

# 콩고오지 製造中の peptide 에 關한 研究 第一報 콩고오지 製造中の peptide 의 消長

서울大學校 農科大學  
農化學科

金 載 勗

(1956年 4月 18日受理)

Studies on peptides during soybean-koji preparation.  
part I Peptides formation during soybean-koji preparation.

Ze Uook Kim

Dept of Agrochemistry  
College of Agriculture  
Seoul National University

## Summary

The contents of insoluble protein nitrogen, water soluble protein nitrogen and peptides' nitrogen were determined of the samples which were taken in seven and half hours intervals during soybean-koji preparation to study changes of soybean protein, and the contents of total nitrogen and amino nitrogen were measured for the fractions resulting from molecular sieving by using Dowex 50 having various cross linkages for the peptides from soybean-koji extracts.

As the results of the studies, The followings were obtained:

1. The contents of insoluble protein nitrogen and peptides' nitrogen are fairly constant at the earlier stage, where the former decreased and the latter increased markedly as mycelia grow, then rate of the decreases and the increases of them become lower at later stage after sporulation.

The contents of water soluble protein are also constant at the earlier stage until covering of mycelia over the koji and increased since then until the stage of sporulation and then decreased at the later stage.

2. The amount of peptides nitrogen in each fraction obtained by the molecular sieving was almost constant

at the earlier stage and the values in fractions of X-16, X-12, X-8, X-4 and X-2 increased considerably together as mycelia grow. Then the values in the fractions showed almost plateaux, after sporulation, where the effluent fraction showed markedly increased values throughout mycelia growth.

## I. 緒 論

大豆 또는 其他穀類에 麴菌을 繁殖시킨 所謂 koji 는 우리나라를 비롯한 東洋人의 調味料로서 不可缺할 뿐만 아니라 營養上 蛋白質給源으로 重要한 간장, 된장 製造에 있어 二次的인 原料인 것이다. 따라서 이 koji 의 質이 바로 간장, 된장 製品의 品質에 關係가 크다는것은 너무나 잘 알려져 있는 事實임으로 合理的인 koji 의 製造를 爲하여 從來 菌株의 選擇은 勿論, 原料의 處理法<sup>(1)</sup> 撒水量<sup>(2)</sup> 原料의 配合比<sup>(3,4,5)</sup>, 製麴溫度<sup>(6,7)</sup>에 따르는 成分變化 特히 酵素力에 對한 影響등에 關하여 많은 研究가 되어있다.

그러나 koji 生成中에 일어나는 成分變化에 對한 研究로는 一般成分變化外에는 酵素力 程度<sup>(4,6,7)</sup>이고 原料蛋白質이 koji 生成中에 分解되는 過程에 關係되는 것으로는 金<sup>(8)</sup> 등의 製麴中の 遊離아미노酸의 測定研究등이 있고 peptide 에 關한것으로서는 蒸 煮大豆 및 豆麴<sup>(9)</sup>에 對하여 斷片的으로 遂行된 報

告가 있을 程度로서 koji 生成全過程中에 일어나는 蛋白質의 變化 및 peptide 의 形成等을 알기에는 不充分한것이다.

따라서 筆者는 콩고오지 製造中에 일어나는 大豆 蛋白質形態의 變化 및 움직임을 알기 爲하여 一般의 인 콩고오지 製造와 같은 原理에 따르되 種類으로서 大豆蛋白質以外的 他蛋白質의 混入을 避하기 爲하여 麴菌(Aspergillus soya)의 純粹한 孢子만을 接種시켜서 製麴하여 製麴의 各段階에서 大豆蛋白質의 形態를 檢討하는 同時에 成田<sup>(10)</sup> 등이 絹 fibroin 加水分解物의 oligopeptide 의 研究 및 高橋<sup>(11)</sup> 등이 酒精中의 peptide 의 研究에 使用하였고 竹内<sup>(9)</sup> 등이 澱粉, 간장의 peptide 의 研究에 使用한 方法에 따라서 cross linkage 가 各各 다른 여러가지 Dowex 50 을 利用하여 分子篩別을 하여 얻은 各 fraction의 peptide 群의 變動에 關한 結果를 여기에 報告하는 바이다.

## II. 實驗 方法

### 1. 試料의 調製

(1) 大豆; 市販大豆

(2) 孢子; Aspergillus soya 를 普通方法에 依하여 멸균물에 培養하며 乾燥시킨 後 篩別하여 孢子만을 蒐集하였다.

