

항산화제 및 보존료가 장류의 미생물 성장에 미치는 영향

장학길* · 권경순**

경원대학교 식품생물공학과*, 서해대학 식품영양과**
(1998년 9월 18일 접수)

Effects of Antioxidants and Preservatives on Growth of Selected Microorganisms in Soy Sauce and Paste

Hak-Gil Chang* and Kyoung Soohn Kwon**

Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University*, Department of Food and Nutrition, Sohae College**
(Received September 18, 1998)

Abstract

Butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT), butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB) and sodium benzoate(SB) were evaluated for their effects on the growth of three *Aspergillus* strains and two yeast strains(*Torulopsis etchellsii* and *Candida diddensii*). The growth of *Torulopsis etchellsii* and *Candida diddensii* was completely inhibited by 100 ppm of BHA or POBB. As little as 50 ppm of BHA and POBB significantly inhibited the cell growth. The growth of *Torulopsis etchellsii* and *Candida diddensii* was not inhibited by 100 ppm of BHT or SB. BHT and SB did not inhibit the growth and sporulation of three *Aspergillus* strains, whereas, in the presence of BHA and POBB, the growth of all three strains was affected. The higher the amounts of antioxidants were applied, the greater the inhibitory effects were observed.

I. 서론

메주로부터 간장을 만드는 과정은 가수분해 과정과 숙성과정으로 구분할 수 있는데 종래의 방법은 이들 두 과정을 동시에 실시한 것이어서 원료로부터 제품에 이르는 발효공정상의 진행이 대단히 완만하였고 또한 비능률적이었다. 특히 장류는 미생물의 작용에 의하여 성분의 변화가 일어나 유용한 영양성분과 기호성분이 함유된 조미식품으로 숙성되므로 장류의 품질은 관여하는 미생물에 의하여 크게 좌우된다.

우리 나라의 전통식 장류는 일반적으로 야생의 미생물을 그대로 배양시키기 때문에 미생물상이 일정하지 않다. 이른바 메주가 잘 뒀다고 하는 것은 미생물의 종류나 분포정도를 과학적으로 완전히 규명하지는 못하였지만 바람직한 미생물이 잘 번식하였음을 의미하는 것이다. 따라서 메주 중의 미생물에 대해서는 많은 연구자에 의하여 보고되었다¹⁻⁷⁾.

간장은 담근 후 오랜 발효기간을 거치는 동안 원료 중의 단백질과 전분질은 메주에 미생물이 생육하면서 분비한 효소들에 의하여 가수분해된다. 전통 간장의 담금 중 또는 제품 중에 존재하는 미생물상에 대하여 정⁸⁾ 외에 여러 연구자^{9,10)}에 의하여 보고된 바 있다. 특히 이 등¹¹⁾은 전통간장의 과학적 근거를 뒷받침하려는 목적으로 전통 메주로 간장을 담그고 담금 기간 중의 미생물군의 변화를 관찰하였다.

전통 장류의 경우는 된장과 간장을 함께 만드는 것이기 때문에 서로의 품질에 상관관계를 가지고 있다. 즉 발효가 잘 된 메주로 담그게 되면 간장은 품질이 우수하나 된장은 그렇지 못하다. 전통된장의 향기성분에 관한 일련의 연구결과를 보면^{12,13)}, 전통 된장에서 분리한 세 가지 미생물인 *Bacillus* sp., *Mucor* sp.와 *Penicillium* sp.를 배양하여 관능검사와 향기성분을 분석한 결과 *Bacillus* sp.의 배양액만이 전통 된장의 향기와 비슷하였다.

장류는 소금농도가 매우 높은 저장성 조미료이다. 따라서 실온에서도 상당한 기간 품질의 저하 없이 저장할 수 있으며 어떤 점에서는 오랫동안 숙성된 것일 수록 여러 가지 맛이 조화되어 더 바람직하게 생각되기도 한다. 그러나 저장 중에 내염성 미생물이 발육하게 되어 장류 보존상의 문제로 지적되고 있다. 아울러 장류는 곰팡이를 이용하는 발효식품인 바 곰팡이 중에는 유독 성분인 곰팡이 독(mycotoxin)을 생성하는 것이 알려짐에 따라 한국인의 장류섭취와 곰팡이 독증(mycotoxicosis)간의 문제가 최근 많은 과학자의 관심을 끌기에 이르렀다.

