

濁酒의 Microflora 에 관한 研究

李 周 植 · 李 泰 雨

(서울대학교 師範大學)

Studies on the Microflora of Takju Brewing

Zoo Shik LEE and Tai Woo RHEE

(Dept. of Biology, College of Education, Seoul National University)

ABSTRACT

The microfloral survey was performed from Kokja, mashes and commercial Takju, Korean wine, in order to serve as the basic materials for the study of Takju brewing. The cutlines were summarized as follows:

A) Microflora of Kokja

1. The complex microflora was shown in Kokja, an enzymic source which is made from raw wheat inhabiting the miscellaneous microorganisms.
2. The following microorganisms were detected in Kokja:

Molds		Yeast		Aerobic bacteria	
Genus	(No. of Sp.)	Genus	(No. of Sp.)	Genus	(No. of Sp.)
<i>Mucor</i>	2	<i>Saccharomyces</i>	7	<i>Micrococcus</i>	2
<i>Rhizopus</i>	6	<i>Pichia</i>	2	<i>Bacillus</i>	3
<i>Aspergillus</i>	2	<i>Candida</i>	3	<i>Aerobacter</i>	1
		<i>Torulopsis</i>	2	<i>Pseudomonas</i>	1
		<i>Hansenula</i>	2		

3. In for the investigation of *Fungus* distribution in Kokja specimens, *Rhizopus* group was mostly found out on the surface of Kokja, but only 2 species of *Mucor* were identified in the other parts except for the surface. *Aspergillus* group regarded as a saccharogenic microorganisms was distributed in a few cases of the Kokja samples.
4. The highest acid saccharogenic potency (a-S.P.) of *Fungus* group separated from Kokja was 187.3 in *Aspergillus*, 152.3 in *Rhizopus* and 70.8 in *Mucor*. Although some species of *Rhizopus* appeared strong a-S.P., low a-S.P. of *Mucor* group is considered to correspond with low a-S.P. in Kokja. *Aspergillus oryzae* separated from Kokja produced also low a-S.P.
5. Bacteria species detected in Kokja were proved *Micrococcus conglomeratus*, *M. flavus*, *Bacillus subtilis* or its variation types, and *Aerobacter cloaca*. Among these flora, *Micrococcus* groups were predominant in some cases.
6. 14 out of 32 species of yeast group separated from Kokja could be identified in this.

study. *Hansenula* group was distributed as the highest level and the dominant species was *H. anomala*. Even though *Saccharomyces* group to serve alcohol fermentation was appeared in the low level, *S. cerevisiae* was able to separate in Kokja. *S. acidifaciens*, which decomposes actively CaCO_3 in the Henneberg's medium, was easily detected in the most cases of Kokja specimens.

7. *Pichia* group identified with *P. delftensis* was distributed unexpectedly in low level. In the case that Kokja was cultivated in malt extract broth, the microflora of *Candida* group identified with *C. macedonensis*, *C. krusei* and *C. rugosa* was remarkably inhabited in the media. In addition to *Pichia* and *Candida* groups, *Rhodotorula minuta* and *Endomycopsis capsularis* was also detected in the media.

B) Microflora of Mash

1. The number of bacteria to contain the strong acidified ability was about 10^8 – 10^9 before manufacturing the mash, but decreased directly after the manufacturing (10^2 – 10^3). Population variance of *Micrococcus* group was entirely different between in mash using Kokja and in mash omitted it.
2. In case of utilization of Kokja, *Micrococcus* group was easily detected directly after immersing in the immature mash (10^4 – 10^5), but not in the mature mash.
3. *Bacillus* species isolated in the mash of Takju were chiefly *B. subtilis* and its variants, *B. megatherium* and *B. cereus var. mycoides*. But no propagation of these *Bacilli* was able to prove in the mash fermented normally.
4. When the raw mash was put in the sterilized flask and let it at room temperature (25°C), acetification by *Acetobacter* group was not observed in this experiment.
5. In case of utilization of Sake yeast as an enzymic source, *Saccharomyces cerevisiae* was prevalent in the mash and *Torulopsis sake* was the dominant species in some cases. However, *Hansenula* and *Candida* groups were vigorously multiplied along the progress of time. Especially for the isolation of black yeast, yeast-like fungi were dominantly detected in mash.
6. *S. cerevisiae* played an important part in the alcohol fermentation process. The fact that *Torulopsis sake* joins in alcohol fermentation of Takju may serve at the production of enzymic source.

C) Microflora of commercial Takju

1. In the commercial Takju which is diluted with tap water about twice quantity of mash, the rapid growth of *Micrococcus* group (10^6 – 10^7) and putrefaction phenomena were appeared.
2. Acid production bacteria and *Bacillus* group was prevalent in the commercial Takju.
3. *Bacillus subtilis* and *B. megatherium* were remarkably increased in Takju with inhabitation of *Pseudomonas* sp.
4. Gradual diminution of Sake yeast was observed as time goes on after manufacturing Takju. Secondly, pellicle formation yeasts were increased more or less in Takju, but the dominant species of yeast in the mash was transformed to different ones.
5. *Salmonella*, *Streptococcus* and *Escherichia* groups was not isolated from mash at all, so that catching a disease by Takju in summer is considered due to secondary putrefaction of it.

緒 論

濁酒는 蒸米에 5 割의 麴子와 10 割의 물을 加하여 20°C 内外에서 仕込, 전혀 攪拌하지 않고 5~10 일간 放置하면 술덧(膠)이 熟成된다. 이것을 漚(筋)에 넣어 손으로 덩어리들을 부수면서 濾過하고 남은 찌꺼기에 다시 後水를 넣어 漚(汁)을 짜내어 製成한 술이고 酸味와 臭味가 강하고 酒精分 6~7%가 含有되어 있는 것이 濁酒라는 具體的인 記錄이 1936年 發刊의 朝鮮酒造史(1936)에 있었다. 濁酒의 製造는 麴子製造의 發展에 따라 發展하였고 1920~1930 年代의 麴子에 對한 研究는 長西(1929)에 의한 報告等으로 알수 있다. 그 發表 題目은 “朝鮮麴子の 研究 및 그 製造法의 變遷 調査”이다. 濁酒 製造에 있어서 重要한 要素로 첫째 麴子, 둘째 酒母, 셋째 술덧(膠)으로 生覺하여 麴子の 開發이 顯著하였다. 이 時代의 麴子中의 微生物 動態와 現在의 微生物 動態와의 差異는 크다고 보며 製造에 쓰여지는 原料, 環境條件에 따라 麴子の 品質이 달라지므로 酒質에 差異가 있는 製品이 생기는 것이다. 酵素劑인 麴子 100% 사용은 1960 年代에 살을 쓰지 않고 밀가루 原料 代替條件에 따라 淸酒 製造法에 쓰여지는 製麴法(粒麴)을 導入하게 되어 麴子の 濁酒 製造에의 活用이 低下되었다.