大豆를 常溫의 물에 1晝夜 浸漬하였다가 물을 빼고 常壓에서 6時間 蒸氣한 다음 放置冷却시켜 品溫이 約 39°C가 되었을때 原料 1kg에 對하여 孢子 0.0028 g 을 함께 混合하고 chopper 를 使用하여 鉛筆<sup>(12)</sup> 굵기의 가락으로 만든것을 約 30g 式 正確하게 秤量하여 各 採取試料에 該當하는 數와 水分測定用으로 別途로된 petri schale 에 담아 28°C의 定溫器에 넣어 保溫製麴하되 chopper 로 가락을 만든 直後부터 第1表와 같이 7時間半마다 1schale 分의 試料을 取하여 供試試料로 하였다.

Table 1. Samples taken

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
time	0	7.5 (hrs)	15.0	22.5	30.0	37.5	45.0	52.5	60.0	67.5
備考	入 麴		菌絲發生	全面菌絲被覆	孢子發生始作	孢子完全被覆				出 麴

### 2. 試料의 處理

採取한 試料 全量을 waring blender 에 넣고 100 ml 의 물을 加하여 100 volt 에서 1時間 磨碎한 다음 遠心分離管에 넣고 여기에 25 ml 式의 물로 두번

waring blender 를 洗滌하여 遠心分離管에 合한것을 8分間 遠心分離(約3000 r.p.m)하여 上澄液을 flask 에 옮긴후 分離管에 남은 殘滓에 다시 70 cc 의 물을 加하여 攪拌하고 5分間 遠心分離를 하여 上澄液을 먼저 flask 에 合하는 操作을 3回 反復한 다음 그 殘滓는 不溶性 蛋白質態窒素 測定用試料로 하고 flask 에 合한 上澄液은 여기에 10%의 trichloro acetic acid 200 ml 를 加하여 하룻밤 放置하였다가 沈澱된 蛋白質을 濾過하여 그 沈澱을 水溶性蛋白質窒素測定用 試料로 하고, 濾液은 그 一部를 取하여 peptide 態 窒素 測定用 및 amino 態窒素測定에 使用하고 나머지中의 一部는 分子篩別用으로 使用하였다.

### 3. peptide 群의 分子篩別<sup>(9-10-11)</sup>

Trichloro acetic acid 로 水溶性蛋白質을 沈澱시켜 濾過하고 난 濾液을 resin 의 cross linkage 가 各各 다른 여러가지 Dowex 50 (第2表)을 채운column을 第1圖와 같이 連結시킨 것에 Dowex 50 X-16 resin column에서부터 1分間에 0.4 ml 의 速度로 試料를 通過시켜서 各column의 resin 에 吸着시키되 마지막 resin

Table 2. Resin mesh and column dimension of dowex 50

resin No	resin mesh	column dimension	
	(mesh)	(cm)	(cm)
X-16	20~50	2.5	35
X-12	20~50	2.5	30
X-8	20~50	2.5	20
X-4	50~100	2.5	20
X-2	20~50	2.5	20

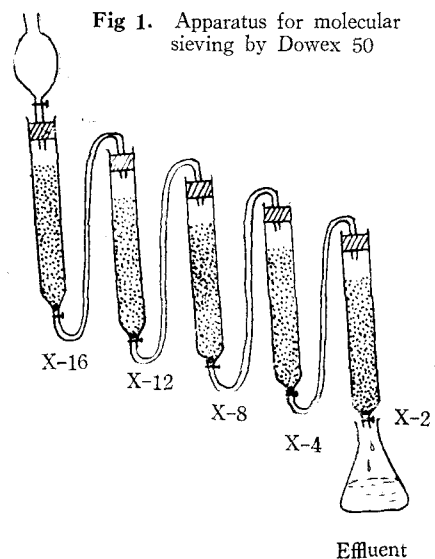


Fig 1. Apparatus for molecular sieving by Dowex 50

을通過하고 난것도 別途로 蒐集하여 모두 通過시킨 후에 일단 蒸溜水를 通하여 洗滌하였다. 그 다음에 各 column을 別途로 分離하여 各 column에 10%의  $NH_4OH$  水溶液을 通過시켜서 各 column에 吸着되었던 amino acid 및 peptide를 溶出시켰다. 이 溶出液을  $50^{\circ}C$ 以下에서 減壓蒸溜시켜서 25 ml의 부피로 하여 그 一部를 取하여 全窒素測定用 및 amino 態窒素 測定用 試料로 使用하였다.

#### 4. 分析方法

(1) 水分; 試料採取時마다 水分測定用 試料에서 約 5g을 正確히 秤量하여 常法에 依하여  $100^{\circ}C$ 로 調節된 定溫乾燥器에서 恒量이 될때까지 乾燥하여 秤量하였다.

#### (2) 不溶性蛋白態窒素

試料 處理時 얻은 不溶性蛋白態窒素用 殘滓試料를 定溫器에서 乾燥한다음 그중 一定量을 取하여 Kjeldahl法으로 窒素量을 測定하였다.