제품의 품질을 저하시키는 내염성 효모를 분리하여 동정한 결과¹⁴⁾ *Hansenula anomala*, *Zygosaccharomyces japonicus* 및 *Zygosaccharomyces* sp. 임이 밝혀졌으며, 이들 효모의 발육억제제로 30°C에서 비타민류 0.005% 이상, *p*-hydroxybenzoic acid류 0.007% 이상, sorbic acid 0.05% 등을 사용하는 것이 효과적이었고 이들을 단용하는 것보다는 병용하는 것이 좋았다고 밝혔다.

우리 나라에서는 간장 보존제로 *p*-hydroxybenzoic acid의 butylester(POBB)를 보통 사용하고 있는데, POBB는 산막효모의 침해를 받아 효력이 저하되는 일이 때때로 있다¹⁵⁾.

국내 시판간장에 사용하고 있는 보존제 현황을 파악하고자 전국 228개 장류제조업소의 약 1/4에 해당되는 55개 제조업소의 제품을 대상으로 사상균 및 효모류의 발육을 저지하는 POBB, 비타민 K₃, sorbic acid, 안식향산에 축합인산염을 첨가하여 간장에 대한 산막효모의 발육저지력을 검토한바 POBB가 0.005%, 비타민 K₃ 0.003%, POBB 0.002%+비타민 K₃ 0.015%를 첨가하므로써 억제효과를 얻었으며, 시중 제품 중 2개 제품은 POBB와 안식향산을 병용하고 그 밖에는 모두 POBB만을 사용하였다고 보고한바 있다¹⁶⁾. 또한 capsaicin의 간장 방매효과는 POBB보다 양호한 편이고, 소금은 capsaicin의 효모 증식저지 효과를 높여주며 pH는 낮을수록 그 효과가 커진다고 밝혔다¹⁷⁾.

한편 Ling과 Fung¹⁸⁾은 salami에 독소생산 *Aspergillus* 3균주와 비독소생산 *Aspergillus* 3균주를 접종하여 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) 및 propyl gallate(PG)를 단용 또는 병용하였을 때 항균효과를 검토한바 이들 균의 생육, 발아 및 독소생산이 억제됨을 밝혔다. Davidson¹⁹⁾도 BHA, TBHQ, potassium sorbate을 *Staphylococcus aureus*와 *Salmonella typhimurium*이 배양된 soy broth에서의 항균력을 검토한바 sorbate-BHA와 sorbate-TBHQ는 상당한 효과가 있었으나 TBHQ를 단용으로 사용할 때는 *S. typhimurium*의 생육에는 효과

가 적거나 없었다고 보고했다.

그밖에도 Eubanks와 Beuchat²⁰⁾는 *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여, Ahmad와 Branen²¹⁾은 *Penicillium*, *Aspergillus* 및 *Geotrichum*에 대하여 BHA, TBHQ 및 propyl gallate등의 항산화제의 항균력에 대하여 검토한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 POBB, BHA, butylated hydroxytoluene(BHT) 및 sodium sorbate가 장류의 변패에 미치는 영향을 보고자 일련의 기초실험을 한 바 그 결과를 보고한다.

II. 연구내용 및 방법

변패된 된장에서 곰팡이 3균주(*Aspergillus* A-I, A-II, A-III)와 효모 2균주(*Candida diddensii*, *Torulopsis etchellsii*)를 분리하여 실험균주로 사용하였다.

효모를 분리하기 위하여 사용된 배지로써는 yeast extract(BBL) 0.3%, malt extract(Difco) 0.3%, peptone(BBL) 0.5%, glucose(Difco) 1%, bacto-agar 2%의 배지(YMPGA)에 NaCl 2%를 첨가하여 사용하였으며, 균을 분리하기 위해 quadrant streaking 기법으로 접종하여 25°C에서 2-3일간 배양하여 형성된 독립콜로니를 같은 평판배지에서 순수분리를 3회 반복한 후 형태학적으로 효모를 분리하였다.

분리된 효모는 같은 사면 배지에 접종하여 보관하고 다음 실험에 사용하였다. 동정은 Lodder의 The Yeast방법²²⁾에 준하였다. 곰팡이 분리배지로써는 효모 분리용 배지를 사용하였으며 균 분리방법도 같은 방법을 사용하였다. 동정은 Booth의 방법²³⁾에 준하였다.

