonate, sodium propionate, menadione, potassium sorbate, sorbic acid가 효과적이라고 하였다. 된장에 對해서는 好井⁽⁷⁾ 등은 *Saccharomyces rouxii*. var. *halomembranis*, *Saccharomyces acidificans* var. *pichia* (*Pichia membranaefaciens*, *Pichia*

sake, *Pichia farisona*), *Hansenula anomala*가 된장을 변질시키는 효모라고 하였으며, 宋⁽⁸⁾ 등은 간장의 방부제로 sorbic acid 0.06% 이상, DHA 0.02% 이상, POBB 0.1% 이상이라고 발표하였고, 그외에⁽⁹⁻¹⁷⁾도 미생물에 의한 醬類의 변질에 대한 연구가 많이 보고 되어 있다. 이들의 대부분은 변질 미생물의 생리 조사와 化學防腐劑 첨가에 의한 저장법에 관한 내용이었는데, 本實驗에서는 화학방부제를 사용하지 않고 식염과 유기산 및 온도처리 등의 방법으로 된장의 변질 방지가 가능할 것으로 생각하여 그 변질 방지방법을 究明코져 實驗을 시도하였다.

實驗材料 및 方法

1. 材料

변질된장 試料은 서울 소재 일반 가정(자양동)에서 변질된 된장표면에서 채취하였고, NaCl은 東洋化學社 製品 一級을 사용하였고, NaOH, CH₃COOH, KNO₃, C₂H₅OH 및 각종 糖類는 日本 石津製藥 特級을 사용하였다. 분리배양기는 Hayduck agar로 하였고, pH에 따른 생육조사 배지는 Hayduck배양액에 N NaOH와 N HCl로 조절하여 사용하였다.

2. 菌分離 同定

균의 분리는 회석배양법으로^{(18), (19)} 하였고, 분리배양한 colony를 사면배지에 이식하고 그 중에서 產膜효모로서 악취를 生成하며 변질된 된장에 가장 많이 생육하는 一菌株을 선발하여 Lodder⁽²⁰⁾의 분류법에 따라 同定하였다.

3. 분리균주의 生育調査

菌體量의 측정은 해당 조건으로 조절한 Hayduck 배양액 50 ml에 효모 한 백급이를 접종한 후 25°C에서 배양하고 Toyo 여지 No 5B 여과지로 여과한 후 30°C로 조절한 送風乾燥機에서 두 시간동안 건조한 뒤 重量法⁽²¹⁾으로 하였다.

(1) 식염농도에 따른 생육조사 : Hayduck 배양액에 NaCl로 농도 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18%의 7개區로 만들고 25°C에서 배양한 후 조사하였다.

(2) 배양온도에 따른 生育調査 : 배양온도를 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C의 7個區로 나누어 실험하였다.

(3) pH에 따른 생육조사 : Hayduck 배양액을 pH

4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0의 6個區로 나누어 조절한 뒤 菌을 접종하고 25°C에서 배양하여 조사하였다.

(4) 死滅溫度조사 : 43, 46, 49, 52, 58, 62, 65, 68, 71°C로 조절한 water bath에서 분리된 산막효모 배양액을 10분간 물속에서 진탕하며 殺菌處理한 뒤 다시 25°C에서 배양하고 生育有無를 조사하였다.

實驗結果 및 考察

1. 菌株의 分離와 同定

한천평판배양법을 이용하여 분리한 미생물중에 비실험에서 膜을 형성하고 악취를 生成하는 產膜酵母의 한 菌株을 분리 동정한 결과는 다음과 같다.

(1) 形態的 特性 : 이 산막효모의 형태는 單獨 혹은 쌍을 이루는 소시지 모양이었고 세포의 크기는 2~4×4~11 μ이였으며, 가운사는 만들지 않았고 영양생식은 多極性 出芽方法으로 行하였다.

(2) 培養的 特性 : 이 효모는 액체배양에서 배양시각 1~2일부터 배양액 표면에 皮膜을 형성하고 3~4일째는 完全히 주름잡힌 흰색의 피막을 만들며, 그 中 一部가 침전 되었다. 사면배양에서 colony가 흰색으로 융기상(raised)이고, 주변형태는 섬유모양 이었다. 平板培養에서는 건조하고 주름이 잡힌 흰색의 生育狀을 이루고 colony는 융기 상태이며 불규칙한 모양이고 주변은 물결 모양으로 되었다.

(3) 醱酵 및 資化性 : 이 實驗에서는 순수시약의 糖類로 10%농도의 糖液을 만든 후 발효실험을 행한 결과 모든 당을 발효하지 못하였다.

資化性 실험에서는 sucrose와 maltose는 資化하나 lactose, galactose, glucose는 資化하지 못하였다. 질소화합물 자화 실험에서는 KNO₃를 자화하지 못하였고 alcohol 자화 실험에서는 ethanol을 자화하였다. 이상의 실험결과 분리한 產膜酵母는 Lodder의 분류법에 따라서 *Pichia membranefaciens*로 추정되었다.

