

고추장의 醱酵 微生物에 關한 研究(第 1 報)

熟成過程中에 生育하는 酵母의 分布

李 澤 守 · \*李 錫 健 · \*\*金 尙 淳 · \*\*\*吉田 忠

(샘표醬油釀造場 · \*忠南大學校 · \*\*淑明女子大學校 · \*\*\*日本北海道大學)

Microbiological Studies of Red Pepper  
Paste Fermentation (Part I)

—The distribution of the yeasts during  
the red pepper paste fermentation periods—

LEE. Taik Soo \*Suk Kun LEE. \*\*Sang Soon KIM. \*\*\*Tadashi YOSHIDA

( Saimpyo Soy Sauce Brewery. \*Chung Nam University.  
\*\*Suk Myung Women University \*\*\*Hokkaido University (Japan) )

ABSTRACT

This experiment was carried out to investigate the yeasts for the brewing of red pepper paste during the fermentation periods. The yeasts in the red pepper paste were isolated and identified, and they were classified by coloring with the treatment of TTC(2, 3, 5, triphenyltetrazolium chloride) agar and counted in process of time. The results obtained were as follows:

a) The number of the yeasts in the rice Koji in order to make the red pepper paste was increased in process of incubation time: about  $116 \times 10^3$  per gram of Koji incubated for 3 days,  $159 \times 10^3$  4 days and  $225 \times 10^3$  5 days in the case of ordinary yeasts, and 0 3 days,  $6 \times 10^3$  4 days and  $12 \times 10^3$  5 days in the case of osmophilic yeasts.

b) The number of ordinary and osmophilic yeasts in 1 gram of red pepper paste showed a tendency to be increased from the mashing to the mature stages and to decrease in the aging stages:  $95 \times 10^3$  immediately after mashing,  $151 \times 10^3$  1 month after,  $520 \times 10^3$  3 months after,  $1012 \times 10^3$  5 months after and  $131 \times 10^3$  1 year after mashing in the case of ordinary yeasts, and  $8 \times 10^3$  after mashing,  $34 \times 10^3$  1 month after,  $72 \times 10^3$  3 months after,  $429 \times 10^3$  5 months after and  $49 \times 10^3$  1 year after mashing in the case of osmophilic yeasts.

c) 50 Strains of yeasts were isolated from the red pepper paste optionally in process of fermentation period, and they were identified as 5 genera and 19 species: 1 strain of *Saccharomyces cerevisiae* group II, 2 strains of *Saccharomyces oviformis*, 3 strains of *Saccharomyces steineri*, 1 strain of *Saccharomyces exiguus*, 1 strain of *Saccharom-*

*veronae*, 2 strains of *Saccharomyces delbrueckii*, 1 strain of *Saccharomyces chevalieri*, 1 strain of *Saccharomyces heterogenicus*, 2 strains of *Saccharomyces bisporus*, 1 strain of *Saccharomyces uvarum*, 4 strains of *Saccharomyces rouxii*, 2 strains of *Saccharomyces mellis*, 5 strains of *Endomycopsis fibuliger*, 3 strains of *Hansenula subpelliculosa*, 1 strain of *Hansenula suaveolens*, 2 strains of *Pichia membranaefaciens*, 2 strains of *Pichia polymorpha*, 9 strains of *Debaryomyces nicotianae*, 4 strains of *Debaryomyces klockeri*, and 3 strains of non-identification.

d) Distribution of yeasts according to the fermentation period was as follows:

i) *Saccharomyces cerevisiae* group II, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces rouxii*, *Endomycopsis fibuliger*, *Saccharomyces veronae*, *Saccharomyces mellis*, *Hansenula subpelliculosa*, *Pichia membranaefaciens*, *Debaryomyces klockeri*, and *Debaryomyces nicotianae* were found in the early stages of fermentation.

ii) *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces mellis*, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Pichia polymorpha*, *Pichia membranaefaciens*, *Debaryomyces klockeri*, *Debaryomyces nicotianae*, *Hansenula suaveolens*, and *Saccharomyces chevalieri* appeared in the mature stages.

iii) *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Debaryomyces nicotianae*, and *Debaryomyces klockeri* were distributed in the aging stages.

e) TTC white yeasts were strongly presented as about 50 per cent in the red pepper paste koji, and TTC white yeasts were found in abundance in the early stages, while TTC pink yeasts in the mature and aging stages in case of red pepper paste. And TTC red pink yeasts in case of red pepper paste and koji.

f) The yeasts belonging to *Saccharomyces cerevisiae* group II, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces bisporus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Pichia membranaefaciens* and *Debaryomyces klockeri* were classified as TTC pink yeasts, *Endomycopsis fibuliger*, *Hansenula suaveolens*, *Pichia polymorpha* and *Debaryomyces nicotianae* were white, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces veronae*, *Hansenula subpelliculosa*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomyces mellis* were red, and *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces heterogenicus* and *Saccharomyces oviformis* were pink.

g) Generally the growth of the yeasts isolated were rapid on the media containing none or 10 per cent of sodium chloride but almost restrained on the medium containing 15% or more.