분리균주에 대하여 생장 억제효과를 검토하기 위하여 butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT), butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB) 및 sodium benzoate(SB)를 50, 100ppm을 각각 첨가하였다. 첨가물의 stock solution조제는 butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene 및 POBB를 95% ethanol에 녹여 1% 용액을 만들고 sodium benzoate(SB)는 증류수에 녹여 1% 용액을 만든 후 가압살균된 membrane filter(0.2µm pore size)로 여과 제균한 다음 갈색시약병에 넣어 4°C에 보관하면서 사용하였다.

증식용 배지는 효모는 효모분리용 액체배지(yeast extract-malt extract-peptone-glucose broth, YMPGB) 100ml씩을 500ml 삼각 flask에 분주한 후 BHA, BHT, POBB 및 SB의 stock solution을 함량에 따라 50ppm, 100ppm이 되도록 첨가하였다. 대조구의 알코올함량은 첨가물의 첨가구와 같이 하였다. 곰팡이는 건열 살균

한 petri dish에 가압살균한 YMPGB배지를 부어 사용하였으며 첨가물의 첨가 및 대조구는 효모용 배지조제와 같다.

효모의 성장 측정은 미리 준비해둔 각 배지에 증균 배양액 1ml씩을 접종하여 25°C에서 진탕(150rpm)된 shaker incubator에서 24-48hr 동안 배양하면서 흡광도를 측정하였다. 즉, 배양배지에 균주가 접종되어 진탕 배양기에서 배양되는 0시간째부터 4시간 간격으로 일정량을 취해서 spectrophotometer(Model 340, Sequoia-Turner Co.)로 파장 620nm에서 흡광도를 측정하였다. 곰팡이의 성장측정은 준비해둔 YMPGA의 중앙에 곰팡이 1백금선량을 접종하여 30°C에 배양하면서 성장한 곰팡이의 직경을 1일 간격으로 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

전통메주에 관여한 미생물에 관한 기록은 산림경제²⁴⁾에서 “누런 곰팡이가 덮일 때까지 메주를 띄우는 것”으로 기록되어 있고 규합총서²⁵⁾에서는 좋은 메주는 빛이 푸르고 짙고 검은 것이 좋다고 되어 있으나 확실한 미생물의 종류는 기록되어 있지 않다. 한국 전통 간장발효에 관여하는 발효 미생물에 대하여 현대적으로 연구된 것은 김과 허²⁶⁾가 재래식 메주에서 *Mucor*속, *Rhizopus*속, *Penicillium*속, 곰팡이 및 *Saccharomyces*속의 효모를 처음으로 분리한 것이다.

일반적으로 장류는 소금함량이 12%이상 되므로 잡균의 번식은 크게 걱정할 필요가 없는 일종의 저장성 식품이다. 그러나 장류는 장기 저장하는 동안 여러 가지 미생물의 침해를 받아서 변패를 일으키며 그 결과 고유의 향미가 손상되고 품질이 저하된다. 이중에서도

현저한 악취등의 변패현상은 효모에 의한 것으로 판명되어 효모의 생육억제 문제는 장류보존의 중요한 과제로 되고 있다. 따라서 분리된 효모를 Lodder의 방법에 따라 배양, 형태학적인 분류에 의하여 *Torulopsis etchellsii*와 *Candida diddensii*로 분류하였는데 호염성이었으므로 쉽게 동정할 수가 있었다.

POBB를 첨가하여 25°C에서 일정시간 배양하며 *Torulopsis etchellsii*의 생육저해 효과를 측정한 결과를 보면 Table 1과 같다. 즉 POBB를 50 및 100ppm을 각각 첨가했을 때 *Torulopsis etchellsii*의 배양시간에 따른 생육을 보면 50ppm 첨가시는 *Torulopsis etchellsii*의 생육이 대조구에 비해 대단히 완만하게 증가하였으나, 100ppm 첨가시는 생장이 완전히 억제되었다.

송 등²⁷⁾은 포장된장의 경우 가스발생을 방지하기 위하여 사용된 보존제 중 POBB는 0.01%가 가장 유효하다고 밝힌 바 있으나 *Torulopsis etchellsii*의 경우에는 더 낮은 농도에서 생육이 억제됨을 알 수 있다.

