

재래식 및 개량식 고추장 효모의 분포 및 생리특성

정윤창 · 최원진 · 오남순 · 한민수
(주)미원 식품연구소

Distribution and Physiological Characteristics of Yeasts in Traditional and Commercial Kochujang

Yoonchang Jung, Wonjin Choi, Namssoon Oh and Minsu Han
Food Research Center, Miwon Co., Ltd.

Abstract

To investigate the yeast flora in the traditional and commercial *kochujang*, computer identification systems, Vitek, API kit and conventional identification methods were used. Yeast flora of each process were compared and their typical physiological characteristics were also tested. Various process intervals yielded 330 colonies, which resulted in 11 species 184 strains classified. They were identified into *Candida glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. humicola*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides*, *Cryptococcus uniguttulatus*, *Pichia farinosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces rouxii*. The strains of *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* were existing in both processes. In case of commercial process, the maximum distribution of *Z. rouxii* and *S. cerevisiae* were 33% at 15 day fermentation and 13% at 21 day, respectively. The distribution of *Candida* spp. was gradually decreased throughout the fermentation period from 40% to 10%. In the traditional process, the maximum distribution of *Z. rouxii* and *S. cerevisiae* were 53% after 3 months and 26% after 7 months, respectively. *S. cerevisiae* and *Z. rouxii* showed distinctive growth pattern at the high concentration of glucose and sodium chloride and played important roles in both processes of fermentation. Physiological tests revealed that only two major yeasts, *S. cerevisiae* and *Z. rouxii*, showed vigorous carbon dioxide formation under the tested conditions.

Key words: *kochujang*, computer aided identification, yeast flora, growth response, carbon dioxide formation

서 론

우리나라 고유의 전통식품 중 하나인 고추장은 특유의 향과 매운 맛에 어우러진 구수한 맛을 지닌, 다른 나라에서는 볼 수 없는 독특한 맛을 가진 조미식품으로서 김치와 더불어 한국의 대표적 발효식품이다. 그러나, 급속한 농촌 경제 인구의 감소 및 노령화와 국민소득 향상에 따른 도시인의 생활 구조의 변화로 가정에서 재래적으로 만들던 고추장은 점차 사라지고 있으며 개량식으로 만든 고추장의 생산이 증가하고 있다⁽¹⁾. 이러한 변화에 따라 우리 고유의 고추장을 발전시킬 수 있는 체계적이고 종합적인 연구에 대한 필요성이 대두되고 있다^(2,6).

전분과 단백질이 효소에 의해 분해되어 생성되는

Corresponding author: Yoonchang Jung, Food Research Center, Miwon Co., Ltd. 720, Banghak-dong, Dobong-ku, Seoul 132-020, Korea

당과 아미노산의 맛과 더불어 미생물이 생육하면서 발생하는 특유의 향미는 고추장의 품질에 기여하는 바가 크다⁽⁷⁾. 특히 효모에 의하여 당류로부터 생성된 알콜은 고추장 중의 여러가지 유기산들과 반응하여 고추장의 관능적 품질요소 중의 하나인 ester류의 향기를 발산하게 하며 따라서 우수한 생리적 성질을 가지고 있는 효모의 역할에 많은 기대를 하게 된다. 그러므로, 발효숙성 과정중에서의 효모의 역할에 대한 연구는 우리나라 고유의 전통 발효식품인 고추장의 품질을 발전시킬 수 있는 중요한 요소 중 하나이다. 된장과 간장의 발효에 대한 연구는 주로 효모를 중심으로 한 미생물의 분포와 역할, 생리특성에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. 그러나, 고추장은 탄수화물 함량이 높으며, 고추에서 유래된 capsaicin을 함유하고 있어 된장 또는 간장과는 다른 미생물이 발효에 관여할 것으로 생각된다. 고추장에 관한 연구는 조 등⁽²⁾, 이 등⁽⁴⁾, 김⁽⁸⁾, 진⁽⁹⁾의 연구와 같이 고추장 제조 방법에 관

한 보고 등 제조방법에 관한 연구가 주류를 이루고 있으며 이외에도 정 등⁽¹⁰⁾, 김 등⁽¹¹⁾과 같이 고추장의 숙성 기간 중 성분변화를 관찰한 연구가 많이 보고되었다. 한편, 고추장 내부의 성분 변화는 미생물에 의해 발효와 숙성이 진행되는 동안에 주로 이루어지나, 이러한 발효숙성을 주도하는 미생물의 분포 및 특성에 관한 연구는 미약한 편이다. 고추장의 발효와 관계된 효모의 균종에 관한 연구는 1970년대에 이⁽⁵⁾와 이 등⁽⁶⁾이 재래식 고추장의 발효에 관여하는 효모의 분포를 일반적인 분리 동정 방법을 이용하여 동정하고 분석한 연구보고가 있을 뿐이다. 고추장 발효숙성시의 경시적인 균의 분포를 파악하려면 다량의 균을 동정해야 하므로 1 균주의 동정에 보통 2~4주의 시간과 60~90가지의 시험을 시행해야 하는 일반적인 효모 동정 방법을 사용할 경우 상당한 어려움이 따르기 때문에 고추장 주요 미생물원인 코지, 메주를 포함한 재래식 및 개량식 고추장 제조과정 중의 효모에 대한 연구는 없다.