## 緒 論

고추장은 韓國 固有의 조미료로서 古來로부터 각 가정에서 在來의 方法으로 製造되어 왔으며 近來에는 改良法으로서 쌀 또는 보리쌀에 *Asp. oryzae*를 培養하여

Koji를 만들고 이것에 蒸熟한 콩과 食鹽, 고추분 등을 混合하여 熟成시키는 方法이 실행되고 있는 것이다. 즉 在來의 方法은 메주중에 번식한 各種 細菌, 또는 곰팡류의 amylase와 protease의 酵素作用을 利用하여 고추장을 製造하는 것이며 改良의 方法

은 *Asp. oryzae*가 분비하는 amylase와 protease를 이용하는 것으로서 어느 방법이냐 醱酵熟成 期間 동안 酵素의 作用으로 맛을 좋게 하고 있으나 酵母의 活動에 對해서는 고려치 않고 있으므로 풍미가 우량한 고추장을 기대하기 어려운 것이다. 고추장 醱酵熟成의 合理的인 方法으로는 強力한 amylase와 protease가 함께 作用하여 맛을 좋게 함은 물론 醱酵期間 동안 우량한 酵母가 生育하면서 糖類로부터 alcohol를 生成하고 이 alcohol은 고추장중의 各種 有機酸들과 作用하여 ester류의 香氣를 生成하므로서 풍미가 우수한 제품을 얻을 수 있는 것이다. 그런데 고추장 醱酵의 重要な 酵母로서는 糖으로부터 香氣의 生成面에서 우수해야함은 물론 食鹽에 對한 耐性和 capsaicin에 對한 耐性を 갖어야만 하므로 이러한 특수성을 갖는 우량酵母를 醱酵 tank中에 自然棲息에만 依存할수 없으며 인위적으로 培養하여 담금시에 첨가할 필요가 있게된다. 그러나 예로부터 조상이 물려준 우리나라 固有의 조미료인 고추장에 관한 科學的인 研究를 아직껏 살펴보기 어려운바이며 다만 鄭(1963) 등이 전라남북도 및 경기도 일대의 在來式 고추장 10종을 채취하여 일반성분에 對하여 검토한 報告가 있을뿐 고추장의 제조과정중 微生物에 關한 研究는 거의 찾아 볼수가 없다. 著者等은 *Asp. oryzae*로 製麴하여 담금한 改良式고추장의 醱酵熟成過程중에 生育하는 酵母의 種類 및 그 分布상태를 규명하고 우량 酵母를 分離培養하여 고추장중에 첨가 하므로서 醱酵熟成을 安全하게 효율적으로 管理하고 同時에 고추장의 品質을 저해시키는 유해효모의 生態를 調査하여 가급적 이들의 生育을 억제시킬 目的의 제일단계로서 고추장중에 生育하는 酵母의 動態에 關하여 研究 하였으므로 그 結果를 報告하는 바이다.

끝으로 本實驗을 하는 동안 始終 格려와 후원을 하여주신 선포醬油釀造場 박규희 사장님과 김정규, 박승재 상무님, 日本野田醬

油株式會社 中央研究所長 茂木正利博士님께 심심한 사의를 표한다.

## 材料 및 方法

### (1) 試料麴

精選된 백미를 세척하여 20°C의 물에 15시간 침지하고 물을 뺀다음 증자솥에 넣어 無壓으로 steam이 오르면로부터 40분간 증자한후 35°C까지 자연냉각시키고 原料重量에 對하여 約 1% 程度의 種麴(선포醬油釀造場 研究室에서 순수분리한 *Asp. oryzae*를 大麥에 培養한것)을 골고루 混合하여 국상에 담아 선포醬油釀造場 창동공장 국실에서 常法에 따라 製麴한 5일국을 시료로 했다.

### (2) 시료고추장

上記의 方法으로 製麴한 쌀 koji 14kg을 길이 1m 직경 60cm의 항아리에 넣고 증숙한 콩 3.5kg, 고추가루 3.0kg, 食鹽 3.6kg, 種水 1.5l를 넣어 均一하게 混合한다음 담금온도 30°C로하여 5개월간 自然醱酵시킨 고추장과 저장중인(實驗用) 1년된 고추장을 시료로 하였다.

### (3) 酵母菌數의 測定

製麴中の 試料는 국상자의 上部 下部 中층에서 醱酵過程中的 고추장 試料는 용기의 上, 中, 下, 左, 右 층에서 各各 一定量씩 골고루 채취하여 均一히 混合하고 멸균한 mortar로 잘마쇄한후 各各 그 1g을 정평한후 멸균수로 100, 1000, 5,000, 10,000배 희석한액을 下記의 A培地와 B培地の 平板上에 0.1ml 적하하고 乾熱殺菌한 glass spreader로 도말한후 25°C에서 3日間 培養後 나타난 colony를 계수하고 또 TTC (2, 3, 5 Triphenyl tetrazolium chloride) agar를 증충하여 30°C에서 3시간 정치후 나타난 colony의 色에 依하여 white, red, red pink, pink 등으로 類別했다.

※ A培地: glucose 2.5%, yeast ext. 0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5%, raw soy sauce 10%, NaCl 0.5%, Na-propionate 0.2%, agar

2.0 %, pH 5.0.

B 培地 : A 培地和 同一하나 NaCl 濃度만 10 % 로 하였다.

#### (4) 酵母의 分離

담금직후(이하 strain D 로 表示), 담금 1 개월(이하 F), 숙성 3 개월(이하 G), 숙성 5 개월(이하 M), 후숙 1 년(이하 N)된 고추장을 試料로하여 上記方法으로 나타난 agar plate 上에 나타난 colony 數가 10 個程度인 shale 를 수개 取하여 TTC agar 를 증중하기전에 각각 10 株씩 酵母를 分離하고 平均 희석 및 Lindner 의 점적배양법에 依하여 순수분리 하였다.

#### (5) 分離酵母의 同定

分離된 酵母들을 一般法에 依하여 實驗하고 Lodder(1967)의 方法에 依하여 同定하였다.

#### (6) 試料 고추장의 一般成分

고추장의 一般分析은 基準味噌分析法(1959)에 準하였으며 성숙도의 測定은 Formol 法으로 유리아미노산을 定量하여 mg(%)로 表示 했다.