*Torulopsis etchellsii*의 BHA에 의한 성장억제효과는 Table 2와 같다. BHA 50ppm 처리구는 POBB 50ppm 처리구에 비하여 *Torulopsis etchellsii*의 억제효과가 적었으나 BHA 100ppm 처리구는 POBB 100ppm 처리구와 동일한 효과를 보였다. Chang과 Branan²⁸⁾의 phenolic antioxidants의 antimicrobial activity에 관한 연구에서 *Salmonella typhimurium*이 400ppm의 BHA를 첨가함으로써 생육이 완전히 억제되었다고 보고했다.

*Torulopsis etchellsii*의 생육에 대한 BHT의 효과는 Table 3과 같다. 즉 BHT는 *Torulopsis etchellsii*의 생육에 저해인자로 작용하지 않음을 알 수 있는데, 특히 생육 후기에는 대조구와 큰 차이가 없었다. 이와 관련하여 Fung 등²⁹⁾의 연구에서도 BHA는 *Aspergillus flavus*의 성장과 aflatoxin의 생성을 억제하였으나 BHT는 효과

<Table 1> Effect of butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB) on the growth of *Torulopsis etchellsii*

Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	POBB, ppm	
		50	100
0	0.099	0.099	0.099
4	0.132	0.112	0.105
8	0.260	0.139	0.094
12	0.860	0.233	0.106
16	2.200	0.398	0.100
20	4.960	0.656	0.088
24	7.680	1.140	0.094
28	9.408	1.728	0.093
32	9.312	1.728	0.096

<Table 2> Effect of butylated hydroxyanisole(BHA) on the growth of *Torulopsis etchellsii*

Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	BHA, ppm	
		50	100
0	0.099	0.099	0.099
4	0.132	0.119	0.102
8	0.260	0.170	0.102
12	0.860	0.416	0.100
16	2.200	0.852	0.099
20	4.960	1.904	0.086
24	7.680	3.824	0.087
28	9.408	5.856	0.101
32	9.312	5.824	0.087

<Table 3> Effect of butylated hydroxytoluene(BHT) on the growth of *Torulopsis etchellsii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	BHA, ppm	
		50	100
0	0.088	0.315	0.554
4	0.120	0.270	0.432
8	0.261	0.454	0.610
12	0.772	1.020	0.880
16	1.904	1.600	1.448
20	3.504	2.248	2.152
24	5.488	3.440	3.296
28	7.584	5.296	5.184
32	8.384	6.848	6.178
36	8.608	7.616	7.552

<Table 4> Effect of sodium benzoate on the growth of *Torulopsis etchellsii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	Sodium benzoate, ppm	
		50	100
0	0.088	0.088	0.088
4	0.120	0.108	0.108
8	0.261	0.186	0.182
12	0.772	0.410	0.390
16	1.904	0.820	0.752
20	3.504	1.220	1.280
24	5.488	2.536	2.464
28	7.584	4.560	4.048
30	8.384	5.248	4.960
32	8.608	6.208	5.920

<Table 5> Effect of butyl-p-hydroxybenzoate(POBB) on the growth of *Candida diddensii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	POBB, ppm	
		50	100
0	0.163	0.163	0.163
4	0.250	0.151	0.150
8	0.510	0.160	0.150
12	1.120	0.172	0.139
16	2.424	0.206	0.135
20	5.408	0.235	0.134
24	12.480	0.285	0.131
28	16.192	0.348	0.130
32	15.872	0.478	0.127

<Table 6> Effect of butylated hydroxyanisole(BHA) on the growth of *Candida diddensii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	BHA, ppm	
		50	100
0	0.185	0.170	0.170
4	0.245	0.211	0.160
8	0.526	0.281	0.155
12	1.368	0.448	0.145
16	3.360	0.748	0.148
20	5.132	1.024	0.148
24	10.480	1.348	0.142
28	12.576	1.912	0.130
32	13.056	2.824	0.132

가 인정되지 않았다고 보고한바 있으며, Beuchat와 Jones³⁰⁾의 연구결과에서도 BHA는 100ppm에서 균총의 형성이 억제되었으나 BHT는 1000ppm에서도 효과가 없었다고 보고했다.

Table 4는 sodium benzoate에 의한 *Torulopsis etchellsii*의 생육상태를 조사한 것으로 다소 생육이 억제되기는 하였으나 *Torulopsis etchellsii*의 생육에 큰 영향을 미치는 못하였다.

한편 POBB의 첨가에 따른 *Candida diddensii*의 생육상태를 조사한 것을 보면 Table 5에서와 같이 POBB 100ppm 첨가구에서는 배양시간의 증가에 관계없이 일정한 생육 억제능력을 보였으나 POBB 50ppm 첨가구에서는 배양시간이 경과함에 따라 생육억제 능력이 감소되었다.

