

간장·된장 釀造에 있어서 微生物의 生態



李 址 烈

<서울女大 教授>

간장·된장釀造는 콩, 쌀, 보리, 밀 등의 原料의 加水分解에 필요한 酵素를 얻어 食鹽 環境하에서 乳酸菌·酵母의 醱酵에 의하여 風味를 만들게 한다. 이 과정에 관하여는 微生物

의 종류, 人爲的統制 등을 說明한다. 各菌群의 動態調査에 있어서의 選擇培地의 利用, 培養方法 등은 表 1과 같다.

表 1. 간장·된장 양조미코플로라의 調査(生菌數測定)

測 定 菌 群	培地·培養法	判 別 法
(麵中) 耐鹽性乳酸菌(<i>Streptococcus faecalis</i> 등) 好氣性球菌(<i>Micrococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.)	B.C.P 加僽톤·酵母의 스텍培地(好氣下)	生酸, 카타라제 弱生酸 카타라제 + 非生酸, 集落의 特徵
중국담기후 <i>Pediococcus halophies</i>	食鹽 10~(好氣下) 12%培地(嫌氣下)	同 上
국중효모	pH4.6~4.8의 국즙한 천배지	集落形成
상기 耐鹽性酵母 <i>Saccharomyces rouxii</i> 등 이후 <i>Torulopsis</i> 후 <i>Candida</i> , <i>Pichia</i> , <i>Torulopsis famata</i> 등	간장·된장 침출액 이 용 배지, 소금 7~10%, pH4.6 Glucose 3%, Maltose 3%, KNO ₃ , Maltose 培地.	産膜酵母의 判別(同上) 各培地의 集落

1. 製麵中の 微生物의 生態

(1) 국균의 生育

쌀코오지에서 균차량으로 본 제국중의 국균 生育상태는 圖 1과 같다. 20時間까지는 生育

하지 않고 34시간까지는 5시간마다 약 2배로 증가하고 다음에 출국까지 차차 쇠퇴한다.

(2) 제국공정의 미코플로라

제국은 개방적으로 이루어지기 때문에 국균 의 生育 외에 *Micrococcus*, *Streptococcus* (乳酸菌), *Bacillus* 등의 세균 및 효모가 증

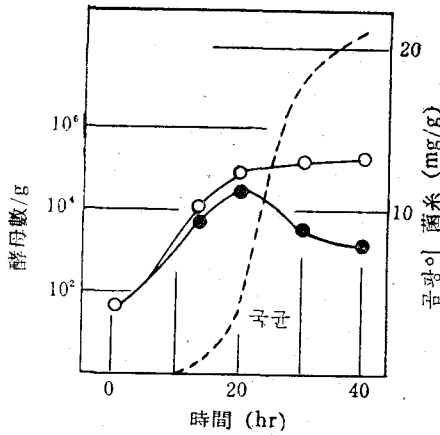


圖 1. 쌀코오지상의 곡균 및 효모의 생육
 ○— 효모만 배양 ●— 혼합(곡균과 효모)
 곡균

식하고, *Klebsiella*, *Clostridium*도 병발한다. 이들은 곡균과 공생, 길항 등의 생태적 뜻이 있어서 잡균으로 처리해서는 안된다.

表 2에 쌀코오지, 간장코오지, 메주의 세균·효모수를 나타냈다.

表 2. 출국의 세균, 효모(1g중)

菌 群	細 菌		酵 母
	好 氣 性	通性嫌氣性 (生酸菌)	
主要菌種	<i>Micrococcus</i> (<i>Bacillus</i>)	<i>Streptococcus</i> 一部 <i>Pediococcus</i>	<i>Saccharomyces</i> <i>Pichia</i> (産膜性) <i>Hansenula</i> (産膜性)
쌀 코 오 지	10^{4-7}	10^{4-6}	10^{2-5}
간 장 코 오 지	10^{5-9} (10^{6-7})	10^{2-6}	10^{2-6}
메 주	10^{9-11}	10^{9-11}	$<10^{2-3}$

a) 제국조건과 미코플로라

水分: 제국기질의 수분함량은 온도와 함께 미코플로라에 큰 영향을 준다. 表 2의 세균수는 수분함량이 많은 쪽이 많음을 보여준다. 즉 간장코오지에 있어서는 곡균과 *S. rouxii*는 수분이 30~35%에서 최대생육량을, 그리고 *Pc. halophilus*는 43%에서 최대생육을 보였다. *Bacillus mesentericus*(圖 2)는 水分 34% 이하에서는 증식을 볼 수 없다.