2. 산막효모의 염분농도, pH, 온도를 달리한 생육조사

(1) 염분 농도 : 이 조사 결과는 Fig. 1과 같다. 이 Fig. 1에서 보는 바와 같이 식염을 添加하지 않았을 때가 生育이 가장 왕성하였고 식염의 첨가량

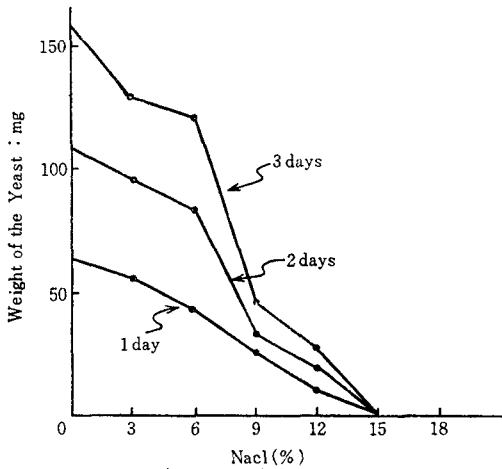


Fig. 1. Effect of NaCl on the Growth of Film-forming Yeast.

이 증가 함에 따라 생육이 억제되었으며 식염농도 15% 以上에서는 생육하지 못하였다. 朱⁽⁶⁾ 등이 분리한 산막효모는 식염농도 5%에서 가장 생육이 왕성하다고 한 것과는 많은 차이가 있으며, 宋⁽²⁾ 등이 분리한 산막효모가 발육억제된 26% 보다는 훨씬 낮은 식염농도에서 발육이 억제되어 變質방지가 다소 쉬울 것으로 생각된다. 일반 가정이나 공장에서 醬類를 제조할 때 된장의 식염농도 15%를 이상으로 유지하면 이 産膜酵母에 의한 변질은 막을 수 있다고 생각된다.

(2) pH를 달리한 生育調査: 이 조사 결과는 Fig. 2와 같다. 여기에서 보는 바와 같이 이 산막효모는 pH 6.0에서 가장 生育이 왕성하였고, 다음이 7.0, 5.0, 8.0, 9.0의 順이었다. 宋⁽²⁾ 등이 분리한 산막효모의 최적 pH 4.5~5.5와 朱⁽⁶⁾ 등이 분리한 산막효모의 최적 pH 5.0보다는 중성 쪽에 가까울수록 발육이 잘 되었다. 醬類食品에서 alkali 性쪽 보다는 산성쪽이 식품의 風味 변화를 적게 받으므로 pH 9.0 이상의 알칼리성으로 하여 된장변질을 적게 하는 것보다 pH 4.0 이하로 유지시켜 이 産膜酵母에 의한 변질을 억제시키는 것이 좋을 것으로 생각된다.

(3) 培養溫度에 따른 生育調査: 이 조사 결과는 Fig. 3과 같다. 여기서 보는 바와 같이 25°C에서 가장 발육이 왕성하였고, 10, 15, 40, 20, 35, 30°C의 順으로 발육이 억제되었다. 宋⁽²⁾ 등이 분리한 산막효모의 28°C~32°C와 朱⁽⁶⁾ 등의 30°C 보다는 낮은 온도에서 가장 잘 생육하였고, 발육을

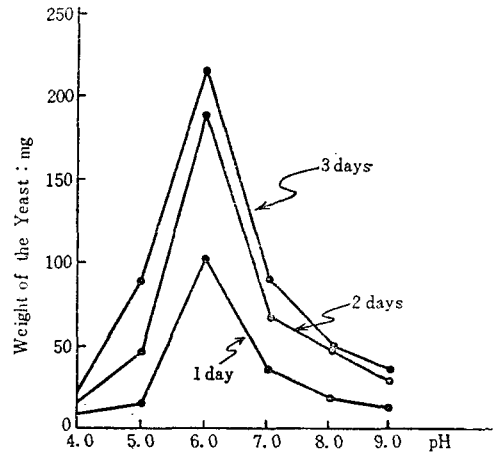


Fig. 2. Effect of pH on the Growth of Film-forming Yeast.

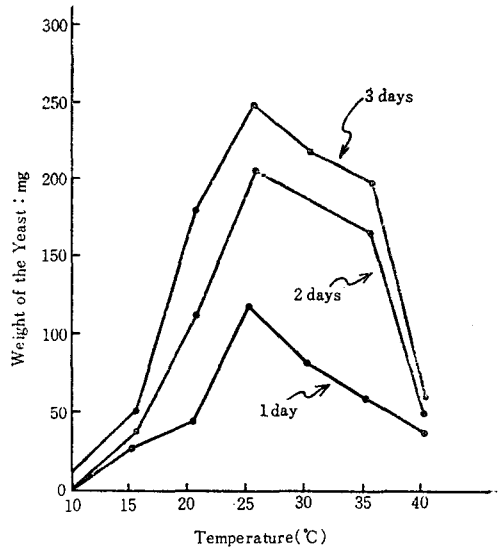


Fig. 3. Effect of Temperature on the Growth of Film-forming Yeast.