주 등³¹⁾의 POBB에 의한 보존실험의 내용을 보면,

POBB성분인 butyl paraben을 60ppm 첨가 시험구에서 산막효모의 생육이 저해되었고, 문 등³²⁾은 POBB 50ppm에서 산막효모의 생육저해 효과가 있었다고 보고하였다. 이와 같이 POBB에 의한 간장방부 실험결과가 다소 차이가 나는 이유는 간장의 방부력은 간장 중에 함유된 염분, 총질소, 에탄올, 유기산 등의 성분이 크게 영향을 미치므로 간장의 성분에 따라 차이가 난다고 사료된다.

BHA의 첨가가 *Candida diddensii*의 생육에 미치는 영향을 보면 Table 6과 같다. 즉 BHA를 50ppm을 첨가했을 때 *Candida diddensii*의 생육은 현저하게 억제되었으나 배양시간이 경과함에 따라 BHA의 효과가 감소됨을 볼 수 있었으나 BHA 100ppm 첨가시는 *Candida diddensii*가 배양시간에 관계없이 전혀 생육하지 못하였다. 이와 같은 결과는 POBB와 BHA에 의한 *Torulopsis*

<Table 7> Effect of butylated hydroxytoluene(BHT) on the growth of *Candida diddensii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	BHT, ppm	
		50	100
0	0.191	0.334	0.578
4	0.245	0.277	0.331
8	0.526	0.606	0.522
12	1.216	1.096	1.044
16	3.520	2.328	2.256
20	3.968	5.184	4.320
24	13.504	7.680	5.952
28	13.632	10.400	7.360
32	14.400	12.288	9.696

<Table 8> Effect of sodium benzoate on the growth of *Candida diddensii* Unit : OD₆₂₀

Incubation time, hr	Control	Sodium benzoate, ppm	
		50	100
0	0.191	0.191	0.191
4	0.245	0.235	0.235
8	0.526	0.480	0.452
12	1.216	1.096	1.068
16	3.520	2.712	2.344
20	7.936	6.208	4.288
24	13.504	8.800	6.304
28	13.632	10.112	7.392
32	14.400	11.264	7.360

<Table 9> Effect of butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB), butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT) and sodium benzoate(SB) on the growth of selected *Aspergillus A-I* on YMPG agar Unit : cm

Incubation time day	Control	POBB ppm		BHA ppm		BHT ppm		SB ppm	
		50	100	50	100	50	100	50	100
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.20	0	0	0	0	0.15	0.10	0.15	0.10
3	0.40	0	0	0	0	0.32	0.25	0.30	0.20
4	0.60	0	0	0	0	0.50	0.42	0.40	0.30
5	0.75	0	0	0	0	0.69	0.60	0.55	0.40
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1.05	0	0	0	0	1.00	0.90	0.80	0.60
8	1.20	0	0	0	0	1.15	1.07	1.00	0.80
9	1.35	0	0	0	0	1.30	1.25	1.15	0.90
10	1.50	0	0	0	0	1.45	1.40	1.30	1.10
11	1.65	0	0	0.05	0	1.60	1.55	1.46	1.25
12	1.80	0	0	0.15	0	1.75	1.65	1.60	1.40
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	2.07	0	0	0.30	0	2.00	1.80	1.87	1.64
15	2.20	0	0	0.40	0	2.14	1.90	2.00	1.78

Values indicate the mean of 6 samples. A 100 mm diameter petri dish was used in this study. The diameter of the zone is expressed in cm.

*etchelsii*의 생육억제효과와 동일한 경향을 보였다. 따라서 앞으로 간장의 보존성을 증가시키기 위하여 BHA의 첨가에 대하여 검토할 필요가 있다고 사료된다.

Eubanks와 Beuchat²⁰⁾는 *Saccharomyces cerevisiae*에 생장에 대한 BHA, TBHQ 및 propyl gallate의 영향을 검토한바, BHA를 com meal agar에 50-150ppm 첨가시 24°C에서 25일 동안 *Pseudomycelium*이 검출되지 않았으며, Robach 등³²⁾은 *Vibrio parahaemolyticus*의 생육을, Klindworth 등³³⁾은 *Clostridium perfringens*의 생육을

BHA가 억제한다고 보고한 바 있다.