### 結果 및 考察

#### 1. 試料麴中の 酵母菌數

製麴中에 生育하는 酵母들을 A 培地和 B 培地에 依하여 經시적으로 一般酵母와 耐鹽性酵母로 大別하여 계측하고 TTC 呈色에

依하여 類別한 結果는 table 1 과 같다.

시료제국 1g 中の 一般酵母數는 3 일국에 約 12 萬, 4 일국에 約 16 萬, 5 일국에 約 23 萬개 였고 耐鹽性酵母菌數는 3 일국에 0, 4 일국에 6 千, 5 일국에 1 萬 2 千개로 나타났다. 즉 一般酵母나 耐鹽性酵母 모두가 제국일수의 經過에 따라 증가하는 현상을 나타냈다. 제국중의 酵母菌數에 對하여는 宮崎(1964), 今井(1966), 青木(1964), 芳賀(1969), 伊藤(1966), 秋山(1963) 등에 依하여 간장 및 청주국에 對한 많은 報告가 있으며 以上の 報告들에 比하여 고추장 담금술 위한 쌀 麴中에 生育하는 酵母數는 相當히 적었다 著者等(李, 李 1970)이 간장 麴中の 酵母에 關한 研究에서 考察한바와같이 酵母無添加의 種麴을 使用하였기 때문에 製麴中 酵母菌數가 적게 나타나는 것으로 생각된다. 著者等이 기보한바있는 간장국중의 酵母數를 製麴日數別로 계측한 結果에 比較하면 백미를 원료로한 고추장국중의 효모수가 다소 많았다. 또한 TTC 呈色反應에 있어서는 TTC white 酵母가 50 % 内外로서 가장 많이 存在하였고 red pink 酵母가 가장 적었다.

#### 2. 試料 고추장중의 酵母菌數

담금후 生育하는 酵母들을 經시적으로 계수한 結果는 table 2 와 같다.

分離培地로서 A 培地를 使用하여 試料고추장 1g 中에 存在하는 一般酵母의 數를 계

Table 1. The yeast flora in one gram of rice koji. (unit  $10^3$ )

Item Sample Koji TTC color	Ordinary yeasts			Osmophilic yeasts		
	3-Days Koji	4-Days Koji	5-Days Koji	3-Days Koji	4-Days Koji	5-Days Koji
white	48 (41.4)	65 (40.9)	124 (55.1)	—	4 (66.7)	7 (58.3)
red	23 (19.9)	39 (24.5)	33 (14.7)	—	—	2 (16.7)
red pink	13 (11.2)	14 (8.8)	20 (8.9)	—	—	—
pink	32 (27.5)	41 (27.0)	48 (21.3)	—	2 (33.3)	3 (25.0)
T total	116	159	225	—	6	12

※ ( ) : %

Table 2.

The yeast flora in one gram of red pepper paste.

(unit  $10^3$ )

Item F.P. TTC color	Ordinary yeasts					Osmophilic yeasts				
	start	1-M	3-M	5-M	1-Y	start	1-M	3-M	5-M	1-Y
white	39 (41.2)	54 (35.7)	215 (41.4)	365 (30.3)	41 (31.5)	3 (31.5)	12 (35.2)	23 (38.8)	96 (22.3)	16 (32.6)
red	27 (27.0)	36 (23.8)	84 (16.1)	236 (29.4)	21 (16.2)	—	7 (20.6)	10 (13.9)	115 (26.8)	8 (16.3)
red pink	11 (11.5)	20 (13.2)	34 (6.6)	54 (5.4)	13 (10)	—	—	15 (20.9)	32 (7.4)	6 (12.2)
pink	25 (26.3)	41 (27.3)	187 (35.9)	351 (34.9)	55 (42.3)	5 (62.5)	15 (27.3)	19 (26.4)	186 (43.5)	19 (38.9)
Total	95	151	520	1012	131	8	34	72	429	49

※ F.P. : fermentation period, M : month, Y : year ( ) : %

측한 結果 담금직 후의 것에 9萬 5千, 1개월 후에 約 15萬, 3개월 후에 52萬, 5개월 후 約 100萬, 1년된 고추장에서는 約 13萬개의 酵母가 存在하였고 分離培地로서 B培地를 使用하여 고추장 1g 중에 存在하는 耐鹽性 酵母의 數를 計측한 結果 담금직 후의 것에 8千, 1개월 후 3萬 4千, 3개월 후 7萬 2千, 5개월 후 約 43萬, 1년된 고추장에서 約 5萬개의 酵母가 存在 하였다. 一般酵母나 耐鹽性酵母 모두가 담금 후 5개월까지는 熟成期間의 經過에 依해 점차 증가 하였으나 1년된 고추장에서는 一般酵母나 耐鹽性酵母가 현저히 감소되었다. 또한 TTC 呈色反應에 依한 類別에 있어서 一般酵母의 경우 초기에는 TTC white 酵母가 35.7~41.2%로서 우세하였으나 熟成期以後에는 TTC pink 酵母가 34.9~42.3%로서 우세한 편이었고 耐鹽性酵母의 경우에는 全過程을 통하여 TTC pink 酵母가 우세하였다. 그리고 red pink 酵母는 어느 경우에서나 가장 적게 나타났다. 한편 海老(1961) 등은 된장 熟成中の 유해균의 저지를 目的으로 강화종국(보통종국에 *Saccharomyces rouxii*와 *Streptococcus*를 첨가한국)으로 製麴하여 담금한 된장과 보통 된장의 比較釀造試驗에 있어서 耐鹽性酵母의 數는 강화종국을 使用한 경우 초기의 된장 1g 중에  $1.2 \times 10^3$ , 3개월 후에  $5.4 \times 10^4$ , 5개월 후에  $5.2 \times 10^4$ , 1년된 된장에  $1.7 \times 10^6$ 개의 酵母가 存在하

