

고추장의 醱酵微生物에 關한 研究(第 2 報)

—優良酵母의 生理的 性質—

李澤守·辛實圭·*李錫健·**柳洲鉉

(삼표醬油釀造場·*忠南大學校·**延世大學校)

Microbiological Studies of Red pepper Paste Fermentation (II)
—Physiological Characteristics of the Selected Excellent Yeasts—

LEE, Taik Soo, Bo Kyu SHIN, *Suk Kun LEE, and **Ju Hyun YU.

(Saimpyo Soy Sauce Brewery. *Chung Nam University. **Yonsei University.)

ABSTRACT

Among 50 yeasts of red pepper paste isolated and identified in the previous report, 12 strains of yeast which possess osmophilic and non-film characteristics were examined their growth rates and alcohol fermentation ability in red pepper medium. 5 strains of yeast possessing powerful growth rates and excellent alcohol fermentation ability were selected as excellent yeasts in this experiment. And their cultural conditions, salt resistance and red pepper concentration upon the growth were examined in this report.

The results obtained were as follows:

(1) Among 12 strains of yeast, *Saccharomyces cerevisiae* group II(strain D₁), *Saccharomyces oviformis*(D₂), *Saccharomyces steineri*(M₃), *Saccharomyces rouxii*(D₉) and *Saccharomyces mellis*(G₈) were selected as excellent yeasts.

(2) Among 5 strains of yeast selected, the strain D₁ and D₂ showed the best alcohol fermentation ability and the best fermentative flavour.

(3) The optimum temperature for growth of the strain D₁ and D₂ was 25°C and M₃, D₉ and G₈ was 30°C. And their lethal temperature of the strain D₁ and D₂ was 62°C and M₃, D₉ and G₈ was 60°C with treatment for 10 minutes.

(4) The optimum pH for growth of all strains was around 5.0.

(5) The strain D₁ and M₃ were grown exceedingly well on the media containing 3 percent of NaCl and D₂, D₉ and G₈ on the media containing 6 percent of NaCl.

(6) In the case of 5 percent of red pepper liquor added 5 percent of glucose was more nutritional than in the case of 5 percent glucose only. However, the growth rates of yeasts were restrained by the increase of red pepper concentration.

緒 論

前報에서 著者(李等 1970)는 고추장 中에 生育하는 酵母를 熟成期間別로 計數 및 TTC agar 의 呈色反應에 依하여 類別하고 50株의 酵母를 任意分離하여 同定한바 있다. 이어서 本報에서는 分離同定한 50株의 酵母中 red pepper 및 食鹽培地上에서 왕성한 alcohol 醱酵作用을 하고 非産膜性인 優良酵母 5

株를 選定하여 이들 酵母의 培養 조건과 食鹽 및 red pepper 耐性에 對하여 實驗하였으므로 그 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 優良酵母의 選定

內徑이 同一한 시험관에 red pepper medium 을 8ml. 씩 分注하고 Durham 관을 使用하여 分離酵母中 食鹽 및 red pepper 에 耐

성을 갖고 alcohol 醱酵作用이 왕성한 酵母를 優良酵母로 選定하였다.

* Red pepper medium

고추가루 10g.을 물 100ml.에 넣어 40°C의 항온수조중에서 24時間 침출한 여액에 食鹽 15%, glucose 10%, yeast ex 0.5%, Bacto-beef 0.5%, KH_2PO_4 0.5% 添加

2. 選定酵母의 風味試驗

選定된 酵母를 red pepper medium과 Hayducks氏 액에 접종하여 25°C.로 5일간 培養한후 관능시험으로 檢査하였다.

3. 使用培地

Red pepper medium 과 malt extract (Blg 10%) medium 을 使用했다.

4. 培 養

上記의 各培地를 내경이 同一한 시험관에 6ml.씩 분주하여 가압살균후 맥아즙 한천사

면에 일주일간 前培養한 供試菌을 접종하여 30°C.로 4일간 培養하였다.

5. 發育度測定

培養液을 均一히 현탁하면서 3ml.를 取하여 원심분리(3000 rpm에서 20分間)하고 침전된 菌體를 10ml.의 증류수에 현탁하여 Hitachi spectrophotometer model 101로 파장 560 m μ 에서 혼탁도를 測定한 O.D.(optical density) 값으로 균체의 증식량을 비교하였다.

結果 및 考察

1. 優良酵母의 選定

前報(李等 1970)에서 分離同定한 50株의 酵母中 非産膜性酵母로서 18%食鹽含有 malt ex. medium에 잘 生育하는 12株의 酵母를 red pepper medium에 接種하고 5~10日間 培養하면서 生育 및 醱酵性에 對하여 實驗한 結果는 Table 1과 같다.