#### (3) 水溶性 蛋白態 窒素

試料 處理時 얻은 水溶性蛋白態窒素用 沈澱試料를 Kjeldahl法으로 窒素量을 測定하였다.

#### (4) peptide態 全窒素

試料 處理後 얻은 peptide態 全窒素用 試料中 一定量을 取하여 micro Kjeldahl法으로 全窒素量을 測定하였다.

#### (5) amino態 窒素

試料 處理後 얻은 peptide態 全窒素用 試料中 一定量을 取하여 Vanslyke法으로 amino態 窒素量을 測定하였다.

#### (6) pH

試料 處理時 물과 함께 waring blender로 磨碎하여 遠心分離器로 分離하고난 上澄液을 Beckman pH meter를 使用하여 pH를 測定하였다.

### III. 結果 및 考察

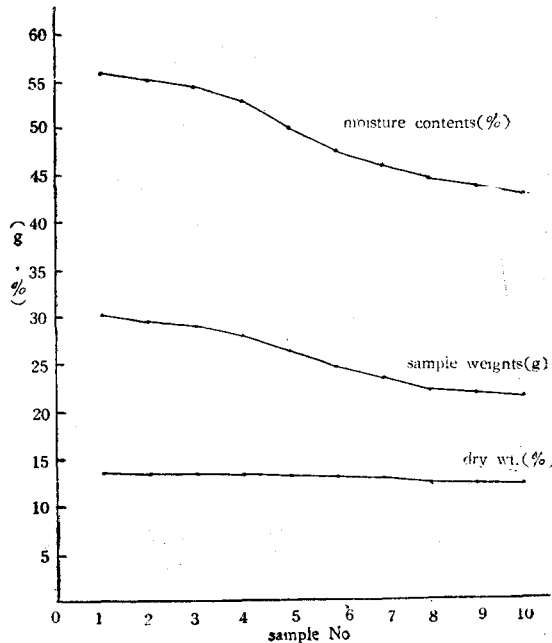
蒸煮 大豆에 胞子를 混合하고 磨碎한 直後부터

Table 3. Sample weights and moisture contents when sampling

(corresponding 30g of fresh sample)

sample	sample wt. (g)	moisture contents (%)	dry wt. (g)	pH
1	30.0	55.7	13.290	6.0
2	29.420	54.9	13.268	5.9
3	28.912	54.1	13.271	5.9
4	27.999	52.7	13.244	5.5
5	26.034	49.9	13.043	5.5
6	24.594	47.3	12.961	6.5
7	23.364	45.8	12.754	6.5
8	22.175	44.5	12.307	6.7
9	21.722	43.6	12.251	6.7
10	21.414	42.8	12.249	6.7

Fig. 2. Changes in the sample weights, moisture contents and dry weights



7時間半 間隔으로 採取한 試料에 對한 分析值을 入麴 試料 30g에 該當하는 量으로 換算한 結果는 第3表와 같다.

第3表의 結果를 圖表로 表示하면 第2圖 試料 採取時의 試料重量, 水分含量 및 乾物量의 變化와 같다.

第2圖의 結果를 보면 入麴試料 30g에 該當하는 採取時의 무게는 初期에는 큰 變化가 없었으나 菌絲가 koji 全面을 被覆하는 時期以後에 가서 比較的 減量이 많아지고 孢子가 完全히 生成된 以後에는 큰 變化가 없는데 水分含量의 變化는 이것과 大體로 一致되는 結果를 보이고 있다. 各試料의 乾物量은 始終 僅小한 減少值을 보이고 있는데 이것으로 보아 供試磨碎試料의 重量이 經時的으로 比較的 減少率

이 큰것은 主로 製麴中의 發生熱에 依한 水分蒸發에 起因하는것으로 生覺된다.

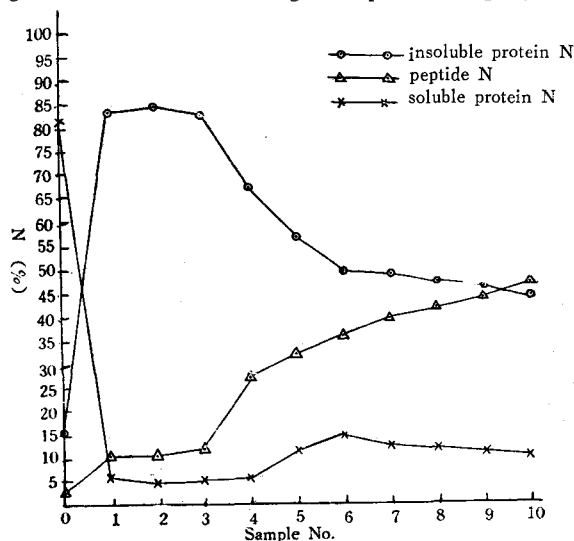
pH의 變化는 菌絲가 發生하여 孢子가 生成될 때 까지 일단 酸性側으로 기울어졌다가 그후에 다시 中性으로 돌아가는 傾向을 나타내고 있다. 이 原因에 對하여는 照井, 森本兩氏<sup>(13)</sup>가 쌀고오지에 있어 培養後 30時間 前後에서 pH가 일단 4.5로 떨어졌다가 다시 올라간것과 大體로 一致하며 그 原因에 對하여도 酸性化는 有機酸에 起因하고 다시 PH가 올라가는것은 ammonia가 形成되는 結果가 아닌 生覺된다.