억제하기 위해서 40°C 이상의 高溫으로 하는 것 보다는 15°C 이하 특히 10°C 이하의 低溫으로 유지하는 것이 효과적이라고 생각된다. 일반가정에서 醬류를 봄, 가을의 기온이 낮을 때 담그는 것이 좋겠고 製品은 가능한 한 서늘한 장소에서 保管하는 것이 변질 방지에 효과적이라고 사료된다.

(4) 死滅溫度 調査: Table 1에서 보는 바와 같이 이 産膜酵母는 68°C에서 10분간 處理하였을 때

Table 1. Effect of Temperature on Growth of Heat Treatment on the Survival of Film-forming Yeast.

Day	Temp (°C)									
	43	46	49	52	55	58	62	65	68	71
1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2	++	++	++	+	+	+	+	+	-	-
3	+++	+++	++	++	+	+	+	+	-	-

+; Growth -; None growth

完全死滅하였다. 이것은 朱⁽⁶⁾ 등이 분리한 산막효모의 62~65°C 와 宋⁽²⁾ 등이 분리한 산막효모의 52~55°C 보다 높은 온도로 가열하여야 사멸시킬 수 있겠다. 따라서 된장을 살균할 경우에는 다른 산막효모의 경우 보다 높은 온도로 가열하여야만 이 산막효소를 사멸시킬 수 있겠다.

要 約

된장 저장 中의 變質을 防止하기 위하여 된장을 變質시키는 産膜酵母 한 菌株을 分離同定하고, 이 微生物에 식염, pH 온도 처리에 對해 生育條件을 調査한 結果는 다음과 같다.

(1) 된장 표면에 가장 많이 번식하여 된장을 변질시키는 産膜酵母가 Lodder 의 分類法에 準하여 *Pichia membranaefaciens* 로 추정되었다.

(2) 이 菌株는 Hayduck 배양액에서 식염농도가 증가됨에 따라 發育이 현저하게 억제되었으며 15% 以上の 농도에서는 生育하지 못하였다.

(3) pH를 달리한 培地에서 배양할 때 pH 6.0에서 가장 잘 生育하였고 다음 pH 7.0, 5.0, 8.0, 9.0, 4.0의 順이었다.

(4) 培養溫度는 25°C에서 가장 잘 生育하였고 10°C 이하에서는 거의 生育하지 못하였으며 死滅溫度는 10分間 處理에서 68°C였다.

參考文獻

- 1) 齊藤賢道：日本醱酵菌調查報告，第1回(1905).
- 2) 宋錫勳, 김중협, 이계호, 정윤수, 장건형：技術研究報告(陸技), 2, 32 (1963).
- 3) Etchel T.L. and Bell T.A. : *Food Technol.*, 4, 77 (1950).
- 4) 宋錫勳：技術研究報告(陸技), 2, 38 (1963).
- 5) 李澤守：충남대학교 석사학위 논문(1968).
- 6) 朱永河, 劉太鍾, 柳洲鉉：韓國食品科學會誌, 7, 61 (1975).
- 7) 好井子雄, 金子安之, 山口和夫：食品微生物學, (技報堂, 日本) p. 179 (1973).
- 8) 송석훈, 박근창, 김학목, 송정희：技術研究報告(陸技), 7, 24 (1968).
- 9) 西村寅三：日本內國策彙纂, 45, 47 (1910).
- 10) 高橋偵造, 湯川又夫：日本農學會報, 112, 60 (1911).
- 11) 大西, 茂木：醱酵工學雜誌(日本), 30, 194 (1952).
- 12) 石丸義夫：日釀學, 13, 295 (1935).
- 13) 茂木：日本農藝化學會誌, 15, 1221 (1939).
- 14) 茂木, 中島, 安藤：醱酵工學雜誌(日本), 29, 317 (1951).
- 15) 茂木, 中島, 安藤：醱酵工學雜誌(日本), 30, 49 (1952).
- 16) 茂木, 中島, 安茂：醱酵工學雜誌(日本), 30, 152 (1952).
- 17) 茂木, 中島, 安藤：醱酵工學雜誌(日本), 30, 194 (1952).
- 18) 京都大學：農藝化學實驗(產業圖書, 東京) p. 796 (1969).
- 19) 名古屋大學, 農藝化學教室：農藝化學基礎實驗(養賢堂, 日本) p. 282 (1966).
- 20) J. Lodder: *The Yeasts*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam (1970).
- 21) 京都大學 農學部食品工學教室：食品工學實驗書(養賢堂, 東京) p. 142 (1970).