Table I. Growth and Fermentative test of the isolated 12 strains in the Red Pepper Paste.

Strain	Species	Condition of growth		Fermentation	Note
		Ring	Sediment		
D ₁	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group II	卄	卄	卄	high alcoholic fermentation
D ₂	<i>Saccharomyces oviformis</i>	卄	卄	卄	high alcoholic fermentation
D ₄	<i>Saccharomyces exiguus</i>	+	卄	+	weak fermentation
M ₃	<i>Saccharomyces steineri</i>	卄	卄	卄	high alcoholic fermentation
F ₆	<i>Saccharomyces veronae</i>	+	+	+	weak fermentation
G ₆	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	—	—	—	non-growth
M ₆	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	+	—	—	scanty growth
N ₃	<i>Saccharomyces bisporus</i>	—	—	—	non-growth
D ₉	<i>Saccharomyces rouxii</i>	卄	卄	卄	high alcoholic fermentation
G ₈	<i>Saccharomyces mellis</i>	卄	卄	卄	high alcoholic fermentation
D ₁₀	<i>Debaryomyces klockeri</i>	—	—	—	non-growth
N ₉	<i>Debaryomyces klockeri</i>	—	—	—	non-growth

12株의 酵母中 red pepper medium에서 잘 生育하면서 왕성한 alcohol 醱酵作用을 하는 菌株로서는 *Saccharomyces cerevisiae* group II (Strain D₁), *Saccharomyces oviformis* (D₂), *Saccharomyces steineri* (M₃), *Saccharomyces rouxii* (D₉), *Saccharomyces mellis* (G₈) 등 5株되었으며 G₆, N₃, D₁₀, N₉ 등의 菌株는 生育

이 極히 미약하였다. 우수균주중 D₁은 alcohol 醱酵力이 가장 강한 菌株로서 red pepper medium에서 接種후 5일경부터 alcohol 醱酵가 시작되었으며 7일동안 醱酵作用을 계속하였다. 佐佐木(1966) 등은 *Saccharomyces rouxii*가 간장에 香味를 부여하고 덧의 熟成에 關與하는 간장의 主因子酵母라고 報告하

였으며 海老(1961), 松山(1967), 加藤(1965) 등은味噌醸造에 *Saccharomyces rouxii*를 사용하여 사양시험하였고 著者等(李, 李 1970)은 高濃度食鹽耐性酵母인 *Saccharomyces rouxii* T₉을 分離하여 醸造에 利用하고 있다. 고추장 醱酵에 있어서는 *Saccharomyces rouxii*

를 비롯하여 *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces mellis* 등이 有用酵母로 생각된다.

2. 選定菌株의 風味試驗

選定된 5株의 酵母를 red pepper medium 과 Hayduck 氏액에 接種하여 5日間 培養후 風味를 관능시험한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Fermentative flavour and Taste test by selected in Hayduck and Red Pepper media.

Strain	Species	Flavour	Taste	Note
D ₁	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group II	alcoholic, sweet	superior	high alcoholic fermentation
D ₂	<i>Saccharomyces oviformis</i>	alcoholic, sweet	superior	high alcoholic fermentation
M ₃	<i>Saccharomyces steineri</i>	light sweet	good	
D ₉	<i>Saccharomyces rouxii</i>	alcoholic, sweet	good	high alcoholic fermentation
G ₈	<i>Saccharomyces mellis</i>	light sweet	ordinary	

醱酵 生成物의 風味에 있어서는 *Saccharomyces cerevisiae* 형인 D₁ 과 *Saccharomyces oviformis* 형인 D₂ 가 香氣와 맛이 가장 優秀하였으며 *Saccharomyces rouxii* 형인 D₉의 菌株와 *Saccharomyces steineri* 형인 M₃의 균주도 우량한 편에 속하였다. 한편 著者等(李, 李 1970)은 醱酵期의 샘플간장덧으로부터 6주의 高濃度 食鹽耐性酵母를 分離하고 이들에 對한 風味生成實驗을 한 結果 간장酵母에 있어서는 *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces*

cerevisiae group II 형이 맛과 향기 alcohol의 生成面에서 우량효모로 나타났는데 고추장 酵母로도 *Saccharomyces cerevisiae* group II, *Saccharomyces rouxii* 등이 맛과 향기가 우수함을 볼 수 있다.