採取試料를 處理하여 不溶性蛋白態窒素, 水溶性蛋白態窒素, peptide態 및 amino酸態窒素(以下 peptide態窒素라함)를 測定한 結果는 第4表와 같다.

Table 4. Changes in the amount of each nitrogen compound during soybean-koji preparation

class. sample No.	total N	insoluble protein N		soluble protein N		peptide N	
		measured	% to total N	measured	% to total N	measured	% to total N
steeped soybean	904.9(mg)	137.6(mg)	15.2(%)	741(mg)	81.9(%)	26.3(mg)	2.9(%)
1	912.2	760.6	83.3	55.0	6.1	96.6	10.6
2	915.7	775.1	84.5	42.6	4.7	98.2	10.8
3	919.4	760.3	82.7	48.7	5.3	110.4	12.0
4	906.4	609.1	67.2	52.4	5.8	244.9	27.0
5	902.3	512.2	56.8	102.7	11.4	287.3	31.8
6	911.0	450.5	49.4	132.5	14.5	328.0	36.1
7	908.9	440.0	48.4	112.4	12.4	356.5	39.2
8	904.8	425.2	46.9	105.2	11.6	374.4	41.4
9	903.0	415.3	45.9	92.3	10.2	395.4	43.8
10	901.6	393.9	43.6	88.2	9.8	419.5	46.5

Fig 3. Changes the amount of each nitrogen compound during soybean-koji preparation



第4表의 結果를 圖示하면 第3圖(콩고오지 製造 中の 窒素化合物의 形態 變化圖)와 같다.

第3圖의 結果에 依하면 原料콩에 全窒素의 約 82%에 該當되는 窒素量이 水溶性蛋白質로 存在하던것이 蒸煮에 依하여 6.1%로 減少되고 不溶性蛋白質이 約 83%나 되게 急激히 增加되고 peptide 態 窒素 또한 相當한 增加를 보인後 不溶性蛋白質窒素 및 peptide 態 窒素는 製麴初期에는 大體로 一定하였다가 菌糸가 發生하기 始作한 以後부터 急激한 變化가 일어나 不溶性蛋白質은 減少되고 peptide 態 窒素는 增加되나 後期에 가서 그 變化率이 緩和되었고 水溶性蛋白質窒素는 製麴初期는 大體로 一定하나 菌糸가 koji 全面을 被覆한 以後부터 徐徐히 增加되었다가 胞子가 完全히 생긴 點을 限界點으로 하여 徐徐히 減少되는 傾向을 보이고 있는데 原料콩의 蒸煮에 依한 蛋白質의 變性으로 急激한 變化가 있는後 一定值를 보였다가 다시 變化가 큰것은 菌糸의 發生과 더불어 分泌되는 protease의 作用을 받아 不溶性蛋白質이 可溶性蛋白質 乃至 peptide 態로 分解되는것으로 生覺되는데 後期에서 不溶性蛋白質의 減少 및 peptide 態窒素의 增加率이 緩和되

는點이 나침 pH가 酸性側에서 中性側으로 變하는 時期에 該當된다. 金<sup>(4)</sup>의 測定結果로서 콩 고오지의 各 pH에 對한 protease의 作用 曲線은 pH 5.5 ~6.0에서 活性을 갖는것이 主體를 이루고 있고 pH 6.5 以下에서는 大端히 微弱하다는 結果로서 本試料고오지의 pH가 6.5로 됨으로서 콩고오지의 主體 protease인 中性 protease의 作用을 微弱하게 받게 되는데 起因하는 것이 아닌가 生覺된다. 水溶性 蛋白質이 胞子가 完全히 생기는 點을 限界點으로 하여 最高值를 보이는데 이것은 菌糸의 發生과 더불어 protease에 依하여 不溶性 蛋白質이 水溶性 蛋白質로 變化하는 量이 많아지다가 그 以後에는 不溶性蛋白質이 水溶性蛋白質로 分解되는 量이 比較的 적으나 水溶性蛋白質은 계속하여 peptide 態로 變하는 까닭이 아닌가 生覺된다.