溫度: 간장코오지의 제국온도와 *B. mesent*

*ericus*의 증식·대사관계를 圖 3에 나타냈다. 34~37°C에서 증식이 크고, pH 상승, 전당의 소비도 심하다.

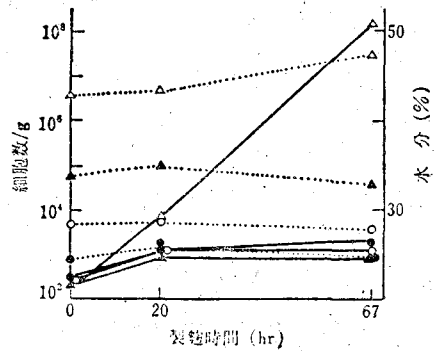


圖 2. 간장코오지 基質水分량과 *B. mesentericus*의 증식
 — 세포수, 水分,
 脫脂大豆: 밀=1:1, 30°C

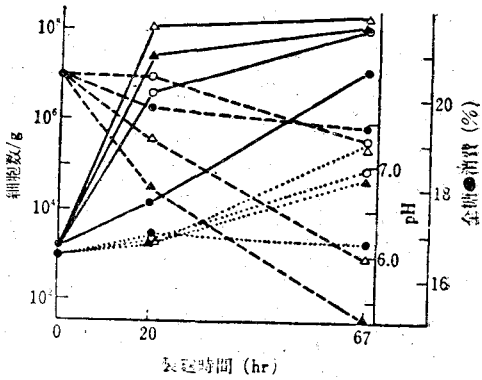


圖 3. 간장코오지 제국온도와 *B. mesentericus*의 증식·대사
 — 세포수, pH, 전당의 소비
 ● 25°C, ○ 30°C, ▲ 34°C, △ 37°C
 脫脂大豆: 밀=1:1, 초발수분 39~40%

酸素: 메주는 *Bacillus* 수가 비교적 적고, 乳酸菌과 *Micrococcus*가 많다. 그리고 *Bacillus* 및 *Micrococcus*는 메주의 바깥층에 많고, *Streptococcus*는 메주의 내부에 많이 산다. 이와같은 分布는 각균군의 산소요구도의 차이에 의하여 생기는 것인데, 内部에서는 通性嫌氣性的의 乳酸菌이 완성하게 증식·生酸을 하여 코오지 기질의 pH를 低下시킨다.

제국원료의 種別, 配合比: 간장코오지의 原料配合比와 *B. mesentericus*의 증식·대사의

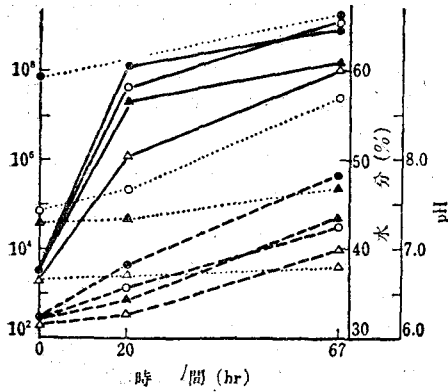


圖 4. 간장코오지 원료배합비와 *B. mesentericus*의 증식·대사

—세포수水分,pH, ● 脫脂콩, ○ 탈지콩 6:밀 4, ▲ 탈지콩 5:밀 5, △ 탈지콩 4:밀 6

관계를 圖 4에 나타냈다. 탈지콩만의 경우가 증식이 최대이고, 20시간에서 최대생육량에 달하고, pH상승, 낙산생성량도 많다. 탈지콩對밀이 6:4와 5:5에서는 차는 적으나 4:6에서는 증식·대사에 상당한 차가 있다. 이 차가 생기는 최대의 원인은 코오지기질의 水分含量이고, 또 원료의 화학적성분조성이 관계한다. 제국원료의 C/N비율, 미생물의 영양원 등 화학적 성분조성은 밀 또는 콩이 쌀보다 우수하다.