3. 培養溫度

Malt extract medium 에 供試菌을 接種하여 15~40°C.로 各各 培養溫度를 달리하여 4일간 培養후 O.D.값을 測定한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. Growth rates of selected 5 strains in various Temperatures(Unit: the value of O.D at 560mμ).

Temp. °C	15	20	25	30	35	40
Strain						
D ₁	0.54	0.86	1.35	1.25	0.82	0.35
D ₂	0.48	0.95	1.28	1.20	0.86	0.28
M ₃	0.39	0.79	1.18	1.30	0.68	0.21
D ₉	0.35	0.82	1.21	1.32	0.71	0.25
G ₈	0.41	0.75	1.14	1.26	0.68	0.20

D₁과 D₂ 균주는 25°C.에서 M₃, D₉, G₈의 균주는 30°C에서 發育이 가장 양호하였다. 茂木(1938~1942)은 日本各地의 味噌로부터 分離한 味噌酵母의 培養溫度에 對하여 實驗한 結果 大部分 酵母의 生育最適溫度는 25~30°C였으나 H₁₇, H₃₈等과 같은 균주의 適溫은 35°C이며 40°C.에서는 거의 生育상태

가 不良하다고 報告하였고 大西(1961)는 食鹽耐性酵母인 *Saccharomyces rouxii*의 培養最適溫度는 30°C.라 하였으며 著者等(李, 李 1970)은 간장醱酵에 至大한 影響을 미치는 高濃度 食鹽耐性酵母中 *Saccharomyces rouxii*의 培養適溫은 35°C.였으나 기타의 酵母는 25~30°C.라고 報告한바 있는데 고추장中에

生育하는 酵母들도 간장이나 된장 酵母의 경우와 마찬가지로 25~30°C. 가 적은이었다.

4. 사멸 온도

Malt extract medium 에 供試菌을 接種하

여 44~64°C. 로 10分間 처리한후 급냉하고 30°C. 로 10일간 培養하여 菌의 生存여부를 조사한 結果는 Table 4와 같다.

D₁과 D₂의 균주는 62°C. 그리고 M₃, D₉,

Table 4. Extinction Temperature.

Temp.OC	44	46	48	50	52	54	56	58	60	62	64
Strain											
D ₁	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
D ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
M ₃	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
D ₉	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
G ₈	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

(+ : growth, - : restrain)

G₈의 균주는 60°C.에서 10분간 처리했을 때 모두 사멸되었다. 茂木(1938~1942)은 味噌 酵母를 45°C.에서 30分 加熱했을 때는 모든 균주가 生存하였으나 55°C.에서 10분간 加熱했을 때는 大部分이 사멸되었다고 報告하였고 大西(1961)는 간장 酵母인 *Saccharomyces rouxii* m-8를 無鹽培地에서 50°C.로 20分간 加熱했을 때 모두 사멸되었으며 18%食鹽含有培地에서는 55°C.로 15분간 加熱로 사멸되었으나 *Saccharomyces rouxii* m-11을 18%食鹽培地에서 20분간 加熱해도 사멸되지 않았

다고 報告하였으며 著者等(李, 李, 1970)은 高濃度食鹽耐性 酵母를 60°C.로 10분간 처리했을 때 완전히 사멸되었다고 報告한 바 있다. 고추장 酵母는 茂木, 大西등의 味噌 酵母나 간장 酵母에 比하여 사멸온도가 높은편이었으며 著者等이 報告한 高濃度食鹽耐性 酵母와 다소 비슷한 結果였다.

5. 배양 pH

Malt extract medium 의 pH 를 2.0~7.0으로 조절한 다음 공시균을 접종하여 배양한 結果는 Table 5와 같다.

Table 5. Growth rates of selected 5 strains in various pH.(Unit: the value of O.D. at 560m μ)

pH	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0
Strain						
D ₁	0.15	0.29	0.89	1.22	1.10	1.05
D ₂	0.19	0.35	0.85	1.26	1.18	1.10
M ₃	0.20	0.44	0.92	1.15	1.04	0.98
D ₉	0.17	0.38	0.78	1.19	0.98	0.90
G ₈	0.12	0.37	0.70	1.15	1.08	1.10

공시균주 모두가 pH 5.0에서 가장 發育이 良好하였으며 pH 2.0~3.0에서는 發育이 거의 억제되었다. 茂木(1938~1942)은 味噌 酵母의 發育範圍는 pH 2.4~7.9였으며 최적 pH는 4.0~5.5부근이라 報告하였고 大西(1961)는 *Saccharomyces rouxii*의 發育最適

pH가 無鹽培地에서 3.0~7.0, 18% 食鹽添加培地에서는 4.0~5.0이라고 報告하였고 著者等(李, 李 1970)은 高濃度食鹽耐性 酵母의 發育最適 pH가 4.0~6.0이라고 報告한 바 있는데 고추장 酵母의 경우도 茂木, 大西, 李 등의 報告와 유사하였다.