균의 신속한 동정을 위하여 자동화된 시스템이 다수 개발되어 임상의학 등에 응용되고 있어서 식품 미생물에 대한 적용 가능성에 대한 연구보고가 많이 나오고 있다. Deak과 Beuchar⁽¹²⁾는 상업적으로 개발된 동정장치인 API kit 등을 이용하여 식품에 많이 존재하는 15종의 효모 166주를 시험한 결과, 86%를 동정하였으며 그 정확성은 97.5%로 나타나 보완 실험을 통하여 정확한 동정을 실시할 수 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 코지, 메주, 재래식, 개량식 고추장의 발효숙성 시기별로 효모를 분리하고 효모의 생리학적 특성에 따라 컴퓨터 시스템(Vitek)을 이용하여 효모를 분류하였으며 분류된 효모는 일반 효모동정법^(13,15)과 컴퓨터 동정 시스템(API kit)을 병용하여 동정하였다. 이를 토대로 고추장 제조과정에서의 효모분포를 조사하여 그 동태와 전이 경로 및 생리 특성을 조사한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

코지 및 개량식 메주의 제조

콩코지 제조용 새균은 본 실험실 보관균주 중 관능적으로 풍미가 우수한 *B. licheniformis*를, 소맥코지 제조용 곰팡이는 (주)하경중공에서 입수한 장류용 *Aspergillus oryzae*를 사용하였다.

(1) 소맥코지: 시중에서 구입한 소맥분을 1.5 kg/cm²의 압력에서 30분간 autoclave로 증자, 냉각한 후 *A. oryzae*를 0.1% 접종하여 30°C에서 40시간 배양하

여 소맥코지로 사용하였다.

(2) 콩코지: 시중에서 구입한 대두를 실온에서 12시간 침지후 1.5 kg/cm²의 압력으로 30분간 증자하여 냉각한 후 액체배양한 *B. licheniformis* 단일 균주를 0.1% 접종하고 40°C에서 48시간 배양하여 콩코지로 사용하였다.

(3) 개량식 메주: 소맥코지 8.5 kg, 콩코지 8.5 kg에 정제염(한주소금)으로 염농도를 12%, 수분을 50%로 조절하여 혼합한 후 30°C에서 20일간 배양하였다.

개량식 고추장의 제조

참쌀분(시중구입) 0.9 kg과 소맥분 6.5 kg을 물과 혼합한 후 α -amylase(태평양 화학, 30,000 unit/g) 0.3%를 첨가하여 80°C에서 2시간 반응시킨 액화물 13.9 kg, 소맥곡자 3.9 kg, 개량식 메주 3.9 kg, 고추분(시중구입) 3.0 kg을 혼합한 후 정제염으로 염농도를 9%, 수분 42%되게 조절하여 30°C에서 발효, 숙성시키면서 숙성 초기 및 7일, 15일, 21일에 각각 시료를 취하여 효모의 분포를 조사하였다. 개량식 고추장의 제조 방법 및 숙성기간은 산업적인 개량식 고추장 생산 양식을 감안하여 설정하였다.

재래식 메주 및 고추장의 제조

본 실험을 위하여 입수된 재래식 메주가루 및 고추장의 제법은 아래와 같다.

(1) 재래식 메주: 참쌀과 대두를 1 : 1의 비율로 각각 침지, 탈수하여 시루에 넣어 찌고 마쇄한 후 반타원의 도너츠 모양으로 하여 약 500 g 단위로 성형한 후 짚으로 싸서 1개월간 처마 밑에서 자연발효시키고 건조되면 분쇄하여 고추장용 메주가루로 사용한다. 본 실험에 이용된 메주가루는 1994년 음력 8월 하순에 제조된 메주가루로서 재건조하지 않고 그대로 사용하였다.