b) 제국시 미코플라간의 相互關係

麴菌과 *B. subtilis* 국균포자($10^3/g$)와 *B. subtilis*(枯草菌)포자 $10^{2-5}/g$ 을 接種한 混合

系에서의 국균의 생육·대사는 *B. subtilis*의 양에 따라 심히 억제되고, 10^4 접종에서는 균사가 인정되는 것에 불과하고, 10^5 에서는 생육이 거의 阻止되었다. pH, 암모니아態窒素量으로도 국균억제의 양상은 분명하다(表 3, a). 즉 코오지기질의 多水分, 高溫경과에 의하여 *B. subtilis*의 증식은 현저하게 촉진되고, 世代時間이 짧기 때문에 제국초기에 빨리 증식하여 국균의 생육을 길항적으로 억제하고 protease 등의 酵素力價도 低下시킨다.

麴菌과 乳酸菌群: 국균($10^3/g$ 의) 胞子를 接種)과 *Streptococcus* sp.의 混合系에서는 국균은 유산균에 의하여 약간 억제되는 경향이 있으나, 영양을 거의 받지 않고, 유산균은 국균에 의하여 도리어 증식이 촉진된다(表 4). 양균간의 증식시기는 다르고, 유산균은 제국 개시 후 약 20시간까지는 왕성하게 증식하고 이후는 서서히 증식한다. 국균은 20시간 전후에서 활발한 균사의 신장이 시작되고, 효소의 생성을 하고 드디어 포자도 착생한다. 乳酸生成 또는 국기질의 pH하강의 경과(表 4, 圖 5)에서도 乳酸菌증식은 제국초기에서 分明하고, 제국후반은 국균의 생육·대사로 바뀐다. 乳酸菌의 接種량이 많으면 pH^o 降도 커지고 中性프로테아제力價(pH6.0의 活性)를 약간

表 3. 국균(*Aspergillus oryzae*)와 枯草菌(*B. subtilis*)의 混合培養

Bac. 接種量/g	Asp.	培養時間 (hr)	Bac. 數/g	Asp. 胞子數/g	pH	NH ₃ -N ^o (mg)
2.3×10 ⁴	—	20	4.3×10 ⁷	—	6.49	16.03
		67	1.0×10 ⁸	—	7.70	33.02
4.5×10 ⁵	2.1×10 ⁸	20	6.2×10 ⁷	—	6.37	12.66
		67	3.8×10 ⁸	—	7.35	26.35
4.5×10 ⁴	2.1×10 ⁸	20	3.1×10 ⁸	—	6.37	14.27
		67	2.6×10 ⁸	—	7.35	18.30
4.5×10 ⁵	4.5×10 ⁸	20	3.0×10 ⁸	—	6.35	15.83
		67	2.8×10 ⁸	9.5×10 ⁷	6.68	8.09
4.5×10 ²	2.1×10 ⁸	20	9.2×10 ⁴	—	6.28	18.02
		67	5.5×10 ⁷	1.7×10 ⁸	6.30	4.16

.. 탈지콩, 밀 각 20g배합의 간장코오지, 初發水分 41%, pH6.33, NH₃-N 19.33mg(간장코오지 약 65g중)

表 4. *Aspergillus oryzae*와 *Streptococcus* sp.의 混合培養

Sc. 接種量/g	培養時間 (hr)	Sc. 數/g	Asp. 孢子數/g	pH	NH ₃ -N (mg) ^{b)}
7.7×10 ⁴	20	1.3×10 ⁸	5.1×10 ⁸	6.01	19.26
	67	1.5×10 ⁸	1.1×10 ⁷	6.01	8.20
7.7×10 ^{2a)}	20	8.9×10 ⁶	—	6.33	21.56
	67	1.5×10 ⁷	—	5.59	21.72
7.7×10 ⁸	20	4.2×10 ⁷	6.4×10 ⁸	6.34	18.22
	67	1.2×10 ⁷	4.6×10 ⁷	6.17	11.05
7.7×10 ⁴	20	1.0×10 ⁷	5.2×10 ⁸	6.33	17.28
	67	1.2×10 ⁸	7.2×10 ⁷	6.29	11.82