6. 培養期間

Malt extract medium 에 供試菌을 接種하여 1~5일간 培養한 다음 生育度を 測定한 結果는 Table 6 과 같다.

Table 6. Growth rates of selected 5 strains by Cultivated Time.

Strain	Days				
	1	2	3	4	5
D ₁	0.35	0.81	0.95	1.18	1.25
D ₂	0.52	0.90	1.15	1.28	1.30
M ₃	0.47	0.76	0.98	1.10	1.19
D ₆	0.42	0.88	1.02	1.13	1.18
G ₈	0.38	0.72	0.89	1.12	1.17

*(Unit: the value of O.D at 560m μ)

공시균주 모두가 배양기간의 경과와 함께 발육속도가 증가되었다.

7. 食鹽濃度

Malt extract medium 에 食鹽濃度を 0~18%로 各各 달리하여 배양후 O.D를 측정 한 結果는 Table 7과 같다.

Table 7. Growth rates of selected 5 strains in Malt extract medium of various NaCl concentration. (Unit: the value of O.D at 560m μ)

Strain	NaCl (%)						
	0	3	6	9	12	15	18
D ₁	1.30	1.38	1.21	1.15	0.86	0.45	0.21
D ₂	1.21	1.23	1.26	0.90	0.52	0.43	0.20
M ₃	1.32	1.36	1.23	0.88	0.62	0.21	0.16
D ₆	1.26	1.30	1.36	0.91	0.70	0.24	0.18
G ₈	1.15	1.18	1.24	0.82	0.68	0.25	0.20

D₁과 M₃의 균주는 食鹽 3%에서 D₂, D₆, G₈의 균주는 食鹽 6%에서 가장 發育이 良好하였으며 공시균주 모두가 無鹽培地에서 보다 3~6%의 食鹽培地에서 잘 生育하는 好鹽性의 酵母들이었다. 한편 食鹽濃度 12% 이상에서는 공시균주 모두가 억제현상을 나타냈으며 18%에서는 生育이 不良하였다. 茂木(1938)는 食鹽 5~10%의 培地에서 味噌 酵母의 生育과 醱酵力이 왕성하였으나 25%

의 培地에서는 醱酵가 거의 억제되었으며 食鹽量이 증가함에 따라 醱酵가 2~3일 지연된다고 報告하였다. 宋(1963) 등은 간장 産膜酵母의 生育最適食鹽濃度を 3~10%라고 報告하였고 著者 등은 高濃度食鹽耐性酵母의 最適食鹽濃度を 5~15%라고 報告한바 있다. 고추장 酵母의 경우에는 간장이나 된장효모의 경우보다 食염내성이 낮았다.

8. Red pepper 추출액濃度

5~30% red pepper 추출액에 glucose 를 5% 添加한 것을 培地로하여 供試菌을 培養한 다음 O.D값을 測定한 結果는 Table 8과 같다.

Table 8. Growth rates of selected 5 strains by various Red Pepper Liquor concentration.

Strain	Red pepper liquor conc. (%)						
	0	5	10	15	20	25	30
D ₁	0.22	0.70	0.62	0.55	0.42	0.36	0.25
D ₂	0.18	0.70	0.68	0.51	0.45	0.30	0.22
M ₃	0.15	0.58	0.47	0.40	0.36	0.30	0.23
D ₆	0.14	0.47	0.42	0.40	0.32	0.28	0.18
G ₈	0.10	0.54	0.48	0.39	0.33	0.27	0.10

(Unit: the Value of O.D. at 560m μ)

5% glucose 를 加당한 各種濃度の red pepper 침출액에 供試菌을 培養한 結果 red pepper 의 濃도가 5%일 때는 5% glucose만의 경우보다 營養소적 역할을 하였으나 그 이상으로 red pepper 濃도가 높아짐에 따라 억제 현상을 보여주었으며 특히 30%의 경우에 있어서는 生育이 극히 不良하였다. 한편 red pepper 침출액에 공시균을 接種후 培養상태를 관찰하여본 結果 공시균주 모두가 배양 4일 후에도 ring, islet, 기포의 출현이 전혀 나타나지 않았다.