그후 李(1967)는 濁酒 製造에 있어서의 酵素源 및 그의 效率의 添加方法을 發表하여 粒麴 20% 麴子 5%, 粉麴 1.25%의 세가지의 酵素劑를 使用하는 濁酒 製造가 現行되고 있다. 같은 酒母로 세가지의 酵素劑를 함께 쓰지 않아도 濁酒를 製造할수 있다는 理論이 나오고 單一 酵素劑를 索出하는 研究가 옥수수, 고구마 등의 代替原料 問題와 함께 대두되고 있다. 古來로 부터 오는 韓國 固有酒인 濁酒 製造에 麴子를 使用한 歷史的 事實을 無視하고 淸酒 製造法에 따르는 過程으로 濁酒를 製造함은 麴子에서 오는 風味와 香臭를 抹殺시키는 경우가 되며, 在來式

麴子를 쓰는 것이 濁酒라는 古來의 舊習을 그대로 이어 받쳐 않도록 새로운 開發이 있어야 할 것이다.

草道(1925)는 麴子(酵母가 多量 含有된 것)를 選擇하여 酒母를 따로 만들어 製造時에 添加하였다. 現在는 培養 酒母를 많이 活用하고 있으나 酵母는 單一性보다는 多酵母性이 있는 酒母(2 種類以上)를 쓰는 것이 ester로 인한 特殊한 맛을 가져 오는 것 같다. 이 酒母에는 有用한 乳酸菌도 含有되어 있어야 할 것이다. 武田는 麴子中의 *Saccharomyces* (1930)와 술덧(膠)中의 *Saccharomyces* (1937)에 關해 報告하였고 金(1968)은 濁酒 製造에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究에서 各種 麴子를 酵素源으로 하여, 여러 微生物(絲狀菌, 乳酵母, 酵母, 細菌類等)을 分離하였고 특히 4 種類의 酵母를 分離하여 그 性能 調査와 아울러 麴子中의 液化型, 糖化型의 amylase 生産能을 調査하였으며 그 性能은 仕込 24時間에서 最高였다고 하였다. 洪等(1968)은 市中 濁酒의 成分을 살로서 製造한 것과 比較하여 澱粉, 水溶性糖, 還元糖, alcohol, 아미노酸, 熱量, 酸度等을 製成酒를 相對로 調査한 바 있다. 李(1969)등은 술덧의 成分 動態에 關한 研究에서 여러 角度로 成分 分析을 한 것이 있다.

酵素劑에 있어서 種麴, 粉麴에 있어서의 微生物의 動態는 單一의 種類만이 使用되고 있으므로 그 自體의 microflora는 問題가 되지 않으나 麴子는 그 製造時 自然의 菌株가 關係하므로 製造過程의 microflora, 製造後의 microflora等 麴子의 microflora가 問題되고, 이 麴子, 種麴, 粉麴, 酒母等을 使用하여 濁酒를 製造하는 過程의 產物인 술덧(膠)의 microflora도 問題가 될 것이며, 濁酒 製造의 마지막 工程인 製成을 끝내고 市販酒로서 販賣되고 있는 製成酒(市販酒)의 microflora가 問題될 것임으로 이와같이 製造 工程上의 microflora와 麴子의 microflora等에 대한 微生物學的인 面을 中心으로 調

查 研究하여 報告코져 한다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

- (1) 酵素劑: 各 製造工場에서 分釀 받은 麴子, 粉麴, 種麴과 實驗室에서 製造한 酒母等
- (2) 實驗釀造酒: 各種의 實驗 釀造에서 얻은 술덧(膠), 實驗室에서 製成한 製成酒, 實驗 釀造에 使用한 用水(水道)等
- (3) 市販 濁酒: 市內 各 酒店에서 任意로 蒐集한 濁酒, 特酒라고 販賣되고 있는 密造酒等

2. 實驗 方法

- (1) Fungi (Molds)의 分離: 培地는 malt extract agar, Czapek's solution agar, Pfeffer's media, potato-malt extract agar, malt infusion Czapek's solution agar 에 Penicillin, Streptomycin 을 加한 培地를 사용 희석법에 依해 分離하였다.
- (2) Yeast 群의 分離: 培地는 potato-glucose agar, Y.M. media, malt extract agar 에 Penicillin, streptomycin 을 加한 鑑別培地를 使用하여 희석법에 依한 single colony 蒐集法으로 分離하였다.
- (3) 好氣性細菌의 分離: 培地는 nutrient agar I (beef extract 5g, peptone 10g, D.W.1%), nutrient agar II (beef extract 5g, peptone 10g, NaCl 5g, D.W.1%), nutrient agar III (beef extract 5g, yeast extract 3g, glucose 10g, D.W. 1%), potato glucose agar, E.M.B. agar 등을 使用하여 30°C, 37°C, 42°C의 溫度에서 single colony 법에 依해 分離하였다.
- (4) 酸生成 細菌의 分離: 培地는 tomato juice agar(B.C.P. 添加 鑑別 培地), liver infusion agar, Henneberg 의 釀造用乳酸菌 培地 a, b.等을 使用하고 眞空 desiccator 를 利用하여 25°C, 37°C, 42°C에서 single colony 법에 依해 分離 했다.
- (5) 菌數의 計算: Yeast 數의 計算은 Thoma

haemocytometer 法과 鑑別培地에 희석 培養한 colony 를 Quebec colony counter로 算定하였다.

死滅 yeast 數의 計算은 methylene blue 染色法을 利用하였다. bacteria 數의 計算은 희석법에 依한 single colony 法과 희석법에 依한 直徑 1 mm² loop 를 利用한 顯微鏡下總 菌體數 計算法에 依하여 算定하였다.