分子篩別用 試料에 對하여 cross linkage가 各 各 다른 여러가지 Dowex 50을 使用하여 分子篩別을 한 各 fraction에 對하여 全窒素, amino 態 窒素를 測定한것과 全窒素量을 amino 態 窒素로 나눈 所謂 average peptide length(A.P.L)는 第5表와 같다.

Table 4. Fractionation of peptides during the koji preparation

sample No.	fraction class.	X-16	X-12	X-8	X-4	X-2	effluent	total N	recovery (%)
		(mg)							
1	total N	21.6	15.0	12.7	10.8	8.5	27.6	96.2	99.6
	amino N	9.4	3.9	2.1	1.5	0.9	1.3		
	A.P.L	2.3	3.9	6.1	7.2	9.4	21.2		
2	total N	21.8	15.2	13.0	11.0	7.8	27.9	96.7	98.5
	amino N	9.9	4.0	2.0	1.6	0.8	1.4		
	A.P.L	2.2	3.8	6.5	7.0	9.8	19.9		
3	total N	24.0	16.2	14.2	12.4	6.2	31.8	104.8	94.9
	amino N	10.9	4.3	2.2	1.7	0.6	1.5		
	A.P.L	2.2	3.8	6.5	7.3	10.3	21.2		
4	total N	62.0	35.0	20.2	17.0	10.0	95.0	239.2	97.7
	amino N	26.1	8.5	3.1	2.3	1.0	4.9		
	A.P.L	2.4	4.1	6.5	7.4	10.0	19.4		
5	total N	66.4	40.0	24.6	17.2	12.1	124.1	284.4	99.0
	amino N	33.2	9.8	3.8	2.4	1.3	6.1		
	A.P.L	2.0	4.0	6.5	7.2	9.3	20.3		
6	total N	70.0	40.2	25.0	24.0	22.5	138.0	319.7	97.5
	amino N	30.4	10.6	3.8	3.2	2.2	6.3		
	A.P.L	2.3	3.8	6.6	7.5	10.2	22.0		
7	total N	73.0	41.2	25.5	25.0	22.1	165.1	351.9	99.0
	amino N	30.4	10.1	4.0	3.6	2.3	7.1		
	A.P.L	2.4	4.1	6.4	6.9	9.6	23.3		

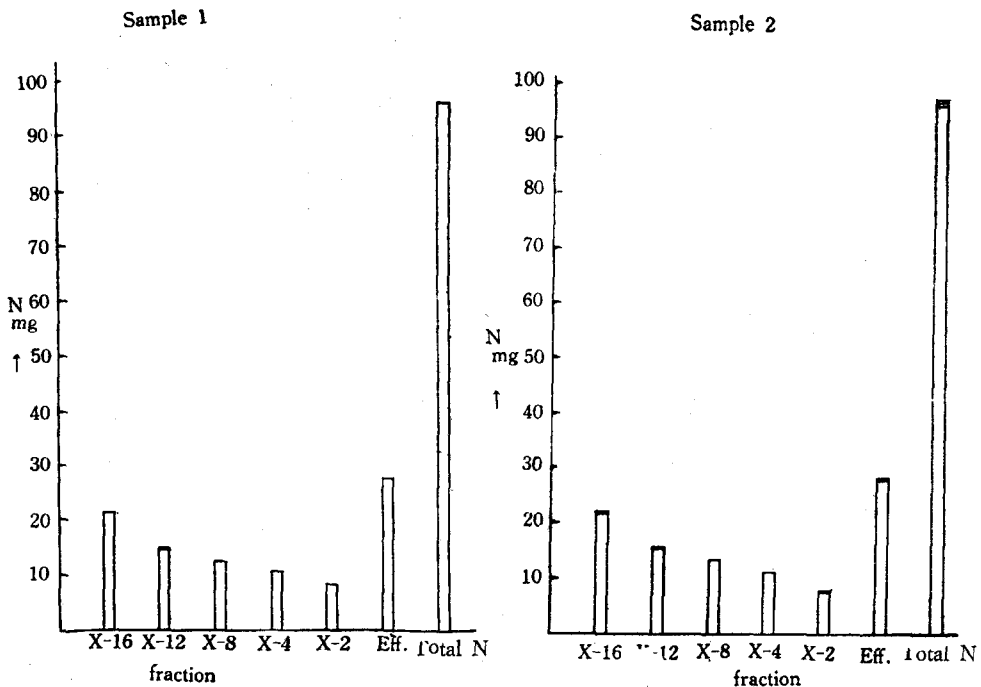
8	total N	73.1	41.5	25.0	25.2	21.6	185.5	371.9	98.5
	amino N	33.2	9.9	3.7	3.4	2.2	8.3		
	A.P.L	2.2	4.2	6.8	7.4	9.8	22.4		
9	total N	78.0	40.3	25.6	26.1	20.2	195.1	385.3	97.4
	amino N	32.5	9.8	3.9	3.7	2.1	9.1		
	A.P.L	2.4	4.1	6.6	7.1	9.6	21.4		
10	total N	79.1	41.0	26.2	24.5	21.0	209.6	401.4	95.7
	amino N	32.9	9.1	3.7	3.3	2.2	8.9		
	A.P.L	2.4	4.5	7.1	7.4	9.5	23.6		