한편 BHT와 sodium benzoate에 의한 *Candida diddensii*의 생육억제 효과를 보면 Table 7과 8에서 보는 바와 같이 50ppm 첨가시에는 대조구와 비교해서 유의적인 차이가 인정되지 않았으며, 100ppm 첨가시 유의적인 차이는 있었으나 BHA와 같이 절대적인 효과를 기대할 수 없었다.

우리 나라의 전통 메주는 처음부터 주로 세균에 의하여 발효되는 것이며 곰팡이나 효모는 2차적으로 혼

<Table 10> Effect of butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB), butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT) and sodium benzoate(SB) on the growth of selected *Aspergillus A-II* on YMPG agar

Unit : cm

Incubation time day	Control	POBB ppm		BHA ppm		BHT ppm		SB ppm	
		50	100	50	100	50	100	50	100
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0.15	0	0	0	0	0.20	0.10	0.10	0
4	0.35	0	0	0.10	0	0.50	0.40	0.20	0.15
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1.30	0	0	0.25	0	1.50	1.30	0.60	0.70
7	1.60	0	0	0.35	0	1.80	1.50	0.90	1.10
8	2.20	0	0	0.45	0	2.40	2.00	1.10	1.55

Values indicate the mean of 6 samples. A 100 mm diameter petri dish was used in this study. The diameter of the zone is expressed in cm.

<Table 11> Effect of butyl-*p*-hydroxybenzoate(POBB), butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT) and sodium benzoate(SB) on the growth of selected *Aspergillus A-III* on YMPG agar

Unit : cm

Incubation time day	Control	POBB ppm		BHA ppm		BHT ppm		SB ppm	
		50	100	50	100	50	100	50	100
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.30	0	0	0.20	0	0.30	0.30	0.30	0.30
3	0.70	0	0	0.30	0	0.70	0.65	0.70	0.70
4	0.90	0	0	0.45	0	1.00	1.00	0.90	0.90
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1.50	0.10	0	0.80	0	1.70	1.70	1.50	1.35
7	2.00	0.15	0	0.85	0	2.10	2.10	1.80	1.60
8	2.30	0.25	0	1.00	0	2.50	2.50	2.10	1.90

Values indicate the mean of 6 samples. A 100 mm diameter petri dish was used in this study. The diameter of the zone is expressed in cm.

입되어 약간씩 번식된다. 즉 메주의 pH가 알칼리성으로 되는 것으로 보아 pH 7.0 이하의 산성측에 적합한 곰팡이와 효모는 번식이 억제되고 자연히 세균만이 왕성하게 번식되어 발효 숙성된다고 보고 있다.

변패된 된장에서 일차적으로 선발된 곰팡이 10균주를 대상으로 동정을 실시하였다. Booth등의 방법에 준하여 colony의 성장형태와 색깔의 변화등을 배지에 따라 관찰하고, 슬라이드 배양하여 균사와 포자의 형태를 관찰하였다. 그 중 aflatoxin을 생산하는 *Aspergillus* spp. 3종을 선발하여 이후의 실험균주로 사용하였다. *Aspergillus* 3종에 대한 POBB, BHA, BHT 및 SB의 침

가효과를 보면 Table 9, 10 및 11에서 보는 바와 같다. *Aspergillus A-I*에 대한 POBB 50ppm 및 100ppm 처리구에서는 15일 동안 전연 자라지 못하였으나, BHA 50ppm 처리구에서는 11일부터 조금씩 자라는 것을 관찰할 수 있었고, BHT와 SB 처리구에서는 초기에는 대조구에 비해서 다소 억제 효과가 있었으나 곧 대조구과 같은 수준으로 생육하는 것으로 보아 BHT와 SB의 처리는 효과가 없음을 알 수 있다.

*Aspergillus A-II*과 *A-III*에서도 유사한 현상을 보였는데, *Aspergillus A-II*가 *Aspergillus A-I*와 다른 점은 BHA 50ppm 처리구에서 좀 더 일찍 생육 억제 효과를

상실한 점이고, 특히 *Aspergillus* A-III는 생육 억제 효과가 배양 2일만에 상실한 점이다. BHT는 *Aspergillus*의 생육 억제 기능이 전혀 없었고, SB는 100ppm 첨가구에서 다소 억제 기능이 있었으나 배양시간이 경과함에 따라서 *Aspergillus*의 생육이 급격히 증가되었다. Lin과 Fung¹⁸⁾의 연구결과를 보면, 3개의 toxigenic strains *Aspergillus* spp.(NRRL 2999, NRRL 4123, NRRL 5917)와 세 개의 nontoxigenic strains에 대한 항산화제의 효과를 검토한 결과를 보면 BHT와 PG는 이들 균주에 대하여 생장이나 독소생성을 억제하지 못하였다.