(2)재래식 고추장의 제조: 참쌀 1말을 침지, 탈수한 후 증자하여 엿기름 1되, 물 1말을 가하여 대략 40°C에

Table 1. The composition of commercial and traditional *kochujang*

	Commercial		Traditional	
	Before ¹⁾	After ²⁾	Before	After ³⁾
Aw	0.73	0.72	0.75	0.78
NaCl(%)	9.19	9.24	6.80	6.90
RS(% ⁴⁾)	14.6	19.0	13.7	20.9
pH	5.11	4.90	4.97	4.79

¹⁾Before fermentation

²⁾After fermentation for 21 days

³⁾After fermentation for 12 months

⁴⁾Reducing sugar

서 12시간 반응시킨다. 그후 압착하여 박을 제거하고 농축하여 조청액을 만든 후 증자참쌀 1말, 고추분 5되, 메주가루 2되를 넣어 혼합하고 염을 적당량 첨가하여 자연 숙성시킨다. 본 실험에서는 숙성초기 및 3개월, 7개월, 12개월에서 담금한 향아리 윗부분을 걷어내고 약 20 cm 깊이에서 시료를 취해 사용하였다. 개량식 및 재래식 고추장의 기본 성분은 Table 1과 같다.

효모의 분리 및 동정

효모수의 측정 및 분리 동정을 위한 배지로는 yeast, malt extract agar (Difco, YM)배지를 이용하였으며 NaCl (Shinyo Pure Chemicals Co., Ltd.) 7%와 세균 생육을 억제시키기 위하여 용성황산 kanamycin (동아제약)을 100 ppm 첨가하여 사용하였다. 각 시료에서 일정량을 취하여 균일하게 혼합하고 0.8% 멸균 식염수로 희석한 후 YM 평판배지에서 30°C, 3일간 배양하여 나타난 단일균총을 계수한 후 무작위로 30균주씩을 분리하였다. 분리된 균주는 3회 순수분리한 후 YM slant 배지에서 18시간 배양하여 Vitek 미생물 동정장치(bioMérieux Vitek, Ins., USA, Vitek senior system with NC II Computer)와 API kit (ID-32C model, La Balme-les-Grottes, France)를 이용하여 동정하였으며, Kreger-van Rij⁽¹³⁾의 방법을 병용하였다. 효모의 포자 및 mycelium은 각각 YM 배지와 potato dextrose agar (Difco, PDA) 배지에서 3주간 배양시킨 후 현미경으로 관찰하였다. 효모의 분포율 계산은 시료별로 분리된 30균주의 효모에 대하여 특정 효모가 동정된 빈도수를 백분율(%)로 환산하여 표시하였다.

생육도의 측정

Microbial growth monitoring system (Bactometer, bioMérieux Vitek, Ins., USA) 으로 생육을 측정하였다. 본 기기는 접종된 균이 증식되어 적정농도($10^6 \sim 10^7$ CFU) 이상으로 증가될 때(growth response) 발생하는 전기적 신호인 impedance, conductance, capacitance의 변화를 균 성장의 간접적 측정 수단⁽¹⁴⁾으로 이용하게 되는데, 접종 후 전기적 신호의 변화를 일으킬 때 까지 소요된 시간(retention time)을 측정하여 생육특성을 비교할 수 있도록 되어있다. 본 실험에서는 YM 평판 배지에서 활성화시킨 각 효모들을 멸균 생리식염수로 0.5 McFarland unit⁽¹⁵⁾의 농도로 현탁한 다음 glucose 와 NaCl이 첨가된 YM agar배지에 소정량 접종하여 48시간 동안 생육을 측정하여 비교하였다.

가스 발생량의 측정

가스 생성 유무는 Durham관을 사용하여 관찰하였다. 효모의 가스발생량을 측정하기 위하여 250 ml 삼각 플라스크에 NaCl 7%가 첨가된 YM 액체배지를 50 ml 분주하고 살균 후 초기 효모수가 10^4 CFU/ml 되도록 접종하고 30°C에서 72시간 정지 배양하면서 Chittick 장치⁽¹⁷⁾를 이용하여 생성된 가스의 양을 정량하였다. 균체량은 분광 광도계를 사용하여 640 nm에서 O. D.를 측정하였다.

일반성분의 분석

수분활성도는 Novasina (Switzerland) Aw 측정기로, 환원당은 Somogyi법으로, 염도는 Mohr법⁽¹⁸⁾으로 측정하였다.