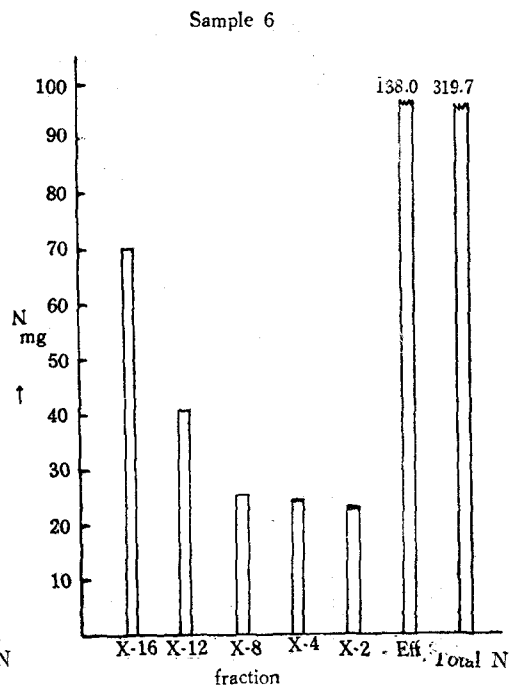
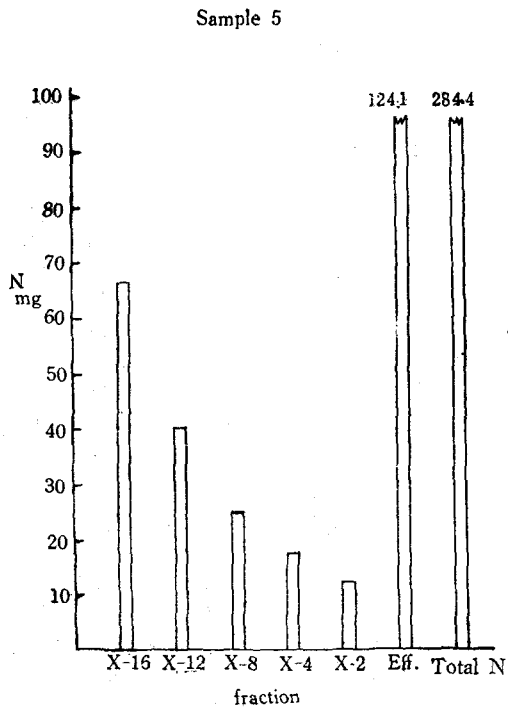
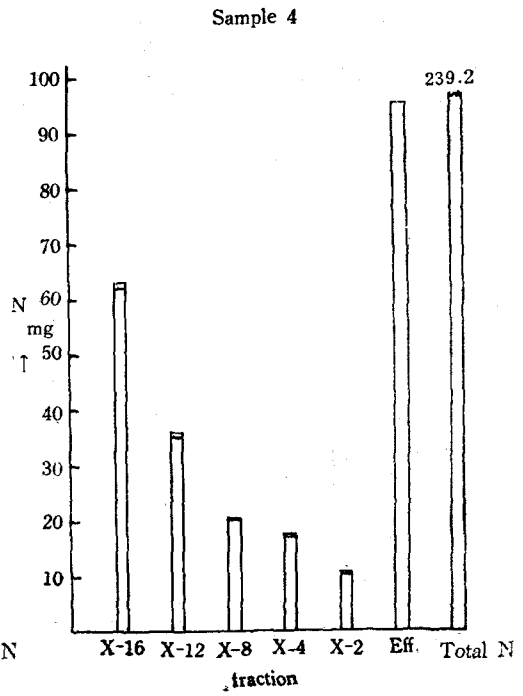
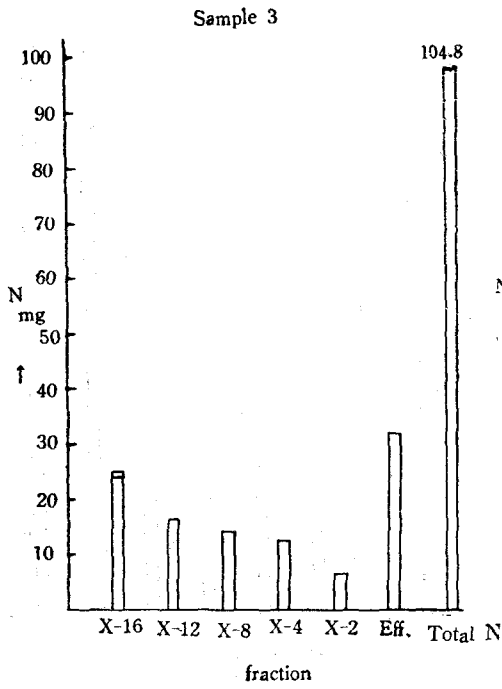
第5表의 結果를 圖示하면 第4圖와 같다.