IV. 요약

변패된장에서 효모 2 균주(*Candida diddensii*, *Torulopsis etchellsii*)와 곰팡이 3 균주(*Aspergillus*속 : A-I, A-II, A-III)를 분리하여 보존제인 butyl-*p*-hydroxybenzate(POBB)와 sodium benzoate(SB) 및 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA)와 butylated hydroxytoluene(BHT)의 각 농도에 따른 미생물의 성장 억제효과를 검토한 바 그 결과는 다음과 같다.

보존제인 POBB의 농도가 증가할수록 성장이 점차적으로 억제되어 POBB 50ppm에서 *C. diddensii*는 성장속도가 대단히 느려졌으나 *T. etchellsii*는 완만히 느려졌으며 POBB 100 ppm에서는 2균주 모두 성장이 완전히 억제되었다. 항산화제인 BHA 역시 농도가 증가할수록 성장이 점차적으로 억제되어 BHA 50ppm에서 2균주 모두 POBB 50ppm 보다는 억제효과가 적었다. BHA 100ppm에서는 모두 성장이 완전히 억제되었다. 보존제인 SB와 항산화제인 BHT에서는 농도가 증가할수록 성장이 약간 느려졌으나 대조구와 거의 차이가 없었다. 보존제인 POBB 50ppm에서 *Aspergillus* A-I와 A-II는 성장이 완전히 억제되었으나 *Aspergillus* A-III만이 4일째부터 성장이 시작되었고 POBB 100ppm에서는 3균주 모두 성장이 억제되었다. 항산화제인 BHA 역시 농도가 증가할수록 성장이 점차적으로 억제되어 BHA 50ppm에서 *Aspergillus* A-I 균주는 10일째부터 *Aspergillus* A-II 균주는 3일째부터 *Aspergillus* A-III 균주는 1주일 째부터, 완만히 성장했으며 BHA 100ppm에서는 POBB 100ppm에서와 마찬가지로 3 균주 모두 완전히 억제되었다. 보존제인 SB와 항산화제인 BHT에서는 3 균주 모두 대조구와 별로 차이가 없었다.

■ 참고문헌

1) 金順燦, 許東俊. 在來式 調味料 개량연구, 국방과학

연구소 연구보고서, No. 156, 9277, 1954.

- 2) 韓容錫, 朴秉得. 간장제조에 관한 연구(제 1보), 재래메주 및 곡자 중의 *Aspergillus oryzae*에 대하여, 공업연구소 연구보고, 7, 51, 1957.
- 3) 韓容錫, 朴秉得. 간장제조에 관한 연구(제 2보), 재래메주 및 곡자 중의 *Aspergillus oryzae*에 대하여, 공업연구소 연구보고, 8, 75, 1958.
- 4) 韓容錫, 朴秉得. 간장제조에 관한 연구(제 3보), 在來곡자 중의 *Rhizopus*속 및 *Mucor*속에 대하여, 공업연구소 연구보고, 9, 75, 1958.
- 5) 韓容錫, 朴秉得, 全奭植. 간장제조에 관한 연구(제 4보), 在來곡자 중의 *Mucor*속 및 *Rhizopus*속에 대하여, 공업연구소 연구보고, 11(2), 52, 1958.
- 6) 韓容錫, 朴秉得. 간장제조에 관한 연구(제 5보), 재래식메주중의 *Rhizopus*속 및 *Mucor*속에 대하여, 공업연구소 연구보고, 11, 141, 1962.
- 7) 印鉉周, 李培成. 한국 *Rhizopus*속의 분류학적 연구(제 1보), 메주에서 분리된 *Rhizopus*속에 대하여, 한국미생물학회지, 6, 100, 1968.
- 8) 鄭允秀. 간장의 微生物學的 研究 - 在來式 간장에서 細菌의 分離 및 同定, 한국미생물학회지, 1, 30, 1963.
- 9) 조덕현, 이우진. 한국 재래식 간장의 발효미생물에 관한 연구(제 1보), 한국 재래식 메주의 발효미생물군에 대하여, 한국농화학회지, 13, 35, 1970.
- 10) 박계인, 김기주. 한국 간장제조에 관한 연구, 중앙공업연구소 연구보고, 20, 89, 1970.
- 11) 李宇鎮, 曹德鉉. 한국 재래식간장의 발효미생물에 관한 연구(제 2보), 한국 재래식 간장의 담균 중에 있어서의 발효미생물군 소재에 관한 연구, 한국농화학회지, 14, 137, 1971.
- 12) 송제영, 안철우, 김종규. 한국 재래식 된장발효 중 관여미생물이 생성하는 향기성분, 산업미생물학회지, 12, 147, 1984.
- 13) 장중규, 김종규. 한국 재래식 된장 향기성분의 가스 크로마토그래피 패턴과 관능검사의 통계적 해석, 산업미생물학회지, 12, 153, 1984.
- 14) 宋錫勳, 金鍾協, 李啓瑚, 鄭允秀, 張建型. 간장의 防黴에 관한 연구(제 1보), 간장의 産膿酵母 分離에 對하여, 육군기술연구소 보고서, 2, 32, 1963.
- 15) 李澤守. 간장방부제에 관한 연구, parahydroxy benzoic acid의 butyl ester의 분해효소에 대하여, 충남대학교 석사학위 논문, 1968.
- 16) 文範洙, 金福成, 李英敏, 朴允敏. 장류의 防黴劑에 관한 연구, 국립보건연구원보, 6, 251, 1959.
- 17) 沈吉淳. Capsaicin의 간장방매효과에 관한 연구, 한