- (6) 有害 細菌의 檢査: 培地는 EMB lactose broth, BGLB 등의 大腸菌群 鑑別培地와 S.S agar, Mac Conkey agar, DHL agar, Staphylococcus medium No. 110 등의 食中毒細菌類의 鑑別培地를 使用하여 檢査하고 다소 의심스러운 것은 Kligler Iron agar, Sulfide Indol Motility agar medium 에 이식하여 *Escherchia coli*, *Salmella*, *Staphylococcus* 의 存否를 調査하였다.
- (7) 微生物의 同定: 酵母의 同定은 Iizuka *et al.*의 酵母의 分類同定法(1969)과 酵母의 同定法(1963) 및 Lodder *et al.*의 The Yeasts, Taxonomie study(1952)에 依해 分類 同定 하였다. 實驗方法中 炭素의 資化性 實驗은 paper chromatography 法을 應用하여 phenylamine 과 aniline alcohol phosphoric acid 溶液으로 發色시켜 對照하였다. vitamine 要求性 實驗은 Burkholder medum 을 使用 하였다. Pseudomycelium, truemycelium 등의 調査는 slide culture method 로 하였다. 酸生成能의 調査는 Henneberg 釀造用 乳酸菌 培地 b medium 을 사용 하였다. 醱酵能 實驗은 Karoly 의 micro-method 에 依하였다. Potassium nitrates의 資化性 實驗은 auxanographic method 로 調査하였고, 對照 區로서 基本培地에 (NH₄)₂SO₄를 使用한 培地를 使用하였다.

細菌의 同定은 Bergey's manual of determinative bacteriology 7 ed. 을 主軸으로 Merchant *et al.*의 Laboratory manual for verterinary bacteriology, Salle

의 Laboratory manual on fundamental principles of bacteriology, Stewart의 Bigger's Handbook of bacteriology, Levin의 Laboratory technique in bacteriology에 의해 동정하였고 동시에 分讓 받은 菌株의 比較하여 同定하였다.

(8) 濁酒 醱酵産物의 調査: pH의 測定은 Beckman pH meter 로, acidity는 濾過液 10 cc에 phenolphthalein 0.5 cc를 넣고 N/10 NaOH로 微紅色이 되기 직전의 點으로 標示 하였다. ethanol의 定量은 釀造分析法中 蒸溜法에 依해 蒸溜하여 Gay Lusac의 alcohol 환산표에 依해 ethanol percentage를 決定 하였다. Fusel

oil의 定量은 日本 釀造試驗所 酒類分析法에 依據 iso-butyl alcohol과 iso-amyl alcohol(10:1)의 混合液으로 0.01~0.001 Wt./Wt.의 標準液係列를 만든 후 electrophotometer를 사용하여 比色 定量 하였다. methanol의 定量은 日本 釀造試驗所 酒類 分析法에 따라 標準液係列에 의한 標準曲線을 만들고 electrophotometer를 使用하여 比色 定量하였다. 還元糖의 定量은 Bertrand法에 依해 定量하여 glucose로서 환산하였다. 酵素 試驗法中 saccharogenic power의 測定은 小野法으로 測定 하였다고, 糖量은 Bertrand法에 의거하여 glucose로서 환산 하였

Table 1. Distribution of Fungi in Kokja.

Kokja samples	1			2			3			4			5			6		
	Asp.	Rh.	M.	Asp.	Rh.	M.	Asp.	Rh.	M.	Asp.	Rh.	M.	Asp.	Rh.	M.	Asp.	Rh.	M.
Out layer	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Inner layer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+

Asp. Aspergillus group Rh. Rhizopus group M. Mucor group

Table 2. Fungi isolated from each enzyme sources and its amylolytic activities.

Source	Strain's number	Genus name of fungi	S.P	a-S.P
Kokja	RK-PG-1	Rhizopus sp.	181.7	152.3
	RK-PG-2	Rhizopus sp.	70.7	20.0
	RK-PG-6	Rhizopus sp.	108.0	72.4
	RK-Cz-4	Rhizopus sp.	57.3	50.5
	RK-Cz-9	Rhizopus sp.	156.2	112.4
	RK-CM-2	Rhizopus sp.	168.0	123.5
	MK-PG-1	Mucor sp.	173.5	70.8
	MK-PG-8	Mucor sp.	140.6	57.3
	AK-PG-1	Asp. niger sp.	211.0	187.3
	AK-PG-2	Asp. oryzae sp.	168.8	38.2
AK-Cz-4	Asp. niger sp.	210.3	184.7	
Koji	AKJ-1	Asp. kawachii sp.	330.0	308.2
	AKJ-2	Asp. kawachii sp.	278.4	245.0
	AKJ-3	Asp. kawachii sp.	205.2	179.4
	AKJ-11	Asp. oryzae sp.	240.0	48.0
	AKJ-12	Asp. oryzae sp.	162.0	24.0
	AKJ-13	Asp. oryzae sp.	156.3	20.0
Bun-Kuk	AKJ-2	Asp. usamii (shiro) sp.	417.2	392.5

다. Acid saccharogenic power의 測定은 5% 酵素液 50ml를 N/10 HCl로 pH 2.5로 하여 40°C의 water bath속에서 30분간 處理한 다음 30分後 N/10 NaOH로서 pH 5.0으로 補正한 後 測定 하였다.

(9) 實驗 釀造의 方法: 現行 許可되고 있는 밀가루 濁酒 釀造 方法을 對照로 하여 各種 酵素劑別로 釀造 試驗을 하였다. 또 開放式(從來의 方法)과 gas 排出이 容易하게 되어있는 密閉式의 容器를 使用하여 釀造 하였다.

實驗 結果

1. 糖化劑에 關한 調査

現在 使用되고 있는 酵素劑인 麴子, 粉麴, 種麴으로 부터 糖化菌을 分離 하였다. 特別 麴子에 分布하는 糖化菌의 分離는 外層(표면층)과 內層(속층)으로 區分하여 分離 하였으며 顯著한 分布의 差異를 發見하였다. 麴子內 糖化菌의 分布狀態와 各 酵素劑에서 分離한 糖化菌의 amylolytic activity는 Table 1, 2와 같다.

以上の 結果에서 麴子의 內層에 分布하는 糖化菌은 主로 *mucor* group이었다.