결과 및 고찰

효모군의 변화

Table 2에서 보는 바와 같이 개량식 고추장의 제조에 사용되는 메주, 코지 중 소맥코지에서 효모가 6.6×10^6 CFU/g로 제일 많이 분포되었다. 개량식 고추장 발효숙성 초기의 효모수는 1.0×10^6 CFU/g으로 이후 15일까지 감소했으나 전 숙성기간에 걸쳐서는 $10^5 \sim 10^6$ CFU/g의 분포로 큰 변화가 없었다. 재래식 고추장의 메주에서는 박 등⁽¹⁶⁾의 재래식 메주에서 약 10^6 CFU/g의 효모가 분포한다는 보고와 달리 본 실험에서는 분리할 수 없었다. 이는 효모의 분포가 지역에 따라 다르다는 조 등⁽¹⁹⁾의 연구와는 유사한 결과로 생각

Table 2. Viable yeast cells in the processes of commercial and traditional *kochujang* (CFU/g)

	Samples	Viable cell count
Commercial	Meju ¹⁾	4.7×10^4
	Mold koji ²⁾	6.6×10^6
	Bacterial koji ³⁾	1.3×10^4
	Initial stage	1.0×10^6
	7 days ferm.	1.5×10^5
	15 days ferm.	5.7×10^4
	21 days ferm.	8.3×10^4
Traditional	Meju ⁴⁾	N.D. ⁵⁾
	Initial stage	1.2×10^4
	3 months ferm ⁵⁾	2.2×10^5
	7 months ferm.	2.5×10^5
	12 months ferm.	8.3×10^5

¹⁾Modified meju for commercial *kochujang*

²⁾Koji of cultivated *Aspergillus oryzae* on the wheat flour

³⁾Koji of cultivated *Bacillus licheniformis* on the soybean

⁴⁾Meju for traditional *kochujang*

⁵⁾Fermentation

⁶⁾Not detected

된다. 재래식 고추장에 관한 김 등⁽²⁰⁾의 순창지방 고추장의 효모변천 연구에서 숙성초기에 10 CFU/g이 분포되고 숙성 60일 후 10⁵~10⁶ CFU/g 사이에서 불규칙적인 분포를 보인다 했으나 본 실험의 경우 발효숙성 초기 1.2×10⁴ CFU/g 의 효모가 분포하고 전체 숙성 기간 동안에는 2.2~8.0×10⁶ CFU/g으로 나타나 이 등⁽⁴⁾의 메주 혼합 고추장에서 10⁴~10⁶ CFU/g 으로 나타난 결과와 유사한 경향이였다.

효모의 균종별 분포

개량식 및 재래식 고추장에서 각 실험 시료별로 무작위 분리한 총 330주의 효모들은 *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*속 등 6속으로 동정, 분류되었다. 그 중 출현 빈도수가 높은 효모로는 *C. rugosa*, *P. farinosa*, *S. cerevisiae*, *Z. rouxii* 등 4속 4종으로 나타났다.

개량식 고추장의 경우 소맥코지, 콩코지, 개량식 메주 및 발효숙성 기간별로 분리한 210주의 효모중 약 61%인 127주가 동정되었으며, 이들은 *C. glabrata*, *C. humicola*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides*, *Cr. uniguttulatus*, *P. farinosa*, *R. glutinis*, *S. cerevisiae*, *Z. rouxii* 등 6속 9종으로 분류되어 Lodder의 분류법에 따라 행한 이 등⁽⁴⁾의 결과와 상이한 균총 분포를 보였다(Table 3). 개량식 메주에서는 *C. rugosa*, *Z. rouxii*, *S. cerevisiae* 등 3종의 효모만 분리되어 소맥코지, 콩코지에 비해

효모의 종류가 적었으며, 특히 *Z. rouxii*, *S. cerevisiae*의 분리 빈도수가 높았다. 한편 이 등⁽²¹⁾은 간장 발효 시 유용효모인 *Zygosaccharomyces rouxii*를 비롯한 *Saccharomyces*속 효모가 소맥코지에 많이 분포한다 하여 유용효모의 기원을 밝힌 바가 있었으나 본 실험에서 제조된 고추장에서 다수 분포된 *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*의 주된 공급원은 소맥코지보다는 개량식 메주로 추측되었다.

소맥코지에서는 *C. guillimondii*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides* 등 *Candida*속 효모가 30%, *P. farinosa*가 36%의 분포 빈도를 나타냈다. 콩코지에 분포된 3종의 효모인 *C. humicola*, *Cr. uniguttulatus*, *R. glutinis* 중에서 *Cr. uniguttulatus*가 56%로 분포 빈도가 제일 높았다. 개량식 고추장의 콩코지에서만 분리되었던 *Cr. uniguttulatus*, *R. glutinis*는 개량식 메주나 고추장의 발효숙성 중에서는 분리되지 않았다. 이는 본 실험의 개량식 고추장 제조가 개량식 메주, 소맥코지 및 기타 원료의 혼합으로 이루어졌다는 점을 감안하면 NaCl 농도가 12%인 개량식 메주의 배양 환경에서 이미 사멸되었거나 생육이 억제되었기 때문으로 생각된다. 한편 개량식 메주에서 분리되지 않았던 *C. humicola*가 발효숙성 초기부터 불규칙적인 출현 빈도를 보인 점은 불분명하다.