第3圖를 보면 入麴初期에서 peptide 態 窒素는 effluent fraction(A.P.L; 21.5)이 가장 많고, X-16(A.P.L; 2.3), X-12(A.P.L; 4.0), X-8(A.P.L; 6.6), X-4(A.P.L; 7.2), X-2(A.P.L; 9.8)로 가면서 次次 量이 적게 存在하며 製麴初期에는 別變動이 없으나 菌糸가 充分히 發生한 後에는 全 fraction의 N 量이 全般的으로 急激히 增加되는데 X-16 fraction도 若干 增加되기는 하나 特히 effluent fraction은 出麴時까지 急激한 增加를 보였다가 孢子 形成時

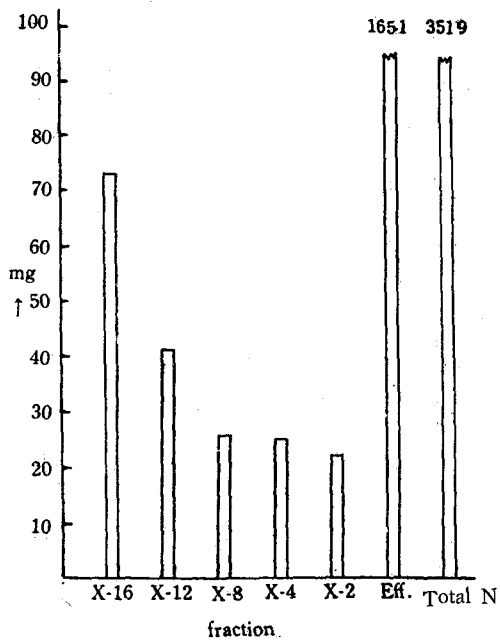
以後에는 X-16, X-12, X-8, X-4, X-2 fraction은 큰 變動이 없다. effluent fraction은 菌糸發生 時期부터 出麴時에 이르기까지 急激한 增加를 繼續의 으로 나타내고 있다. 菌糸의 生成과 함께 全 fraction이 增加되는 것은 菌糸가 分泌하는 protease에 依하여 여러가지 기리의 peptide가 全體의으로 생기는 것이나 孢子 發生을 限界로 하여 effluent fraction만이 繼續 增加되고 其他의 fraction에서는 別變動이 없는것은 이 孢子 形成期가 마침 pH가 酸性側에서 中性側으로 돌아오는 點인 것으로 보아 pH 6.5