外層에 分布하는 糖化菌은 *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor* group의 順이었고 特別 *Aspergillus* group의 分布는 內外層 區別없이 顯著히 적었으며 *Rhizopus* group 역시 內層에서의 分布가 적었다. 濁酒 製造 過程에 있어서의 amylolytic activity는 S.P. 特別 a-S.P.가 優秀한 것이 安全하다. *Rhizopus* group에서는 RK-PG-1, RK-Cz-9, RK-CM-2가 優秀하였다.

Aspergillus group은 AK-PG-1과 AK-Cz-4가 우수하였다. *Mucor* group에서는 S.P.는 優秀하였으나 a-S.P.가 낮은 成績이었다. 種麴에서는 *Aspergillus kawachii*가 優秀하였다. 各 酵素劑에 對한 amylolytic activity는 Table 3과 같다.

Table 3. Range of amylolytic activities of each enzymes

Enzyme	Exp.	S.P.	a-S.P.
Kokja (Hankuk)		300~500	52~100
Lip-kuk of <i>Asp. oryzae</i>		70~100	low~40
Lip-kuk of <i>Asp. kawachii</i>		80~120	60~110
Bun-kuk (Samkong)		450~600	413~568
Bun-kokja		80~150	70~120

麴子의 amylolytic activity는 S.P.는 優秀하나 a-S.P.가 낮은 所見이었고 種麴의 경우 *Aspergillus oryzae*는 a-S.P.가 아주 낮은 所見이었으며 *Aspergillus kawachii* group은 良好하였다.

2. 酸酵劑에 關한 調査

麴子 및 市販 濁酒를 Penicillin 100γ/ml, streptomycin 20γ/ml를 添加한 Y.M media에 平板 培養하여 서로 다른 colony를 蒐集하고 다시 이들을 희석하여 malt extract agar에 培養하여 分離한 後 potato-glucose agar 平板上의 colony로서 特徵있는 colony 50株를 蒐集하였다. 이 50株를 同定한 結果는 Table 4와 같다.

以上에서 分離한 菌株中 alcohol fermentation potency가 높은 菌株를 별도로 조사 選定 하였다.

選定 方法은 밀가루의 엿기름 糖化液에 다시 種麴을 넣고 끓여 가래로 걸른 液을 滅菌 flask에 分注하여 넣고 malt extract broth에서 培養한 各 菌株를 1試驗管씩 接種하여 25°C에서 3日間 培養한 後 alcohol 量을 測定하였다. alcohol fermentation potency가 강한 菌株는 KY-3, MY-5, KY-15, MY-49 등이었는데 이들은 大部分 *Saccharomyces cerevisiae* 이었으며 市販酒에서 分離한 MY-29의 *Torulopsis sake*가 높았다. 한편 ethanol의 資化性은 *Hansenula*, *Candida*, *Pichia*等 産膜酵母가 ethanol sole carbon source에서 顯著히 잘 자라는 所見이었다. 麴子에서 分離되는 yeast colony의 大部分은 alcohol fermentation potency가 낮거나 가

Table 4. Various properties of yeasts

Strain number	Vegetative cell	Liquid medium	Ps, Tr, Ch, Ar, Bl, As, Ba	V.R
KY-1	Round, 3~4.5μ, budding	Ring, not turbidic, sediment block	+ + - - + - -	-
KY-3	Round, ovoid, 1.5~3.0μ, budding	Ring YM media 1 after a month, slightly turbidic, sediment	- - - - - + -	+
KY-4	Round, ovoid, 1.5~3.0μ budding	Ring in YM media 1, 2 after 1 month, slightly turbidic, sediment	+ - - - + + -	-
MY-5	Round, ovoid 4.5~6.0μ, budding	Slightly ring in YM 1 after a month, not turbidic, sediment	- - - - - + -	+
KY-7	Ovoid 4.5~7.5μ, multipular, budding	Creeping, not turbidic, sediment	+ - - - + - -	-
KY-9	Round, ovoid, 5~6μ, budding	islets, sediment, not turbidic	- + - - + + -	+
KY-13	Ovoid, cylindrical, 3×4.5~7.5, μ budding	Creeping, sediment	+ + - - - - -	-
KY-14	Ellipsoid, 4.4×7.3~2.8×13μ	Creeping, sediment	+ - - - - + -	-
KY-15	Round, ellipsoid, 2.8~2.8×3.5μ, budding	Ring in YM 1, 2 after a month, mediately turbidic, sediment	+ - - - + + -	+
KY-17	Ellipsoid, cyindrical, 4.2×5.6 or 2.8×7.2μ budding	Creeping, sediment	+ - - - + + -	-
MY-20	Round, 3.8~5.7, 2μ, budding	Ring and turbidic after a month sediment	- - - - - - -	+
MY-39	Round, ellipsoid, 2.5~4 or 1.6~7.8μ	Creeping, sediment, moderately tubidic	+ + - - + + -	-
KY-25	Ovoid, cylindrical, 3.0~5.5μ	Creeping, sediment, none pellicle	+ + - - + + -	+
KY-26	Round, ovoid, 2.5~3.0. ×4.5μ	Sediment	- - - - - - -	+
KY-34	Round, 3.4~5.6μ, multipular budding	Creeping, moderately turbidic, sediment	- - - - - + -	+
MY-36	Cylindrical, 3.2×7.0μ	Islets, sediment	- + - - + + -	+
KY-42	Ellipsoid 5.4×7.6μ, budding	Ring, not turbidic, sediment	- - - - - + -	+
MY-48	Round, 5.6~7.2μ	Islets after a month, slighty turbidic after a month, sediment	+ - - - - + -	+
MY-49	Round, 4.8~7.4	Ring in YM 1 after a month, sediment	- - - - - + -	+

Remarks : Ps: Pseudomycelium Tr: Truemycelium Ch: Chlamyospore
 VR: Vitamine requirements Gl: Glucose Ga: Galactose

의 없는 産膜酵母로서 *Saccharomyces cerevisiae* group 이 相當히 적었다. 現在 販賣되고 있는 酵素劑에 있어 yeast의 分離는 麴子 이외에는 分離되지 않았다. 그러나 麴子역시 alcohol 醱酵能이 높은 yeast를 添加하지 않으면 alcohol 醱酵가 低調하였으며 安定

性이 없었다. 市販 濁酒를 BGLB medium에 agar 2%를 添加한 培地에다 接種했을때 略稱 black yeast로 통하는 不完全菌이 多數 分離 되었다.