개량식 고추장의 발효숙성 초기에는 *Candida*속 효모가 40%의 분포 빈도를 보였으나 발효숙성이 진행

Table 3. Distribution pattern of the identified yeasts from commercial and traditional kochujang (identified number of strains from isolates)

Identified yeasts	Commercial							Traditional			
	Meju ¹⁾	Mold koji ²⁾	Bacterial koji ³⁾	Initial stage	7 days ferm.	15 days ferm.	21 days ferm.	Initial stage	3 months	7 months ferm.	12 months ferm.
<i>C. glabrata</i>							1(3)	1(3)			2(7)
<i>C. guilliermondii</i>		1									
<i>C. humicola</i>			5(17)	5(17)		6(20)					
<i>C. rugosa</i>	4(13)	6(20)		3(10)	2(7)						
<i>C. zeylanoides</i>		2(7)		4(13)	1(3)		2(7)	1(3)			
<i>Cr. uniguttulatus</i>			17(56)								
<i>Cr. albidus</i>				1(3)	1(3)	2(7)					
<i>P. farinosa</i>		11(36)									3(10)
<i>R. glutinis</i>			4(13)								
<i>S. cerevisiae</i>	2(7)				1(3)		4(13)		1(3)	8(26)	4(13)
<i>Z. rouxii</i>	14(46)				4(13)	10(33)	4(13)	3(10)	16(53)	10(33)	8(26)
unidentified microorganism	10	10	4	17	21	12	9	25	13	12	13

(): isolation frequency(%), ferm.: fermentation, *C.*: *Candida*, *Cr.*: *Cryptococcus*, *P.*: *Pichia*, *R.*: *Rhodotorula*, *S.*: *Saccharomyces*, *Z.*: *Zygosaccharomyces*

¹⁾Modified meju for commercial kochujang

²⁾Koji of cultivated *Aspergillus oryzae* on the wheat flour

³⁾Koji of cultivated *Bacillus licheniformis* on the soybean

됨에 따라 점차 감소하여 21일 후에는 10% 수준에 도달하였다. 발효속성 7일 후에 *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*가 처음으로 나타났으며, 15일 후에는 *Z. rouxii*가 33%로 증가한 후 말기인 21일 후에는 감소하는 경향으로 나타났다.

재래식 고추장 발효속성 기간중 효모는 *C. glabrata*, *C. zeylanoides*, *P. farinosa*, *S. cerevisiae*, *Z. rouxii* 등 4속 5종의 효모가 분리되었다. *C. zeylanoides*는 발효속성 초기에서, *C. glabrata*는 초기와 말기에서만 분리되었으며 분리 빈도수는 낮았다. *P. farinosa*는 말기에서만 분리되었다. 한편 *S. cerevisiae*는 발효속성 3개월만에 처음으로 나타났으며 발효속성 7개월 후의 분리 빈도수가 26%로 증가하였으며 말기에는 감소하는 경향을 보였다. *Z. rouxii*는 발효속성 초기부터 나타나 3개월 후에는 가장 높은 분리 빈도수(53%)를 보였고 그 후 감소하는 경향이었다.

개량식과 재래식 고추장의 효모 분포를 비교한 결과, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*속 효모들이 주요 균종으로서 공통적으로 나타났으며, *Z. rouxii*가 먼저 최대 분포 빈도를 보인 후 *S. cerevisiae*의 분포 빈도가 증가하는 현상이 관찰되어 두 균주의 발효속성 과정 중의 고추장 환경에 대한 생리적 상이성에서 기인하는 것으로 추측된다. *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*의 분포경향이 발효속성 기간이 짧은 본 실험의 개량식 고추장과 재래식 고추장에서 유사하게 나타난 것은 개량식 고추장 제조시 *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*가 비교적 많이 분포된 개량식 배주를 사용한 점과 발효속성이 재래식 고추장에서는 기대할 수 없는 일정 온도에서 시행되었기 때문으로 해석된다. 한편 이 등⁶⁾은 담금한 고추장에서 *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Debaryomyces*속을 분리하여 이들 중 *Z. rouxii*는 전 숙성기간에 걸쳐 분포하고 있다고 한 점은 본 실험과 유사하였으나, 본 실험에서의 *Z. rouxii*가 개량식에서 최대 33%, 재래식에서 53%의 분포율에 비해 그의 분포가 총 50주중 4주에 불과하다는 점, *Saccharomyces cerevisiae*가 발효초기에만 분리되고, *Candida spp.*가 발견되지 않은 점 등은 상이하였다.