였고 무침가구의 경우 초기의 것에  $1.2 \times 10^3$ , 3개월 후에  $5.3 \times 10^3$ , 5개월 후에  $5.2 \times 10^3$ , 1년된 된장에  $4.6 \times 10^4$ 개로서 강화종국을 使用한 된장에서 酵母의 數가 많았다고 報告하였고 本間(1959) 등은 天然과 溫釀의 된장 釀造比較試驗에서 天然釀造의 경우 酵母數는 초기에  $10^3 \sim 10^4$ , 2개월 후에  $10^3 \sim 10^4$ 이상 4개월 후에  $10^4 \sim 10^5$ 개였고 溫釀時는  $10^3$ 개로서 天然時에 酵母數가 많았다고 報告하였으며 松山(1967) 등은 *Saccharomyces rouxii* No. 7을 利用한 된장 釀造試驗에 있어서 된장의 食鹽濃度 10%인 경우 1g 중의 酵母數는  $1.2 \times 10^4$ , 12.5% 인 경우  $4.8 \times 10^4$ , 15% 인 경우  $2.1 \times 10^4$ 개로서 食鹽濃度가 높을수록 酵母수가 감소되었으며 食鹽濃度 16% 인 경우 초기의 된장 1g 중에 存在하는 酵母數는  $4 \times 10^3$ , 7일 후  $10^2$ , 6주 후  $2 \times 10^2$ , 7주 經過된 된장에  $10^5$ 개였다고 報告하였다. 望月(1967) 등은 보통시판 된장의 경우  $2 \times 10^3$ , 酵母添加된장의 경우  $2.2 \times 10^5$ 개의 酵母가 存在하였으나 다관식 연속가열처리후 보통시판 된장에서는  $2.9 \times 10^4$ , 효모첨가구에는  $1.3 \times 10^5$ 개였다고 報告하였고 松下(1968) 등은 淡色辛口성 된장에  $1.5 \times 10^6 \sim 4.5 \times 10^6$ , 赤辛口된장에  $1.4 \times 10^4 \sim 4.0 \times 10^4$ 개로서 淡口된장에서 酵母數가 많다고 하였으며 된장 熟成中の 酵母數의 動態에 對하여서는 담금시  $1.3 \times 10^5 \sim 1.7 \times 10^5$ , 30일 후에  $4.5 \times 10^6 \sim 5.4 \times 10^6$ , 70



Table 3. The chemical composition of red pepper paste.

Composition \ F.P.	2)	40	60	80	100	120	140	150	1-Y
Moisture (%)	48.52	50.13	54.62	52.33	55.14	56.51	55.40	55.21	62.42
Protein (%)	5.35	5.89	6.21	6.98	7.21	6.95	6.40	6.54	6.79
NaCl (%)	10.21	11.05	11.03	11.98	12.01	12.24	12.38	12.45	12.58
A. N (mg %)	85	112	146	182	205	248	256	276	341
Sugar (%)	12.1	15.5	17.6	19.2	18.7	20.1	21.2	20.5	22.8
PH	5.9	5.5	5.6	5.2	4.9	5.1	5.4	4.7	5.0
Temperature(°C)	23	31	23	32	30	31	34	34	23

일 후에  $2.5 \times 10^4 \sim 9.1 \times 10^4$ , 100 일 된 된장에  $7.3 \times 10^3 \sim 9.0 \times 10^4$  개가 존재하였다 하였으며 加藤(1935) 등은 *Saccharomyces rouxii* M-1 을添加한 된장에는 耐鹽性酵母가 당  $1.0 \times 10^5 \sim 9.0 \times 10^5$  존재하였으나 無添加 된장에는 耐鹽性酵母가 出現되지 않았다고 報告하였다. 以上の 實驗結果들과 比較할 때 著者 등이 實驗한 고추장중의 酵母數는 된장중의 酵母數에 비하여 적은 편이었다. 이러한 事實은 간장젓의 경우와 마찬가지로 日本에서는 一般的으로 酵母를 첨가한 種麴으로 製麴하여 된장을 담금하기 때문이며 또한 고추장중에 生育하는 酵母들은 食鹽에 依하여 억제를 받는 동시에 capsaicin 에 依한 억제로 因하여 된장의 경우보다도 酵母의 生育은 많은 制限을 받게 된다고 생각된다. 한편 試料로 使用한 고추장의 成分조성을 醱酵期間동안 經時적으로 조사한 결과는 table 3 과 같다.

3. 分離酵母의 菌學的性質 및 同定. 담금 후경시적으로 고추장중에서 分離한 50 株의 酵母에 對하여 生理적 및 형태적 特性을 實驗한 결과는 table 4 및 5 와 같다.