3. 細菌에 關한 調査

麴子等の 酵素劑, 用水, 술덧(膠) 및 市

isolated from Kokja and Takju.

Assimilation of Gl, Ga, S. M, L. A, KNO ₃	Fermentation of Gl, Ga, S. M. L. R	Special properties	Identification of strains
+ + + - + - -	+ + + - - 1/3	Litmus milk unchanged	<i>Candida macedoniensis</i>
+ + + + - + -	+ + + + - 1/3	Oval shaped spore	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
+ + + + - + -	+ + + - - 1/3	Undeveloped pseudo-mycelium	<i>Saccharomyces fructuum</i>
+ + + + - + -	+ + + + - 1/3	Globose shaped spore	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group
+ - - - - + -	+ - - - - -	Irregularly round colony	<i>Candida krusei</i>
+ - + + - + +	- - - - - -	Hat shaped spore	<i>Hansenula canadensis</i>
+ + - - - + -	- - - - - -	Litmus milk Alkaline	<i>Candida rugosa</i>
+ ± - - - + -	+ - - - - -	Undeveloped pseudomycelium, production of excess acid	<i>Saccharomyces acidifaciens</i>
+ + + + - ± -	+ + + + - 1/3	Hemispherical shaped spore	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i>
+ - - - - + -	- - - - - -	Hat-shaped spore	<i>Pichia delftensis</i>
+ + + + - + -	+ + + + - -	Litmus milk redish	<i>Torulopsis sake</i>
+ - + + - + +	+ + + + - 1/3	Hat-shaped spore	<i>Hansenula anomala</i>
+ - - + - + -	+ - - + - +	Hat-shaped spore	<i>Endomycoopsis capsularis</i>
+ + + - - + -	- - - - - -	Production of carotinoid	<i>Rhodotorula minuta</i>
+ - + + - + +	+ - - - - -	Hemispherical shaped spore	<i>Hansenula augusta</i>
+ + + + + + -	+ + + + - -	Trehalose fermented	<i>Pichia scolyti</i>
+ + + + - - -	+ - - + - +	Tetra spore	<i>Schizosaccharomyces maldevorans</i>
+ + + - - + -	+ - + - - +	Undeveloped pseudomycelium	<i>Saccharomyces elegans</i>
+ + + + ± - -	+ + + + - 1/3	Globose shaped spore	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> group

Ar: Arthrospore
S: Sucrose,

Bl: Blasto spore
M: Maltose,

As: Ascospore, Ba: Ballistospore.
L: Lactose, A: Arabinose, R: Raffinose

販濁酒로 부터 段階別로 分離하여 各種實驗을 통해 菌株을 分類 同定하였다. 그러나 아직 變異種等 同定치 못한 菌株가 많이 있으며 同定한 菌株도 standerd form의 菌株를 전부 갖추고 있지 않아 일부만 個別的으로 比較 同定하였다. 그 分類 同定の 成績은

Table 5와 같다.

麴子內에서 分離되는 細菌中에는 *Micrococcus* group이 多數 나타난다. 그러나 濁酒의 製成時에는 *Micrococcus* group의 出現은 드물다. 또한 麴子內에서 分離한 菌株中 많지는 않지만 *Aerobacter* group과 *Bacillus*

group도 쉽게 나타난다. 製成後에 빈번히 나타나는 細菌은 *Bacillus subtilis*의 variation group이 顯著하게 增加되었다. 또한 水道水에서 分離되는 *Bacillus cereus var. mycoides* 역시 濁酒內에서 많이 發見 되었다.

製成하지 않은 술덧을 오래두면 一般的으로 醋酸菌에 依한 醋酸醱酵가 일어날 것으로 生覺되나 本 實驗 期間中 醋酸菌의 分離를 爲한 試圖中 여러 貯藏 술덧중에서 醋酸醱酵의 發生이 없었다. 그러나 *Lactobacillus* group의 生長은 오랜 期間 旺盛하였으나 *Bacillus* group의 發育은 없었다.

4. 製造 過程에 있어서 微生物의 動態

濁酒 製造 過程에 있어서 나타나는 酸量, ethanol 量 및 bacteria, yeast 數의 增減關係와 實驗 釀造한 方法은 Table 6, 7, 8과 같다.

製造方法: 原料에 對해 製麴(粒麴) 20%, 麴子 5%, 粉麴 1.5%의 酵素劑를 添加하는 國稅廳長 公示 17호 2의 方法을 使用하였다.

(1) 1段仕込(酒母의 製造): 粒麴 1kg, 麴子 250g, 粉麴 75g, 麥芽汁 培養酵母 300ml 給水 1.5l 하여 25°C를 維持하였다. 이를

Table 6. Compare with 3 samples of mash after 24 hours passed

Brewing method Sample	Open system		Closed system
	a	b	c
Acidity	15.1	8.7	23.6
Ethanol(%)	2.7	0.8	1.8
Cells of bacteria	1.3×10^7	5.2×10^7	2.2×10^8
Cells of yeast	4.7×10^8	1.8×10^8	4.2×10^8

Table 8. Compared total cell of bacteria with yeasts among 3 samples of Takju diluting itself during 3 days in 30°C incubator

Sample Cultured hours	a			b			c		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Acidity	3.8	3.6	3.6	2.7	2.7	2.4	8.1	8.0	8.1
Ethanol(%)	4.6	4.2	3.5	4.3	3.7	2.9	4.5	4.5	4.0
Total cells of bacteria	1.5×10^8	2.0×10^8	1.2×10^8	2.7×10^8	6.9×10^7	2.5×10^8	1.2×10^8	1.3×10^8	8.3×10^7
Total cells of yeast	1.3×10^8	1.8×10^8	2.2×10^8	9×10^7	1.6×10^8	2.1×10^8	1.6×10^8	1.0×10^8	1.4×10^8

Remarks; a, b : open system c : closed system

密閉式과 開放式의 方法으로 24時間 經過시킨 後의 成績은 Table 6과 같으며

Bacteria와 yeast의 菌體量은 $10^7 \sim 10^8$ 으로 增殖은 顯著하였다.