a) *Streptococcus* sp.의 單獨接種, 기타는 *Asp. oryzae* 孢子를 7.6×10³/g接種

b) 간장코오지 약 65g중, 表 5와 같이 간장코오지, 초 발 pH6.40, NH₃-N 24.29mg.

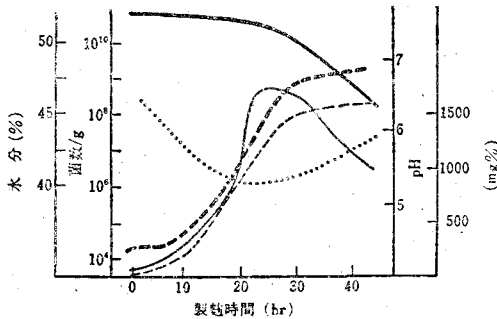


圖 5. 메주의 生酸菌增殖과 乳酸生成經過

—水分, —乳酸量(乾物中の mg%), ■■■生酸菌 (好氣的分離),生酸菌(嫌氣的分離),pH

저하시킨다. 그러나 그 惡影響은 實用上은 거의 문제가 되지 않고 도리어 乳酸菌群은 제국 전반의 왕성한 증식·대사로 국기질의 pH를 내려, *Baillus* sp.의 침해를 억제하고 후반의 국균생육을 위한 안전한 환경조건을 만들어주는 전구적 역할을 하는 것이라고 말할 수 있다.

麴菌과 *Micrococcus* sp. : 코오지의 미코플로라중에는 *Micrococcus*속이 가장 많다. 제국이 호기적 조건하에서 이루어지기 때문이다. *M. varians*, *M. epidermidis*(Bergey's 7版에서는 *Staphylococcus epidermidis* 耐鹽性 強함). *M. conglomeratus*, *M. caseolyticus*

등의 菌種이 많다.

국균(10⁴/g의 孢子接種)과 *M. caseolyticus* (10²⁻⁶/g)의 混合培養에서는 국균은 거의 영향을 받지 않고, *M*균은 제국개시 후 20시간까지는 증식이 촉진되고, 이후는 증식안되거나 감소한다. 또 국균의 효소생성에서도 영향은 거의 볼 수 없으나, 生酸株는 국기질의 pH를 하강시킨다. 麴菌과 酵母 : 酵母는 제국개시 후 약 20시간까지는 국균의 영향을 거의 받지 않고 증식한다.

그러나 이후는 증식을 정지하고 감소된다. 이것은 品溫上昇(35°C 이상)과 국기질수분의 감소, 그리고 쌀코오지에서는 K이온의 결핍(부족)에 의한다. 한편 국균의 생육은 酵母에 의하여 하등의 영향을 받지 않는다.

2. 熟成工程의 미코플로라

간장을 담근 후 또는 간장 모로미(諸味)속에서 活動하며 숙성에 관여하는 것은 耐鹽·好鹽性的 菌群뿐이다. 非耐鹽性細菌 및 酵母는 담기초기에 食鹽에 의하여 도태되어 급속히 사멸 감소하고 먼저 *Pc. halophilus*가 왕성히 증식을 개시하여 乳酸을 生成하여 pH를 내린다. 이 pH의 하강에 의하여 *S. rouxii*가 유발되어 완전한 주발효로 알코올 및 복잡한 향기성분이 만들어진다. 간장모로미에서는 그 후에 好鹽性的 *Torulopsis*속이 후속효모로서 활동한다. 된장모로미의 미코플로라의 基本的 패턴은 거의 동일하다.