효모의 내염 및 내당성

고추장의 성분중 효모의 생육에 가장 큰 영향을 미친다고 생각되는 NaCl과 glucose에 대하여 분포비율이 높은 9종 효모를 선별한 후 생육특성을 비교하였다 (Table 4). 그 결과 NaCl과 glucose 무첨가 배지에서 *C. rugosa*는 약 8시간 후에, *Cr. uniguttulatus*, *S. cerev-*

Table 4. Retention time for growth response of the identified yeasts

Tested yeasts	Retention time (hr.)			
	YM	YM +NaCl	YM +Glu	YM +NaCl +Glu
<i>C. glabrata</i>	18.9	-	-	-
<i>C. humicola</i>	16.2	38.9	-	-
<i>C. rugosa</i>	8.8	31.0	-	-
<i>C. zeylanoides</i>	10.7	20.7	27.0	-
<i>Cr. uniguttulatus</i>	27.6	-	-	-
<i>P. farinosa</i>	15.3	24.3	24.3	-
<i>R. glutinis</i>	23.0	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	27.8	27.7	27.7	26.7
<i>Z. rouxii</i>	12.7	16.7	16.7	28.6

YM: yeast-malt ext. agar medium, Glu: glucose 25%
NaCl: NaCl 7%, -: non-growth for 48 hours

*isiae*는 가장 늦은 28시간 만에 growth response를 보였다. NaCl, glucose 단독 첨가 또는 동시 첨가 배지에서 *C. glabrata*, *Cr. uniguttulatus*, *R. glutinis* 등이 growth response를 보이지 않았는데, 이는 *Cr. uniguttulatus*, *R. glutinis*가 고추장의 발효속성과정에서 분리되지 않았던 이유로 추측된다. 이⁽²²⁾에 의하면 해양에서 분리한 *R. glutinis*는 20% 염농도에서 내성을 보인다 했으나 본 실험의 균주와는 그 기원이 다르며 이로 인한 생리 특성의 차이로 생각된다.

C. zeylanoides, *P. farinosa*는 NaCl, glucose가 각각 첨가될 때는 생육이 가능하나 동시 첨가될 때는 growth response를 보이지 않았으며, glucose 첨가시 *C. glabrata*, *C. humicola*, *C. rugosa*, *Cr. uniguttulatus*, *R. glutinis*는 48시간 동안 growth response가 나타나지 않아 실제 고추장의 당 농도에 가까운 25% glucose의 첨가에 의해서 생육이 상당히 억제될 것으로 생각된다.

효모의 생육억제에 대한 NaCl과 glucose의 효과는 첨가된 농도에 따라 다르겠으나 본 실험 조건하에서 NaCl과 glucose 동시 첨가시 생육현상을 보이는 효모는 *S. cerevisiae*와 *Z. rouxii* 뿐이었으며 *Candida*속의 경우 glucose에 의한 생육 억제 효과가 더 크게 나타나는 경향이었으며 *P. farinosa*, *Z. rouxii*는 NaCl과 glucose에 대해서는 동일한 정도의 억제 효과를 보였다. 특히 *S. cerevisiae*를 제외한 모든 균주는 NaCl 첨가시 무첨가 배지에 비해 생육이 되지 않았거나, growth response가 늦게 나타나는 경향을 보여 염에 대한 생육 억제 효과를 볼 수 있었으나 *S. cerevisiae*의 경우는 NaCl과 glucose의 첨가에 상관 없이 거의 유사한 시간에 growth response를 보여 이들에 의한 억제 효과가 나타나지 않았다. *Z. rouxii*의 경우는 NaCl과 glucose

각각을 첨가할 때 무첨가시보다 growth response가 다소 늦게 나타났다. 이는 이 등⁽²³⁾이 *Z. rouxii*가 염에 대한 내성이 있으며 염 첨가시 오히려 생육이 잘 되었다는 보고와 상이했으나, 최 등⁽²⁴⁾의 염농도 4%까지는 균체생육에는 영향을 주지 않았으나 그 이상의 농도에서는 균체량은 감소되었다는 보고와는 유사한 결과로 분석된다. NaCl과 glucose을 동시 첨가할 때는 *S. cerevisiae*의 growth response와 유사한 경향을 나타내었다. 본 실험이 고추장과 동일한 배양 환경에서 수행된 것은 아니라 하더라도 NaCl 과 glucose를 혼용한 배지에서 *S. cerevisiae*와 *Z. rouxii* 등 2종의 효모만이 타 효모에 비해 생육현상이 돋보인 점은 이들 효모가 고추장의 발효숙성 과정에서 분리된 빈도수가 높았다는 것과 무관하지는 않을 것으로 생각되었다.