(2) 2段仕込: 酒母에다 原料 4kg과 水道水 6.5l를 넣었다. 2段仕込後 24時間 經過한 48時間에 있어서의 成績은 Table 7과 같으며

ethanal의 量이 10.5~11.1%로 현저한

Table 7. Compared total cell of Bacteria with yeast among 3 samples of mash after 48 hours passed. Temp. 25°C

Contents	Sample		
	a	b	c
Acidity	9.2	6.5	20.5
Ethanol (%)	11.1	10.3	10.5
Total cells of bacteria	3.2×10^8	4.5×10^8	1.2×10^9
Total cells of yeast	2.6×10^8	2.4×10^8	3.4×10^8

※ a, b : open system c : closed system

增加를 보여주었고 bacteria와 yeast의 數亦是 상당히 增加되었다.

(3) 製成: 製成의 方法은 술덧을 漚(篩)에 걸른 다음 150% 給水한다. Table 8에서 製成한 술의 ethanal 含量은 24時間 經過時 다소 增加되는 所見이나 時間이 經過함에 따라 顯著히 減少된다. 初期 ethanol의 含量 變化는 一般的으로 酸度가 높으면 높을수록 比較的 安定 되었다. 製成酒內의 yeast의 動向은 24時間 經過에 따라 多少 增加하는 所見이었으나 開放式製造方法에서는 24時間 經過時부터 產膜酵母가 發生하여 ring을 形成하였고 72時間 經過時에서는 完全히 上層部에 被膜이 이루어 진다. 그러나

密閉式製造의 경우에는 72時間 經過時부터 産膜酵母의 出現이 나타났다. 이는 酸量의 多少가 産膜酵母群의 出現에 關係가 있음을 나타낸 것이다. 實際 다른 많은 實驗에 있어서도 酸의 量이 많은 경우에는 産膜酵母의 出現을 抑制하는 現象이 나타난다. 開放式과 密閉式에서 醸成후 출현하는 yeast와 bacteria의 종류는 상당한 차이를 나타내는데 이는 酸量의 多少에 크게 영향을 받는 것으로 思料되며 Bacteria의 경우 醸成直後에는 크게 變化가 없으나 時間의 經過에 따라 腐敗 細菌의 增加現象이 두드러지게 나타남을 쉽게 鑑別 할수 있었다.

(4) 微生物의 動向

濁酒 製造 過程과 販賣 過程에서의 acid production bacteria group과 *Bacillus* group 및 *Micrococcus* group의 動向을 調査하였다.

Acid production bacteria group의 動向 調査는 B.C.P를 添加한 tomato juice media (Difco)를 使用하여 酸生成이 있는 colony數로서 計算하였다. *Bacillus* group의 動向 調査는 potato glucose agar와 tomato juice agar 培地上의 colony 形態와 菌體의 性狀으로 判定하였다.

Micrococcus group의 調査는 potato glucose agar上에 나타나는 colony의 特徵으로 判定하였다. 製造過程과 醸成後 이들의 動向은 Fig. 1과 같다.

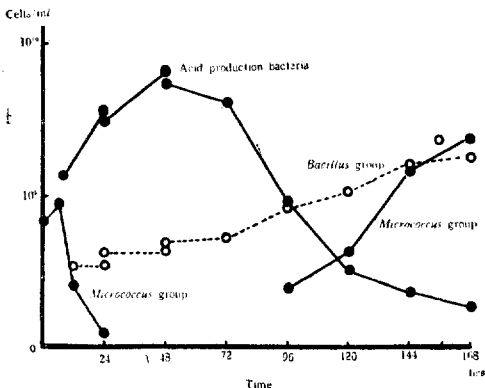


Fig. 1. Changes of microflora of bacteria during the brewing Takju.

Acid production bacteria group의 動向은 72時間(醸成後 24時間) 經過부터 顯著하게 減少되는 傾向을 나타내며 培養 120時間以上の 經過群에서는 極히 적은 數의 colony를 나타내거나 전혀 나타나지 않았다. 一般적으로 random sampling한 市販酒에서의 acid production bacteria의 出現은 볼수 없었다.

Bacillus group의 動向은 醸成을 계기로 해서 漸次 增加되는 現狀을 나타내는 傾向이었고 醸成後 濁酒를 30°C의 incubator內에 두었을 때 2~3日後면 特有的 腐敗香을 나타낸다. random sampling한 市販酒에서는 平均 10⁵~10⁶/ml의 colony를 얻을수 있었다. *Micrococcus* group의 動向은 麴子를 添加했을 경우 仕込後 24時間 以內에는 그 存在가 確認되었으나 熟成酒에서는 分離되지 않았다. 그러나 醸成後 48時間以上 經過된 濁酒에서 다시 增殖하는 現象을 볼수 있었다. 一般적으로 腐敗한 濁酒속에서는 *Micrococcus* group이 많이 檢出 되었으나 이들이 腐敗醱酵에 어떻게 關係하는지는 調査하지 못하였다. 濁酒 製造過程과 販賣過程에서의 濁酒內 yeast群의 動向은 Fig. 2와 같다.

Sake yeast를 酒母로서 添加하였을 경우 醸成後 24~48時間 經過時부터 漸次 死滅하여 그 數가 減少하였으나 産膜酵母는 醸成

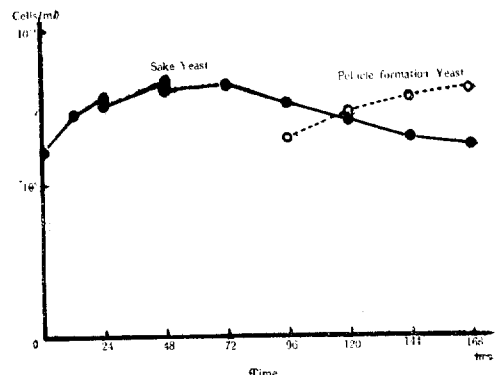


Fig. 2. Changes of microflora of yeasts during the brewing Takju.