以上の 實驗結果를 Ldder(1967) 등의 分類同定法에 依하여 同定한 結果 第1 group 은 *Saccharomyces erevisiae* group II 형, 第2 group 은 *Saccharomyces oviformis*, 第3 group 은 *Saccharomyces steineri*, 第4 group 은 *Saccharomyces exiguus*, 第5 group 은 *Saccharomyces veronae*, 第6 group 은 *Saccharomyces delbrueckii*, 第7 group 은

*Saccharomyces chevalieri*, 第8 group 은 *Saccharomyces heterogenicus*, 第9 group 은 *Saccharomyces bisporus*, 第10 group 은 *Saccharomyces uvarum*, 第11 group 은 *Saccharomyces rouxii*, 第12 group 은 *Saccharomyces mellis* 형으로 同定하였고 第13 group 은 *Endomycopsis fibuliger*, 第14 group 은 *Hansenula subpelliculosa*, 第15 group 은 *Hansenula suaveolens*, 第16 group 은 *Pichia membranaefaciens*, 第17 group 은 *Pichia polymorpha*, 第18 group 은 *Debaromyces nicotianae*, 第19 group 은 *Debaromyces kloekeri* 형으로 各各 同定되었으며 第20 group 은 分열증식을 하지 않고 출아에 依하여 증식을 하며 spore 가 round 또는 hat shape 형으로 고유균사를 形成하는 점으로 *Endomycetaceae* 과에 편입할수 있으나 glucose, galactose, sucrose, maltose 의 醱酵能이 있는 점으로보아 Lodder 의 分類 manual 에 미기록 菌株로 생각된다.

#### 4. 고추장중의 酵母分布

고추장 熟成過程中에 生育하는 酵母들을 經時적으로 10 株씩 分離하여 同定한 結果, *Saccharomyces cerevisiae* group II 형 1 주, *Saccharomyces oviformis* 2 주, *Saccharomyces steineri* 3 주, *Saccharomyces exiguus* 1 주, *Saccharomyces veronae* 1 주, *Saccharomyces belbrueckii* 2 주, *Saccharomyces chevalieri* 1 주, *Saccharomyces heterogenicus* 1 주, *Saccharomyces bisporus* 2 주, *Saccharomyces uvarum* 1 주, *Saccharom-*

Table 6. The distribution of yeasts of isolated 50 strains in the red pepper paste by the fermentation periods.

Start		1-M		3-M		5-M		1-Y	
Species	No.	Species	No.	Species	No.	Species	No.	Species	No.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group II	1	<i>Saccharomyces veronae</i>	1	<i>Saccharomyces dalbrueckii</i>	1	<i>Saccharomyces steineri</i>	2	<i>Saccharomyces bisporus</i>	1
<i>Saccharomyces oviformis</i>	1	<i>Saccharomyces mellis</i>	1	<i>Saccharomyces rouxii</i>	1	<i>Saccharomyces heterogentius</i>	1	<i>Saccharomyces rouxii</i>	2
<i>Saccharomyces steineri</i>	1	<i>Endomycopsis fibuliger</i>	3	<i>Saccharomyces mellis</i>	1	<i>Hansenula saueolens</i>	1	<i>Debaryomyces hansenii</i>	4
<i>Saccharomyces exiguus</i>	1	<i>Hansenula subpelliculosa</i>	2	<i>Pichia polymorpha</i>	2	<i>Debaryomyces hansenii</i>	4	<i>Debaryomyces hansenii</i>	1
<i>Saccharomyces rouxii</i>	1	<i>Pichia membranaefaciens</i>	1	<i>Debaryomyces hansenii</i>	1	<i>Debaryomyces hansenii</i>	1	<i>Saccharomyces dalbrueckii</i>	1
<i>Endomycopsis fibuliger</i>	2	non identification	1	<i>Pichia membranaefaciens</i>	1				
<i>Hansenula subpelliculosa</i>	1			<i>Saccharomyces bisporus</i>	1				
<i>Debaryomyces hansenii</i>	1			non identification	1				

\* No: numbers

Table 4. The microbiological characteristics of

Group	Strains	Cells	Spore	Cultures	
				Sli-de	Malt ext.
1	D1	round(3.0~4.5) $\mu$ oval(1.5~3.0) $\times$ (2.3~6.5) $\mu$	round 1-4		R. Sd
2	D2, G5	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~7.5) $\mu$	round 1-4	PM	R. Sd. Is
3	D3, M3, M5	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~10.0) $\mu$	round 1-2	PM	R. Sd
4	D4	oval(1.5~1.8) $\times$ (3.0~5.8) $\mu$	round 1-2		Sd
5	F6	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~4.5) $\mu$	round 1-4	PM	Sd
6	G6, M6	round or oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~4.5) $\mu$	round 1		R. Sd
7	M1	oval(1.8~3.0) $\times$ (3.0~5.3) $\mu$	round 1-4	PM	R. Sd. Is
8	M9	round or oval(1.8~3.0) $\times$ (3.0~7.0) $\mu$	round 1-4	PM	R. Sd
9	N3, G7	oval(1.5~2.3) $\times$ (2.3~5.5) $\mu$	round 1-2		R. Sd
10	D8	oval(1.8~3.0) $\times$ (3.0~8.0) $\mu$	round 1-4	PM	R. Sd. Is
11	N5, G10, D9, N10	round(1.5~4.5) $\mu$ oval(1.5~3.0) $\times$ (2.3~7.0) $\mu$	round 1-4		R. Sd
12	F9, G8	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~5.5) $\mu$	round 1-2		R. Sd
13	F1, D5, D6, F5, F7	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~5.5) $\mu$ cylindrical(1.5~1.8) $\times$ (3.0~10.5) $\mu$	round, hat shape 1-2	TM	R. Sd. Wp
14	F2, F3, D7	oval(1.5~3.8) $\times$ (3.8~6.0) $\mu$ cylindrical(1.5~1.8) $\times$ (4.5~7.0) $\mu$	hat shape 1-3	PM	R. Sd. Tp
15	M6	round(3.0~6.0) $\mu$	spherical 2	PM	Wp. Cp. Sd
16	G3, F4	round(1.2~1.5) $\mu$ cylindrical(1.2~1.5) $\times$ (2.3~10.5) $\mu$	spherical 1	PM	R. Wp. Tp. Sd
17	G1, G2	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~4.5) $\mu$ cylindrical(1.5~1.8) $\times$ (3.0~10.5) $\mu$	round 1-2	PM	Tp. Wp. Sd. R
18	M2, M4, M7, M8, N7, N1, N4, N8, F10	round(1.8~5.0) $\mu$	round 1		Tp. Wp. Cp. Sd
19	D10, N9, G9, M10	round(2.3~5.0) $\mu$	oil drop 1		R. Sd
20	F8, G4, N2	oval(1.5~3.0) $\times$ (3.0~6.0) $\mu$ cylindrical(1.5~1.8) $\times$ (3.8~12.0) $\mu$	round 1-3	TM	Wp. Sd