효모의 가스 생성능

고추장에서 분리한 효모의 가스 생성능 시험 결과

Table 5. Gas production of the identified yeasts in YM broth containing 7% NaCl

Cultivation time (hr.)	No-NaCl		7% NaCl	
	36hrs	72hrs	36hrs	72hrs
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-
<i>C. humicola</i>	-	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	-	-	-	-
<i>C. zeylanoides</i>	-	-	-	-
<i>Cr. uniguttulatus</i>	-	-	-	-
<i>P. farinosa</i>	-	-	-	-
<i>R. glutinis</i>	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	+	+++	+	++
<i>Z. rouxii</i>	+	+++	+	+++

-: negative, +: positive, ++: moderate, +++:vigorous

는 Table 5와 같고 발효초기에 많이 분포하며 점차 감소 경향을 보이는 *Candida* spp.의 효모들은 무염 또는 7% NaCl농도의 YM배지에서 가스를 생성하지 못하였으며 *Cr. uniguttulatus*, *P. farinosa*, *R. glutinis*의 경우도 같은 경향을 나타내었다. 그러나, 발효중기와 말기에 다수 분포한 *Z. rouxii* 및 *S. cerevisiae*의 경우는 가스 생성능을 가지고 있음을 알 수 있다. *Z. rouxii*는 7% NaCl농도 하에서 가스 생성능이 강한 반면 *S. cerevisiae*는 NaCl의 첨가에 의하여 가스 생성이 느리게 진행되었다. 이들의 가스생성능은 균체의 성장에 따라 가스의 생성량이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 1). 7% NaCl이 첨가된 조건하에서의 단위시간당 가스 생산량은 *Z. rouxii* 및 *S. cerevisiae* 각각 0.024 ml/ml/hr, 0.013 ml/ml/hr로 *Z. rouxii*의 가스 생성량이 약 2배 더 많으며 이는 균주의 성질 또는 환경 조건에 대한 생육 속도의 차이에서 기인하는 것으로 생각된다. 이러한 결과로 볼 때, 고추장의 가스는 주로 *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*에 의하여 발생하는 것으로 생각되며 그 외의 동정된 균주에 의한 가스 생성은 비교적 미미할 것으로 생각된다.

요 약

개량식 고추장으로부터 동정한 효모들은 *Candida glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. humicola*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides*, *Cryptococcus uniguttulatus*, *Pichia farinosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*로 분류되었다.

재래식 고추장에서 동정한 효모는 *C. glabrata*, *P. farinosa*, *S. cerevisiae*, *Z. rouxii*로 분류되었으며 분포율이 높아 발효숙성에 깊이 관여할 것으로 생각되는 효모는 재래식과 개량식고추장에서 *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* 등 4속이었다.

개량식 고추장의 발효숙성 중기와 후기에 나타난 *Z. rouxii*와 *S. cerevisiae*는 고추장용 메주에서 분리되어 그 기원이 되는 것으로 생각되며, 특히 *Z. rouxii*는 고추장용 메주에서 분포된 효모중 46%를 차지하였다. 발효숙성중 분포는 *Z. rouxii*가 15일 후에 33%, *S. cerevisiae*가 21일 후에 13%로 각각 가장 높은 분포율을 보였다. *Candida*속의 경우 개량식 메주, 소맥코지, 콩코지 모두에서 분리되었으나 고추장의 발효숙성이 진행됨에 따라 40%에서 10%로 점차 감소하는 경향을 보였다. 재래식 고추장에서는 발효숙성 3개월 후에 *Z. rouxii*가 53%, 7개월 후에 *S. cerevisiae*가 26%로 가장 높은 분포율을 보였다. NaCl 과 glucose를 혼용한 배

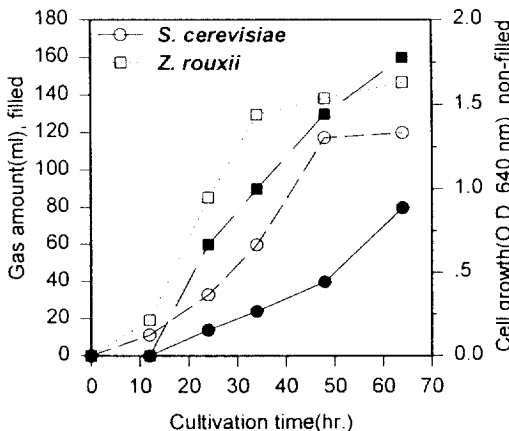


Fig. 1. Gas production of *S. cerevisiae* and *Z. rouxii* in YM broth containing 7% NaCl