後 48~72 時間 經過時부터 왕성히 繁殖하므로 總 酵母數는 增加를 나타내었다. Sake yeast의 動向 調査는 methylene blue 染色法에 依하였고 産膜酵母의 動向 調査는 直徑 5cm의 廣口瓶에다 濁酒를 一定量씩 넣고 每 24 時間마다 上層의 被膜을 조심스럽게 걷어 내서 잘 씻어낸 다음 회석하여 Thoma haemocytometer 로서 算定하였다. 産膜酵母의 出現은 腐敗現象의 始作이라고 할 수 있었고 一般的으로 産膜酵母의 出現이 있으면 바로 腐敗現象이 나타난다고 볼 수 있었다. 産膜酵母의 增殖이 腐敗細菌의 繁殖에 關係가 있는지 腐敗現象이 産膜酵母의 增殖을 促

進하는지는 調査치 못하였으나 産膜酵母와 腐敗와는 密接한 關係를 갖는 것 같다. 그러나 腐敗現象은 産膜母의 增殖 없이도 일어나지만 酸量과 ethanol 含量이 많으면 産膜酵母의 成長이 抑制되며 아울러 腐敗現象도 적었다.

濁酒 製造工程에 있어서의 密閉 醱酵方式과 開放 醱酵方式에 따른 微生物의 動態를 調査한 結果는 Table 9와 같다.

濁酒 製造 方法에서 醱酵工程을 開放式 醱酵工程과 密閉式 醱酵工程으로 區分하였을 때 酸生成量에 큰 差異를 나타냈다. ethanol 이나 microorganisms의 數의 變化는 開放

Table 9. Compared cells of bacteria with yeast in the mash of open and closed fermented system after 60 hours at ordinary temperature.

Sample No.	Ethanol	Acidity	Cells of bacteria	Cells of yeast	Brewing method
M-1(C)	12.1	20.5	3.2×10 ⁸	3.4×10 ⁸	Lip-kuk 20%, Kokja 5%
M-1(O)	11.8	15.2	3.5×10 ⁸	3.2×10 ⁸	Bun-kuk 1.25%
M-2(C)	10.6	20.0	4.5×10 ⁸	2.4×10 ⁸	"
M-2(O)	11.0	16.3	4.2×10 ⁸	2.9×10 ⁸	"
M-3(C)	9.3	23.5	3.5×10 ⁸	2.2×10 ⁸	Lip-kuk 20%
M-3(O)	9.6	13.7	2.4×10 ⁸	2.4×10 ⁸	"
M-4(C)	8.4	22.0	2.8×10 ⁸	1.2×10 ⁸	"
M-4(O)	8.5	14.2	3.0×10 ⁸	2.0×10 ⁸	"
M-5(C)	12.5	7.8	6.2×10 ⁷	5.1×10 ⁸	Bun-kuk 5%
M-5(O)	12.1	5.3	8.6×10 ⁷	5.8×10 ⁸	"
M-6(C)	7.2	7.4	1.2×10 ⁸	4.2×10 ⁸	"
M-6(O)	6.8	4.6	2.2×10 ⁸	3.7×10 ⁸	"

Remarks: O : open fermented system C : closed fermented system

Table 10. Relationships between Takju of dilution with water on temperature and hours.

Sample	Temp. Passing hours Exp.	Temp.														
		20°C					25°C					30°C				
		24	48	72	96	120	24	48	72	96	120	24	48	72	96	120
1	P. A.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	P. Y.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	±
2	P. A.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P. Y.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	P. A.	-	-	±	+	+	-	-	+	+	±	-	+	+	±	±
	P. Y.	-	+	+	±	±	-	+	+	±	±	±	+	±	±	±
4	P. A.	-	-	±	+	+	-	-	+	+	±	-	±	+	±	±
	P. Y.	-	-	+	+	±	-	-	+	+	±	-	+	±	±	±

Remarks; P.A.: Putrefaction and bad odor P.Y.: Pellicle formation yeast

式工程과 密閉式 工程間에 뚜렷한 差異는 없으나 酸生成量은 모든 實驗에서 密閉式 工程이 開放式 工程보다 120~170%나 많았다. 特히 粉麴 單一 酵素劑 使用의 경우 開放式에 있어서 가장 不足되는 酸生成量이 147~160%의 높은 差異點을 보였다. 現在 使用되고 있는 粒麴法에 依한 製造 方法으로는 密閉式 製造工程에서 酸生成量이 지나치게 많았다.

(5) 製成과 腐敗: 濁酒의 腐敗와 製成과 의 關係는 Table 10과 같다.

濁酒의 腐敗여부의 結定은 24時間 經過時마다 腐敗 特有의 냄새로서 判定하였다. Sample 1, 2와 sample 3, 4는 150%의 水道水로 製成한 것이다. 製成한 濁酒의 腐敗現象은 30°C에 가까워 질수록 顯著히 나타났으며 産膜酵母의 出現은 腐敗보다 다소 빨리 나타났으며 그러나 製成하지 않은 濁酒의 경우 腐敗形象은 나타나지 않았다. 産膜酵母의 出現 역시 製成하지 않은 濁酒에서는 그 增殖이 顯著히 抑制되고 있음을 보여 주었다.

腐敗濁酒中 細菌의 關與如否의 調査에서 이들 細菌은 한屬도 檢出되지 않았다.

考 察

1. 麴子의 microflora

麴子의 microflora에 對한 調査는 여러 學者에 依해 斷片的으로 調査된 바 있다. 麴子는 一般酵素劑와는 달리 15~30日間 生小麥被에 自然 發生하는 各種 微生物의 棲息體이고 各 微生物間에 複雜한 生態系를 나타내고 있다. 우리가 調査한 結果 *Mucor* 2種을 비롯한 *Rhizopus* 6種 *Aspergillus* 2種 등의 곰팡이가 棲息하고 *Saccharomyces* 7種, *Phichia* 2種, *Candida* 3種, *Torulopsis* 2種, *Hansenula* 2種 등의 各 酵母와 *Micrococcus*, *Bacillus*, *Aerobacter* 등의 好氣性細菌類의 繁殖이 證明되었다.