9. 食鹽과 red pepper 의 영향

食鹽 5%의 맥아즙과 5%가당 red pepper 5% 추출액을 각각 상이한 비율로 배합한 培地를 만들고 공시균을 接種하여 食鹽과 red pepper 가 酵母의 生育에 미치는 영향을 살핀 結果는 Table 9와 같다.

Table 9. Growth rates of selected 5 strains by Different Ratio of NaCl and Red Pepper Liquor concentration.

Strain	NaCl(%)	10	8	6	4	2	0
	Red pepper(%)	0	2	4	6	8	10
D ₁		1.20	0.98	0.85	0.71	0.68	0.65
D ₂		1.18	0.80	0.75	0.72	0.68	0.65
M ₃		1.21	0.92	0.80	0.65	0.58	0.56
D ₀		1.32	1.02	0.86	0.70	0.58	0.46
G ₈		1.24	0.91	0.84	0.61	0.53	0.50

(Unit: the value of O.D at 560m μ)

5% 食鹽 malt extract 배지에서는 生育이 生育이 억제 되었다.
 良好하였으나 5% red pepper 추출액에서는

摘 要

前報에서 分離同定한 50株의 고추장 酵母中 耐鹽性이고 非産膜性酵母인 12주의 酵母를 red pepper medium 에 培養하여 發育도와 醱酵力이 강한 5주를 우량효모로 選定하고 이들의 一般培養조건과 食鹽 및 red pepper濃度の 영향에 對하여 검토한 結果는 아래와 같다.

(1) 供試菌株 12株中 *Saccharomyces cerevisiae* group II형 (strain D₁), *Saccharomyces oviformis*(D₂), *Saccharomyces steineri*(M₃), *Saccharomyces rouxii*(D₀), *Saccharomyces mellis*(G₈) 등 5주가 우량효모로 選定되었다.

(2) 選定된 5株의 酵母中 D₁과 D₂의 균주가 Alcohol 醱酵力이 가장 강했으며 醱酵生成物の 風味도 가장 우수하였다.

(3) D₁과 D₂의 培養最適溫度는 25°C이고 M₃, D₀, G₈ 등의 培養最適溫度는 30°C였으며 D₁과 D₂는 62°C로 10분간 그리고 M₃, D₀, G₈ 등은 60°C로 10분간 처리했을때 사멸되었다.

(4) 培養最適 pH는 供試菌株 모두 5.0 부근이었다.

(5) D₁과 M₃는 培地の 食鹽濃度 3%에서 그리고 D₂, D₀, G₈ 등은 食鹽 6%에서 가장 잘 생육하였다.

(6) Red pepper 5% 침출액에 glucose를 5%添加한 경우에는 5% glucose 만의 경우보다 영양소적 역할을 하였으나 그 이상으로 red pepper濃도가 증가함에 따라 發育도가 억제되었다.

끝으로 본 실험을 하는동안 시종격려와 후원을 하여주신 샘포장유양조장 박규희 사장님과 김정규 박승제 상무님께 심심한 사의를 표하는 바입니다.

引 用 文 獻

- Hiroshi Onishi, 1961. Studies on Osmophilic yeast, *Noda Report*(II)
- Lee, Taik Soo, Suk kun Lee, Sang Soon Kim, Tadashi Yoshida, 1970. Microbiological Studies of Red Pepper Paste Fermentation Part I), *Kor. Jour. Microbiol.*, 8, 151.
- Lee, Taik Soo, Suk Kun Lee, 1970. Studies on the Yeasts for the Brewing of Soy Sauce (Part 3), Isolation and Identification of Osmophilic yeasts for Higher Concentration of NaCl, *J. Kor. Agri. Chem. Soc.*, 13, 187.
- Lee, Taik Soo, Suk Kun Lee, 1970. Studies on the Yeasts for the Brewing of Soy Sauce (Part 4), Cultural conditions of the Osmophilic yeasts for Higher Concentration of NaCl, *J. Kor. Agri. Chem. Soc.*, 13, 193.
- Mogi, Masatoshi, 1939~1942. Studies On the yeasts for Brewing of Misso, *J. Agri. Chem. Soc. Japan*, 14, 951~18, 940.
- Song, Suk Hoon, Jong Hyup Kim, Ke Ho Lee, Yun Su Jung, Kun Hyung Chang, 1963. Studies on the preservation of soy sauce.(Part I.) The Isolation of Pellicle forming Yeasts from Soy sauce, *Technical report of military Army(Korea)*, 2, 32.
- Sasaki, Yuji, Tadash Yoshida, 1966. Microbiological Studies of Soya mashes in Hokkaido, *The Society of Fermentation Technology(Japan)*, 44 61.