Fig 4. Changes in each fraction of peptides

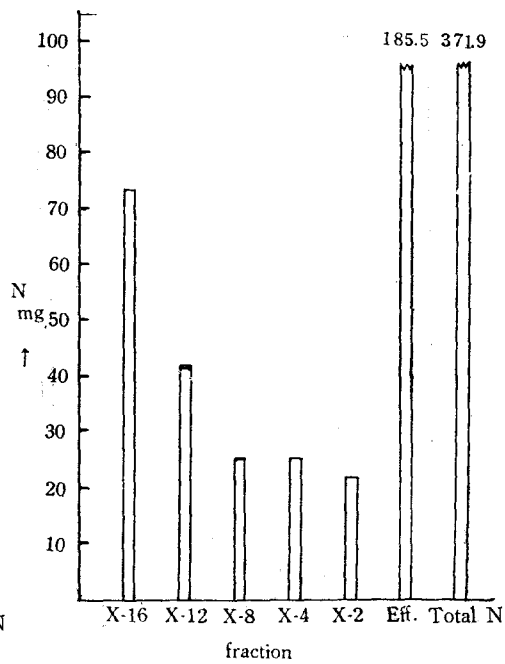




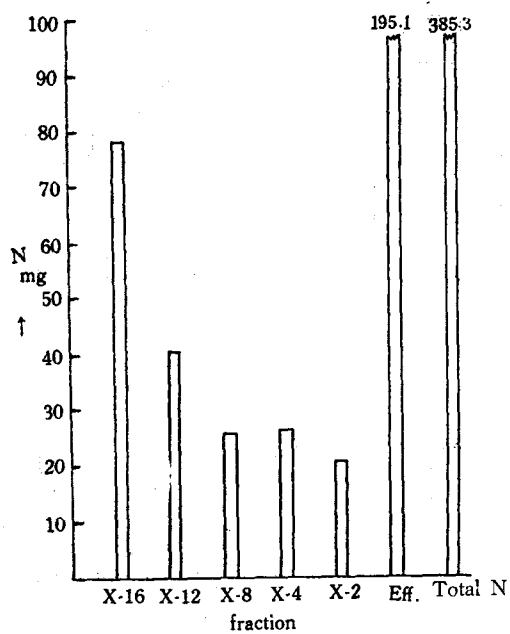
Sample 7



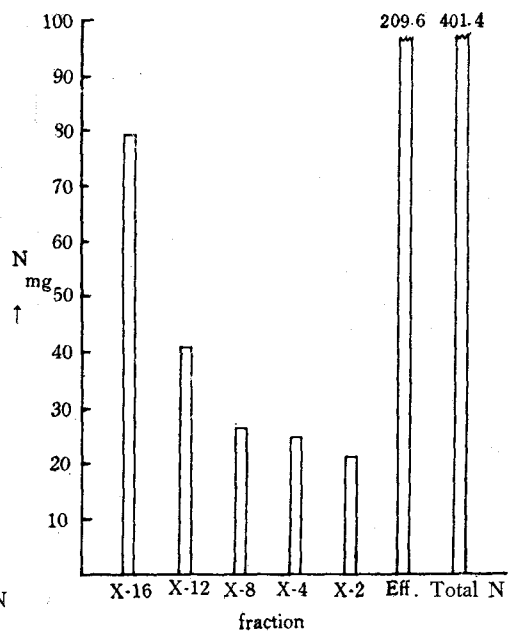
Sample 8



Sample 9



Sample 10





以上에서는 分子가 큰 것에 作用하여 大體로 A.P.L.가 中級 以上이 되는 作用이 支配的이 아닌가 生覺되나 次後 더 研究할 問題라 生覺된다. 結局 大體의 所以로 koji 生成中에 不溶性 蛋白質 또는 水溶性 蛋白質이 protease의 作用을 받아 大部分이 effluent의 peptide length에 該當하는 中級程度의 peptide의 크기까지 分解하고 低級 peptide는 그다지 많은 量이 생기지 않는것을 알수 있다.

#### IV. 摘 要

콩고오지 製造中에 일어나는 콩 蛋白質의 形態의 變化 및 大豆蛋白質이 *Aspergillus soya*가 分泌하는 protease의 作用을 받아 生成되는 peptide의 總體의 인 動向을 알기 爲하여 製麴中 經時的으로 採取한 試料에 對하여 不溶性蛋白態窒素 水溶性蛋白態窒素 peptide 態窒素를 測定한 다음 peptide 群 液을 cross linkage가 各各 다른 여러가지 Dowex-50을 使用하여 分子篩別을 한 各 fraction에 對하여 全窒素 amino 態 窒素, 및 average peptide length을 測定計算하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 不溶性蛋白態窒素 및 peptide 態 窒素는 菌絲 發生時까지 別變化가 없었으나 菌絲發生時부터 不溶性蛋白態窒素는 急激히 減少되고, peptide 態 窒素는 急激히 增加되었다가 孢子發生時를 限界點으로 하여 減少率 및 增加率이 緩和되었었다.

水溶性蛋白態窒素는 콩고오지 全面을 菌絲가 被

覆할때까지 一定하나 그후 孢子發生時를 限界點으로 하여 增加되었다가 다시 徐徐히 減少하였었다.

2. Peptide 群을 分子篩別한 結果 製麴初는 各 fraction의 比에 別 變動이 없으나 菌絲 發生後에는 X-16, X-12, X-8, X-4, X-2 fraction은 相當한 增加를 보이다가 孢子發生後에는 큰 變動이 없고 effluent fraction은 出麴까지 繼續하여 增加되고 있다.

#### 引用 文獻

- (1) 川野; 日本醱酵工誌 16 755(1938)
- (2) 井上; 日本醱酵工誌 35 234(1957)
- (3) 金浩植等; 本誌 2 23(1961)
- (4) 金鏞揮等; 本誌 4 17(1963)
- (5) 好井, 石原; 日本醱酵工誌 40 620(1962)
- (6) K. Yamamoto; Bull. Agr. Chem. Soc. Japan 21 319(1957)
- (7) 茂木等; 日本醱酵工誌 35 100(1957)
- (8) 金浩植 等; 서울大學校論文集(生農系) 9 1(1959)
- (9) 竹內, 加藤, 好井; 日本醱酵工誌 40 375(1962)
- (10) K. Narita, S. Fugiwra; Bull Chem. Soc. Japan 31 382(1958)
- (11) 高橋, 能勢; 日本醱酵工誌 35 318(1957)
- (12) 金浩植 等; 農産加工學 p. 148 (1964)
- (13) 照井, 森本; 日本醱酵工誌 35 312(1957)