※ Malt ext.: malt extract culture, Malt agar: malt agar streak culture, PM: Pseudomycelium, TM: truemycelium, AR: splitting of arbutin, Gu: glucose, su: sucrose, Ma: maltose, L: lactose, Ra: raffinose, KNO<sub>3</sub>: KNO<sub>3</sub> assimilation, EtoH: ethanol utilization, R: ring, Sd:

Table 5. Growth condition of the isolated 50 strains in the malt media of variety NaCl concentration.

NaCl(%)	Strain number
0~10	( $\equiv$ ): All strains
15~18	( $\equiv$ ): D1, D2, M3, D4, F6, G6, N3, D9, G8, F7, G2, (+): G5, M5, N6, M9, G7, G8,
"	F1, F2, F3, M10, M8, N7, N9, F5, F3, M4, N1, G10, M7, F2 (+): D8, N5, F9, D5, D6, G9, N10, D3
20	( $\equiv$ ): N4, N8, M6, F4, N2 (+): D7, M2, N9 (+): D10
26~	( $\equiv$ ): G4, F8

※ ( $\equiv$ ): good growth, (+): growth, (+): scanty growth



the isolated 50 strains in the red pepper paste.

Malt agar.	Fermentation						Assimilation					KNO <sub>3</sub>	Eto- OH	AR
	Gu.	Ga.	Su.	Ma.	L.	Ra.	Gu.	Ga.	Su.	Ma.	L.			
S. Cr. Gl	+	+	+	+	-	+1/3	+	+	+	+	-	-	-	-
S. Ri. Yb	+	-	+	+	-	+1/3	+	-	+	+	-	-	-	-
S. Gl. F. Wy	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
S. Cr. Gl	+	+	+	-	-	+1/3	+	+	+	-	-	-	-	-
S. Cr. Gl. Ri	+	+	+	+	-	+1/3	+	+	+	+	-	-	-	-
S. Gl. F. Yb	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
S. Gr. Gl. Ri	+	±	+	-	-	+1/3	+	+	+	-	-	-	±	-
Gy. S. Gl	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
S. Cr. F. Gl	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
S. Cr. Gl. F	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	±	-
S. Cr. Ri. Gl	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
S. Cr. Wr	+	-	-	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-
Wr. D. Ri, Yb	+	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	-	+	±
S. Gl. F	+	-	+	±	-	+1/3	+	+	+	+	-	+	+	+
Wy. Ri. D. Wr	+	-	+	-	-	+1/3	+	-	+	+	-	+	+	+
Wy. D. Ri. Wr	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Wh. D. Wr. F	+	+	+	±	-	+1/3	+	+	+	+	+	-	+	+
Gl. Ri. Wh	±	±	±	±	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Gl. S. Wh	±	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	±	+
Wh. Wr. D. Ri	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+

sediment, Is: lslets, Wp: wrinkled pellicle, Tp: thin pellicle, Cp: creeping pellicle, S: smooth, Cr: cream, Gl: glistening, Ri: raised, Yb: yellowish brown, F: flat, Wy: white to yellowish, Gy: greyish yellow, wr: wrinkled, D: dull, Wh: white, + : positive, - : negative.

*yces rouxii* 4 주, *Saccharomyces mellis* 2 주, *Endomycopsis fibuliger* 5 주, *Hansenula subpelliculosa* 3 주, *Hansenula suaveolens* 1 주, *Pichia membranaefaciens* 2 주, *Pichia polymorpha* 2 주, *Debaryomyces nicotianae* 9 주, *Debaryomyces kloederi* 4 주 등 5 屬 19 種 미동 정균주 3 주로 分類되었으며 담금기간별 분포상황은 table 6 과 같다.

上記의 結果와 같이 고추장의 全熟成期間을 通하여 *Debaryomyces nicotianae* 는 9 주

로서 가장 많은 分布를 나타냈으며 *Saccharomyces rouxii*, *Endomycopsis fibuliger*, *Debaryomyces kloederi* 등의 菌株도 4~5 주로서 많이 出現이 된적이었고 *Saccharomyces cerevisiae* group II 형, *Saccharomyces oviformis*, *Hansenula suaveolens* 를 비롯한 기타의 屬種들은 出現이 적었다.

茂木(1938~1942)은 日本各地에서 수집한 40 여종의 된장으로부터 分離한 34 株의 酵母를 同定한 結果 *Saccharomyces* 屬(4 群으