지에서 *S. cerevisiae*와 *Z. rouxii* 등 2종의 효모가 다른 효모에 비해 생육이 현저히 나타난 것은 이들이 고추장의 발효숙성 과정에서 분리된 빈도수가 높았다는 것과 무관하지 않을 것으로 사료된다. 특히 *S. cerevisiae*와 *Z. rouxii* 두 균주는 무염 또는 7% NaCl이 첨가된 배지에서 가장 먼저 가스를 생성하였으며 7% NaCl이 첨가된 조건하에서의 가스생산량은 *Z. rouxii* 및 *S. cerevisiae* 각각에서 0.024 ml/ml/hr, 0.013 ml/ml/hr로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처의 선도기술 개발 사업과제 (G-7 Project, 1994-1995)로 수행된 연구 내용의 일부입니다.

문헌

1. 한국식품연감. 사조사, 서울, p.547 (1995)
2. 조한옥, 박승애, 김종근: 전통고추장의 품질개량에 있어서 재래식 및 개량식 고추장 메주의 효과. 한국 식품 과학회지, **13**, 319 (1981)
3. 김영수, 오훈일: 재래식과 공장산 고추장의 향기성분. 한국식품과학회지, **25**, 494 (1993)
4. 이계호, 이묘숙, 박성오: 재래식 고추장의 숙성에 미치는 미생물 및 그 효소에 관한 연구. 한국농화학회지, **19**, 82 (1976)
5. 이택수: 효모첨가에 의한 고추장의 양조에 관한 연구. 한국농화학회지, **22**, 65 (1979)
6. 이택수, 이석건, 김상순, 곽순충: 고추장의 발효 미생물에 관한 연구. 미생물 학회지, **8**, 151 (1970)
7. 김영수: 재래식 고추장 제조중 이화학적 특성 변화 및 향기성분에 관한 연구. 세종대학교 박사학위 논문 (1993)
8. 김지봉: 속양 고추장의 제조법. 한국특허공보, **125**, 43 (1966)
9. 진희생: 고추장 숙성 제조법. 한국특허공보, **107**, 3 (1964)

10. 정원철, 이택수, 남성희: 고추장 숙성과정중 유리당의 변화. 한국농화학회지, **29**, 1 (1986)
11. 김관, 김영자, 최준연: 식품의 영양성분에 관한 연구(제 1보). 고추장 숙성기간중의 성분변화에 관하여. 육군기술보고, **5**, 11 (1966)
12. Deak, T. and Beuchat, L. R.: Comparison of the SIM, API 20C and ID 32C systems for identification of yeasts isolated from fruit juices concentrates and beverages. J. Food Prot. **56**, 585 (1993)
13. Kreger-van Rij, N.J.W.: The Yeasts, A Taxonomic Study, 2nd Ed., Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam (1987)
14. 차상관, 이해숙, 김영배, 고영희: 컴퓨터 시스템에 의한 효모균주의 동정. 한국산업미생물학회지, **16**, 443 (1988)
15. Warren, N.G. and Shadomy, H.J.: Yeast of medical importance. In *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed., Am. Soc. Microbiology, Washington D.C., p.617 (1991)
16. Fleischer, M., Shapton, N. and Cooper, P.J.: Estimation of yeast numbers in fruit mix for yogurt. Comparison of impedance and its components as measurements using the Bactometers 32 and M120B. J. Soc. Dairy Tech., **37**, 63 (1984)
17. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th Ed., Washington D.C. (1984)
18. 박종면, 오훈일: 재래식 고추장 메주 숙성중 미생물과 효소력의 변화. 한국식품과학회지, **27**, 56 (1995)
19. 조덕현, 이우진: 한국 재래식간장의 발효미생물에 관한 연구. 한국농화학회지, **13**, 35 (1970)
20. 김영수, 권동진, 구민선, 오훈일, 강통삼: 재래식 고추장 숙성중 미생물과 효소력의 변화. 한국식품과학회지, **25**, 502 (1993)
21. 이택수, 이석건: 간장발효에 관여하는 효모에 관한 연구(1). 한국농화학회지, **13**, 97 (1970)
22. 이홍금: 호염성 및 내염성 미생물. 미생물과 산업, **21**, 287 (1995)
23. 이택수, 이석건: 간장발효에 관여하는 효모에 관한 연구. 한국농화학회지, **13**, 193 (1970)
24. 최수복, 권오성, 남희섭, 신재익, 양찬철: *Saccharomyces rouxii*에 의한 아미노산 간장의 알코올 발효. 한국식품과학회지, **24**, 330 (1992)

(1995년 9월 29일 접수)