- 국약학회지, 8, 69, 1964.
- 18) Lin, C. C. S. and Fung, D. Y. C.. Effect of BHA, BHT, TBHQ and PG on growth and toxigenesis of selected *Aspergilli*. J. Food Sci., 48, 576, 1983.
 - 19) Davidson, P. M., Brekke, C. J. and Branen, A. L.. Antimicrobial activity of butylated hydroxyanisole, tertiary butylhydroquinone, and potassium sorbate in combination, J. Food Sci., 46, 314, 1981.
 - 20) Eubanks, V. L. and Beuchat, L. R.. Effect of antioxidants on growth, sporulation and Pseudomycelium production by *Saccharomyces cerevisiae*, J. Food Sci., 47, 1717, 1982.
 - 21) Ahmad, S. and Branen, A. L. Inhibition of mold growth by butylated hydroxyanisole, J. Food Sci., 46, 1059, 1981.
 - 22) Lodder, J. The Yeasts, North-Holland Publ. Co., 1974.
 - 23) Booth, C. Methods in microbiology, Academic press, 1971.
 - 24) 洪萬選. 山林經. cf. 민족문화추진회역서 한역판 山林經濟 vol I, p.236, 1715.
 - 25) 憑虛閣李氏. 閩閩叢書, 同治己巳孟春新刊(1869, 고종 6년) 친화실장관의 번역본 李慶善校註(1974) 한역 규합총서 pp.19-21 신구문화사간(서울), 1869.
 - 26) 金順燦, 許東俊. 在來式 調味料 개량연구, 국방과학연구소 연구보고서, No. 56, 9277, 1954.
 - 27) 송석훈, 박근창, 김항목, 송정희. 된장보존에 관한 연구, 육군기술연구소 보고서, 7, 24, 1968.
 - 28) Chang, H. C. and Branen, A. L.. Antimicrobial effects of butylated hydroxyanisole(BHA), J. Food Sci., 40, 349, 1975.
 - 29) Fung, D. Y. C., Taylor, S., and Kahan, J. Effects of butylated hydroxyanisole(BHA) and butylated hydroxytoluene(BHT) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*, J. Food Safety, 1, 39, 1977.
 - 30) Beuchet, L. R. and Jones, W. K.. Effect of food preservatives and antioxidants on colony formation by heated conidia of *Aspergillus flavus*, Acta Alimentaria, 7, 373, 1978.
 - 31) 주영하, 유태중, 유주현. 제품간장에서 분리한 산막 효모에 관한 연구, 한국식품과학회지, 7, 61, 1975.
 - 32) 문범수, 김복성, 이영민, 박운민. 醬油의 防黴劑에 관한 研究. 국립보건연구원보, 251, 1969.
 - 33) Klindworth, K. J., Davidson, P. M., Brekke, C. J., and Branen, A. L. Inhibition of *Clostridium perfringens* by butylated hydroxyanisole, J. Food Sci., 44, 564, 1979.