로 分類), *Zygosaccharomyces* 屬 (2 群), *Torulopsis* 屬 (4 群), *Debaryomyces*, *Hansenula* 屬으로 分類하고 이어서 白味噌釀造過程中的의 麴室, 出麴, 담금직 후, 製品等으로부터 分離한 酵母 및 朝鮮, 滿洲 및 日本各地의 味噌工場으로부터 分離한 酵母等 23 株의 酵母에 對하여 分類를 한 結果 *Saccharomyces* 屬 (4 新種), *Zygosaccharomyces* 屬 (3 新種), *Pseudohansenula* 新屬 (1 新種), *Pichia* (1 新種), *Torulopsis* (3 新種), *Pseudomycoderma* (1 新種) 屬으로 나타났으며 또 東京 및 大板의 味噌으로 부터는 *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Pseudohansenula*, *Zygopichia*, *Torulopsis*, *Pseudomycoderma*, *Pseudomonilia* 等屬의 酵母를 分離하고 이들의 釀造學的 性質에 對하여 報告한바 있는데 著者等이 고추장으로부터 分離한 고추장중의 酵母와는 그 分布상태에 있어서 많은 差異가 있었다. 또한 著者 (李, 李, 辛 1970) 등이 發表한바 있는 醬油간뎃중의 酵母로서 *Saccharomyces rouxii* 는 고추장 中에서는 50 주중 4 주에 不過 하였으며 *Debaryomyces nicotianae*, *Endomycopsis fibuliger*, *Pichia* 屬等의 野生酵母가 全體酵母의 大多數를 차지 하였다. 한편 茂木 (1938~1942) 은 *Saccharomyces* 屬과

*Torulopsis* 屬은 담금후 全過程을 通하여 生育하고 그 分布가 광범위하나 *Zygosaccharomyces* 屬과 *Zygopichia* 屬은 주로 長期間 熟成의 된장에 또 *bichia* 屬은 담금직 후의 된장에 生育한다 하였으며 된장의 種類 및 지역에 따라 그 分布가 相異하다고 報告한바 있는데 고추장중의 酵母로는 담금초에 *Debaryomyces nicotianae*, *Saccharomyces rouxii*, *Endomycopsis fibuliger*, *Hansenula subpelliculosa* 等의 酵母가 熟成期에는 *Debaryomyces nicotianae*, *Saccharomyces rouxii*, *Pichia polymorpha*, *Saccharomyces steineri* 等의 酵母가 存存하였다. 즉 *Saccharomyces rouxii* 와 *Debaryomyces nicotianae* 는 全醱酵期間을 通하여 分離되었고 기타의 속들은 전혀 相異한 分布였다. 또한 된장이 나 간장 뎃중에서 出現되는 *Torulopsis* 屬 및 *Candida* 等屬의 無孢子酵母는 고추장중에서 나타나지 않았다. 한편 고추장중에서 분리한 酵母들은 無鹽培地 및 10 % 食鹽含有培地에서는 잘 生育하였으나 15 % 以上の 食염첨가 배지에서는 大部分 억제되었으며 이들의 TTC 呈色反應은 table 7 과 같다.

즉 고추장 酵母中에서 가장 많이 存存하였던 *Debaryomyces nicotianae* 와 *Endomycopsis fibuliger* 는 TTC white 로 나타났다.

Table 7. The grouping of the isolated 50 yeasts in the red pepper paste by TTC<sup>-</sup> reaction.

TTC color	Species
white	<i>Endomycopsis fibuliger</i> , <i>Hansenula suaveolens</i> , <i>Pichia polymorpha</i> , <i>Debaryomyces nicotianae</i>
red	<i>Saccharomyces rouxii</i> , <i>Saccharomyces veronae</i> , <i>Saccharomyces chevalieri</i> , <i>Saccharomyces uvarum</i> , <i>Saccharomyces mellis</i> , <i>Hansenula subpelliculosa</i>
red pink	<i>Saccharomyces rouxii</i> , <i>Saccharomyces heterogenicus</i> , <i>Saccharomyces oviformis</i>
pink	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group II, <i>Saccharomyces steineri</i> , <i>Saccharomyces exiguus</i> , <i>Saccharomyces delbrueckii</i> , <i>Saccharomyces bisporus</i> , <i>Hansenula subpelliculosa</i> , <i>Pichia membranaefaciens</i> , <i>Debaryomyces klockeri</i>

## 摘 要

고추장을 담금하여 熟成過程中에 生育하는 酵母를 經시적으로 계수 및 分離同定하고 TTC 呈色에 依하여 類別한 結果는 다음과 같다.

(1) 고추장을 담금하기위한 쌀 koji 1g 中の 일반酵母數는 3日麴에  $116 \times 10^3$ , 4日麴에  $159 \times 10^3$ , 5日麴에  $225 \times 10^3$  개 나타났고 耐鹽性酵母數는 3日麴에 0, 4日麴에  $6 \times 10^3$ , 5日麴에  $12 \times 10^3$  개로서 製麴日數의 經過에 따라 酵母數가 증가되었다.

(2) 고추장 1g 中에 生育하는 一般酵母의 數는 담금직후  $95 \times 10^3$ , 1개월후  $151 \times 10^3$ , 3개월후  $520 \times 10^3$ , 5개월후  $1012 \times 10^3$ , 1년후  $131 \times 10^3$  개로 나타났고 耐鹽性酵母數는 담금직후  $8 \times 10^3$ , 1개월후  $34 \times 10^3$ , 3개월후  $72 \times 10^3$ , 5개월후  $429 \times 10^3$ , 1년후  $49 \times 10^3$  개로서 一般酵母와 耐鹽性酵母 共히 담금초에서 熟成時까지 증가현상을 나타내었으나 후속기에는 감소하는 경향을 보였다.

(3) 經시적으로 고추장으로부터 任意分離한 50株의 酵母를 同定한 結果 *Saccharomyces cerevisiae* group II형 1주, *Saccharomyces oviformis* 2주, *Saccharomyces steineri* 3주, *Saccharomyces exiguus* 1주, *Saccharomyces veronae* 1주, *Saccharomyces delbrueckii* 2주, *Saccharomyces chevalieri* 1주, *Saccharomyces heterogenicus* 1주, *Saccharomyces bisporus* 2주, *Saccharomyces uvarum* 1주, *Saccharomyces rouxii* 4주, *Saccharomyces mellis* 2주, *Endomycopsis fibuliger* 5주, *Hansenula subpelliculosa* 3주, *Hansenula suaveolens* 1주, *Pichia membranaefaciens* 2주, *Pichia polymorpha* 2주, *Debaryomyces nicotianae* 9주, *Debaryomces kloekeri* 4주 등 5屬 19種과 미동정균주 3주로 分類되었다.