(1) 담기초기의 미코플로라의 도태

출국 등에 유래한 세균류의 耐鹽性を 圖 6에 표시하였다. *B. subtilis*는 食鹽 10%에서는 모두 증식하나, 13%에서는 증식되지 않는 菌株도 있고, 15%에서는 증식하지 않는다

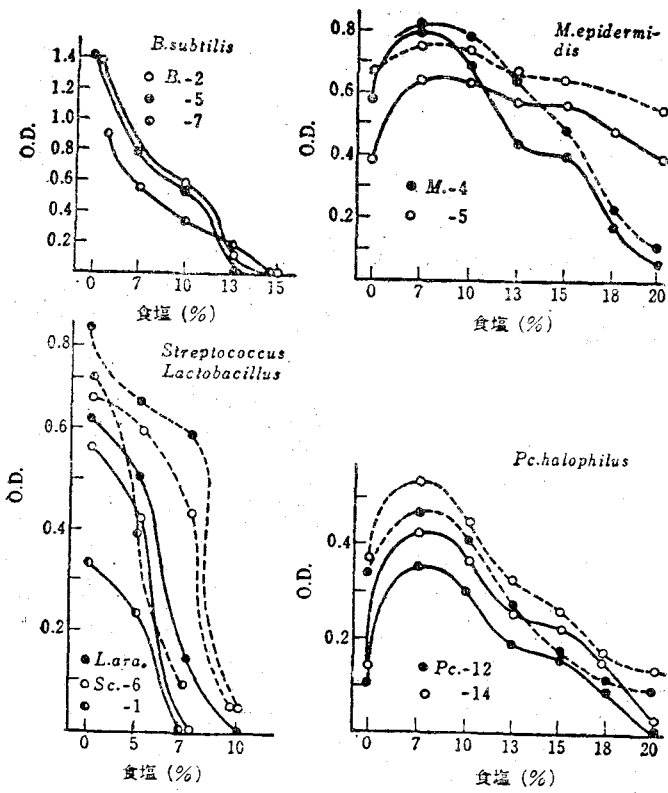


圖 6. 細菌의 食鹽耐性

— 펠튼·酵母엑스培地,同左+생간장(TN0.04%) O.D. 산소요구량

(*B. pumilus* 등은 15%에서 증식가능하다). *Sc. faecalis*는 내염성이 강하여 13%정도에서도 증식가능하다. *Micrococcus*株는 일반적으로 13~15%의 내염성을 가졌으며, *M. epidermidis*는 18% 이상에서도 증식한다. *Pc. halophilus*는 24% 食鹽에서도 증식하며 최적 식염농도는 약 6~10%로서 호염성 성격을 나

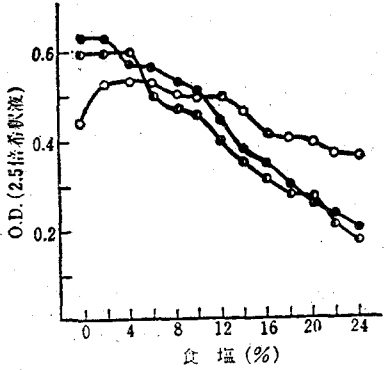


圖 7. *S. rouxii*의 食鹽耐性

○96, ●Y712, ■A, 카르니노酸·酵母엑스培地, 25°C, 13日間 培養

타낸다. 酵母는 *S. rouxii*가 식염 농도의 증대와 더불어 증식저해를 받으나 24~26%까지 증식하고, 4-ethylguaicol(4EG)생성능이 있는 *Troulosopsis*株도 24%에서 증식하고, 최적식염농도는 8~12%로서 호염성을 나타낸다.

表 5에 나타낸 바와 같이 된장의 對水食鹽濃度는 약 11~23%이고, 잔된장중에서는 미생물은 간장모로미보다 진한 식염하에 있게 된다. 非耐鹽性菌은 식염에 의하여 도태되어, *Bacillus Sp*는 孢子로 살아 남고, *Pc. halophilus*, *S. rouxii*, *Torulopsis sp.*의 일부만이 증식한다. 또 된장, 간장모로미의 水分活性(Aw) (表 5)은 對水食鹽濃度와 밀접한 관계를 가지나 甘味된장 등에서는 食鹽以外에 多量의 糖質에