(4) 담금기간에 따른 酵母의 分布는 담금초에 *Saccharomyces cerevisiae* group II형, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces rouxii*, *Endomycopsis fibuliger*, *Saccharomyces veronae*, *Saccharomyces mellis*, *Hansenula subpelliculosa*, *Pichia membranaefaciens*, *Debaryomyces kloekeri*, *Debaryomyces nicotianae* 등이 生育하였고 熟成期에 *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces mellis*, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Pichia polymorpha*, *Pichia membranaefaciens*, *Debaryomyces kloekeri*, *Debaryomyces nicotianae*, *Hansenula suaveolens*, *Saccharomyces chevalieri* 등이 生育하였고 後熟期에는 *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Debaryomyces nicotianae*, *Debaryomyces kloekeri* 등이 生育하였다.

(5) 고추장麴의 경우 TTC white 酵母가 50% 内外로서 가장 우세하였으나 고추장의 경우는 담금초기에 white 酵母가 우세하였고 熟成期以後는 pink 酵母가 가장 우세하였다. red pink 酵母는 麴에서나 고추장에서 가장적게 나타났다.

(6) 고추장에서 同定한 酵母들을 TTC 呈色에 따라 類別한 結果 *Saccharomyces cerevisiae* group II형, *Saccharomyces steineri*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces bisporus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Pichia membranaefaciens*, *Debaryomyces kloekeri* 등은 TTC pink 酵母로 *Endomycopsis fibuliger*, *Hansenula suaveolens*, *Pichia polymorpha*, *Debaryomyces nicotianae* 등은 TTC white 酵母로 *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces veronae*, *Hansenula subpelliculosa*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces mellis* 등은 TTC red 酵母로 *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces oviformis* 등은 TTC red pink 酵母로 나타났다.

(7) 分離된 酵母들의 모두가 0~10%의 食鹽含有培地에서는 잘 生育하였으나 15% 이상의 食鹽含有培地에서는 大部分 억제되었다.

## REFERENCE

1. 鄭址圻, 趙伯顯, 李春寧, 1963. 고추장成分에  
關한 研究, 韓國農化誌, 4, 43
2. Lodder and N.J.W. Kreger-van Rij, 1967  
The yeasts, a taxonomic study
3. 基準みそ分析法, 1959. 全國みそ技術會編
4. 宮崎桂一, 本川保之, 1964. 品温經過を 異に  
する麴に, ついて日調味科學誌, 11, (4), 21.
5. 今井誠一, 若林昭, 1966. 醬油の機械麴に關  
する研究, 日調味科學誌, 13, (2), 12
6. 青木定夫, 大島一德, 1964. 醬油の機械製麴に  
關する試験, 日醬油と技術, 448, 1177
7. 芳賀宏, 佐々木重夫, 中村清, 梅田勇雄, 1969.  
機械製麴に關する研究(第五報), 日調味科學誌,  
16(2), 17
8. 伊藤寛, 1966. 醬油製造工程に關連する微生物  
の動態, 日調味科學誌, 13, (3), 22
9. 古川敏郎, 秋山裕一, 1963. 清酒釀造の微生物  
學的營理(第四報), 日農化誌, 37, (7), 398
10. 李澤守 李錫健, 1970. 간장 발효에 關여하는  
효모에 關한연구(제 1 보). 제국중에 생육하는  
효모에 대하여 韓國農化誌, 13, (1), 97
11. 李澤守, 李錫健, 辛寶圭, 朴允仲, 1970. 쇼  
우유醱酵に關與する酵母に對する研究(第一報).  
製麴中に生育する酵母について, 日調味科學誌,  
17, (5), 20
12. 海老根, 伊藤, 稗田, 小坂, 1961. 日味噌科  
學, 8, 17
13. 本間伸夫, 田代友藏, 1959. 天然釀造と溫釀  
における味噌酵母數の比較, 日新瀉食研報, 4, 17
14. 松山正宣, 森嘉子, 大川弘幸, 眞野史義, 1967.  
味噌の食鹽濃度と酵母の動態, 日味噌技術, 159, 8
15. 望月務, 今井學, 安平仁美, 武居正泰, 味澤  
實, 1967. みその 加熱處理試験, 日味噌技術,  
164, 4
16. 松下善一, 佐々木博國, 1968, 味噌の微生物に  
關する研究, 日味噌科學, 14, 47
17. 加藤降夫, 松本憲次, 1965. みその乳酸菌に關  
する研究, 日味噌技術, 139, 2
18. 茂木正利, 1938. 味噌釀造に關する酵母の研究  
日農化誌, 14, 951
19. 茂木正利, 1939. 味噌釀造に關する酵母の研究  
形態的性質, 生理的性質, 分離せる酵母の分類  
並に類縁及び標徵, 日農化誌, 15, 921, 1023,  
1221
20. 茂木正利, 1940. 味噌釀造に關する酵母の研  
究, 日農化誌, 16, 7
21. 茂木正利, 1942. 味噌釀造に關する酵母の研究  
日農化誌 18, 543, 733, 940
22. 李澤守, 李錫健, 辛寶圭, 1970. 간장발효에  
關여하는 효모에 關한연구(제 2 보) 간장덧중에  
생육하는 효모에 대하여, 韓國農化誌, 13, (2)171