表 5. 된장, 간장모로미의 食鹽濃度, 水分活性

	水分食鹽濃度 (%) ^{a)}	對水食鹽濃度 (%) ^{b)}	直糖 (%)	水分活性 (Aw)		
쌀된장	甘味된장	42	5~6	10.6~12.5	25~30	0.75~0.80
	淡色잔된장	46	12~13	20.7~22.0	12~16	0.72~0.76
	赤色 "	46	13~14	22.0~23.3	11~14	0.70~0.72
메주된장		44	11~12	20.0~21.4	4~5	0.72~0.76
	간장모로미	60~63	13	17.1~17.8	3~4	0.77~0.81

a) 標準值를 나타냄
b) {食鹽/(水分+食鹽)}×100

의하여도 Aw가 低下되어, 미크로플로라의 도태, 증식의 난이는 이들의 Aw值로도 說明할 수 있다.

(2) *S. rouxii*의 증식·발효

*Pc. halophilus*의 사멸감소에 따라, *S. rouxii*의 왕성한 증식·발효가 시작된다. 耐鹽性은 適應에 의하여 획득된다. 고농도식염

表 6. 간장모로미·된장효모의 生理的特性 特性

		<i>Saccharomyces rouxii</i>	<i>Torulopsis versatilis</i>	<i>Torulopsis etchellsii</i>
生育 pH 域	最適	4.5~6	4~5	4~5.5
	範圍	3~7	3.5~5.5	3~7
生育溫度(°C)	最適	25~30	25	25~30
	限界	35	42	35
비타민要求	Thiamine	N	N~S	E
	Ca-pantothe.	E	E	N
	Biotin	E	E	E
	Inositol	S	E	N~S
糖의 發酵性 (資化性)	Glucose	+(+)	+(+)	+(+)
	Galactose	-(+)	-(±)	+(+)
	Maltose	+(+)	-(-)	+(+)
	Sucrose	-, ±(+, ±)	-(-)	+(+)
	Lactose	-(-)	-(-)	±(+)
	Raffinose	-(-)	-(-)	+, -(+, -)
	Trehalose	+, -(+, -)	-(-)	+(+)
	Glycerol	(+, -)		(+)

굵은 글자는 食鹽 18% 의하, 기타는 無鹽下, E:필수, S:촉진적, N:비요구성()안은 당의 자화성을 나타낸다.

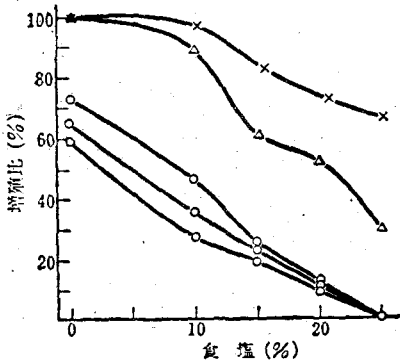


圖 8. 食鹽濃度와 이노시톨의 要求性
 × *T. etchellsii* △ *T. versatilis* ○ *S. rouxii*
 ★ 이노시톨缺如培地에서의 0.D/(이노시톨 50mg/l 添加培地에 있어서의 0.D)×100, 25°C, 9日間 培養.

하에서는 pH域, 溫度, 營養要求, 代謝生産物 등에서 食鹽이 없을 때와는 다른 특징을 볼 수 있다.

營養要求의 增大: 表 6에서 보는 바와같이 食鹽下의 本菌의 生育에는 특히 이노시톨, 판토텐산의 요구가 증대한다. 食鹽 15% 以下の 정상한 생육에는 이노시톨 10mg, 판토텐산-Ca 0.2mg, 비오틴 4μg, 티아민 0.2mg(각培地 1l中)이 필요하고 특히 이노시톨요구량

도 식염하에서는 食鹽濃度와 比例한다(圖 9). 판토텐산요구량도 증대하여 이들이 내염성부활효과를 준다. 또 食鹽下에서의 메티오닌, 풀린 등의 요구성으로 내염성부활에도 콜린-메티오닌代謝系 또는 核酸系·脂質系를 통하여 이노시톨도 이 계에 관여하는 것으로 생각된다.