(1) Molds: 곰팡이에 對한 調査로는 李(1963)는 全國 麴子에서 分離한 *Aspergillus*를 同定하였으며 崔(1961)는 麴子內에 分布하는 各種 molds를 調査하였다. 李는

그 報告에서 *Aspergillus flavus*의 分布가 總 33株中 27株에 該當하고 그 밖에 *Asp. niger*, *Asp. fumigatus*, *Asp. clavatus* 등이 나타난다고 報告하였는데 本 實驗에서는 *Aspergillus flavus-oryzae* group과 *Asp. niger* group만이 分離되었다. 麴子內의 molds의 分布는 內外層을 區別하여 調査했을 때 表層 이외의 部分에서는 거의 *Mucor* 2種만이 分離되었다. 麴子糖化菌으로 生覺되는 *Aspergillus*의 分布는 적었고 表層部에는 *Rhizopus* group이 大部分이었다. 李(1967)는 濁藥酒 製造에 있어서 酵素源의 效率的 添加 方法에 對해 調査하였고 李(1967)는 麴子에서 分離한 molds의 生澱粉에 對한 糖化能을 調査한 바 있으나 糖化能中 酸性 糖化能에 對해서는 報告된 바 없다. 本 實驗에서 分離된 各種 molds의 酸性 糖化能(a-S.P.)은 *Aspergillus* 187.3, *Rhizopus* 152.3, *Mucor* 70.8이었고 *Mucor* 菌의 酸性 糖化能이 낮은 것과 附合되는 條件이며 麴子에서 分離한 *Asp. oryzae* group(黃麴) 역시 酸性 糖化能은 낮았다. 그러나 種麴, 粉麴菌으로 使用되는 *Aspergillus Kawachii*, *Aspergillus usami*는 각기 179.4, 392.5로 強한 酸性 糖化能을 나타냈다. 또한 麴子에서 分離한 *Rhizopus* 中에서 Rh-PG-1, Rh-CM-2, Rh-Cz-9은 a-S.P가 強했다.

(2) Yeasts: 麴子에 있어서 yeast의 調査는 韓(1959, '60, '65) 등이 全國 各地에서 蒐集한 麴子로부터 42株의 酵母를 分離하여 그 性狀을 調査한 바 있고 金(1948)에 依해서는 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium Chloride (T.T.C) agar 重層法을 利用한 生態的인 調査가 있었다. 그러나 各種 yeast에 對한 仔細한 分類學的인 報告는 볼수 없었다. 本 實驗에서 麴子로부터 分離한 yeast 菌株 32株中 14株를 同定하였다. 麴子內에서 가장 높은 分布를 보이는 것은 *Hansenula* group으로서 *H. anomala*가 優點種이라고 할 수 있으며 濁酒 醱酵能을 支配하는 *Saccharomyces* group의 分布는 높지 않았

다. 그러나 이들中 *Sacch. cerevisiae* group 을分離하였고 Hennebergs medium 上에서 CaCO_3 分解性이 강한 *Sacch. acidifaciens* 의分離가容易하였다. *Sacch. acidifaciens* 는濁酒 술덧內에서도容易하게分離되었다.

Potassium nitrate 資化性이 없는 *Pichia* group 의分布는 예상보다 적게 나타나는 것 같으며 *P. delftensis* 로 同定하였다. 無孢子酵母類의 *Candida* group 의分布는 麴子를 malt extract broth 에 前培養한 經遇 많이分離되었으며 분리한 *Candida* group 은 *C. macedoniensis*, *C. krusei*, *C. rugosa* 의 3種으로 同定하였다. *Rhodotorula* group 의 *Rho. minuta* 와 *Endomycopsis capsularis* 를 同定하였으나 그分布는相當히 적었다.

(3) Bacteria : 麴子內 bacteria 에 對한 調査로는 金(1961)은 麴子에서 10株의 細菌中 *Micrococcus varians* var. KC, *M. conglomeratus*, *M. epimetheus*, *M. subflavescens* No. 1, No. 2 및 *Bacillus ambignus*, *Bacillus leutus* 의 7株를 同定하였다. *Bacillus* group 에는 역시 *Bacillus subtilis* 와 이의 variation type 이 많이 나타나고 있었으며 *Aerobacter cloacae* 가 同定되었다. 그러나 麴子內에 分布하는 bacteria 는 *Micrococcus* 가 가장 勢優하였다.

2. 술덧(膠) 및濁酒內의 microflora

濁酒 술덧內의 microflora 에 關한 研究로는 金(1968)이 T.T.C agar 를 利用한 酵母의 動態 調査와 乳酸菌 및 好氣性 細菌의 動向에 對해 報告한 바 있다.

(1) Bacteria : 우리들의 成績에서는 *Lactobacillus* 의 動態에 關한 所見에서 그 消長은 仕込時부터 完熟時까지 發育이 繼續되고 密閉式 製造에서는 酸生成能이 높아지는 것 같았다. 酸生成能이 강한 細菌의 술덧內의 關係를 보면 製成時까지는 $10^8 \sim 10^9$ 程度의 分布를 보이나 製成直後에는 急激한 減少 現象 ($10^2 \sim 10^3$)이 나타났다. *Micrococcus* group 의 消長 關係를 보면 麴子를 使用한 것(麴子)에 使用치 않은 것과는 判異하게

다른 現象을 보인다. 麴子 使用의 경우 담금(仕込)直後에는 *Micrococcus* 의 檢出이 容易하나. ($10^4 \sim 10^5$) 熟成된 술덧內에서의 *Micrococcus* group 의 分離는 容易하지 않았다. 그러나 製成後 時間의 經遇에 따라 다시 增殖($10^5 \sim 10^7$) 하는 所見을 보였으며 腐敗 濁酒에서는 麴子 使用 有無에 關係없이 쉽게 分離되었다.濁酒 술덧內에서 分離되는 *Bacillus* group 은 주로 *Bacillus subtilis* 와 이들의 變異株가 많이 나타나며 *Bacillus megatherium* 이나 用水中에 包含되는 *Bacillus cereus* var. *mycoides* 도 많이 分布된다. 그러나 이들의 消長關係를 보면 正常 醱酵한 술덧內에서는 增殖을 認定할 수 없었으나 製成後의 增殖은 顯著하였다. 이 밖에도 *Pseudomonas* group 中 gelatin 液化能이 있는 *Ps. caviae* 가 同定되었으나 그 增殖은 顯著하지 않았다. *Aerobacter cloacae* 를 麴子內에서 分離하였으므로濁酒 술덧內에서도 그 存在를 確認하려고 하였으나 分離되지 않았다.

(2) Yeasts :濁酒 술덧內에서의 yeast 의 消長 關係는 金(1968)의 調査 報告에서 仕込後 156時間까지 繼續인 增殖을 나타낸다고 報告하였으나 本 實驗에서 Sake yeast 를 酒母로 使用한 경우 製成後 時間이 經遇됨에 따라 Sake yeast 의 死滅程度는 높아졌다. 그러나 二次的으로 pellicle formation yeast (産膜酵母)의 出現이 顯著하게 나타나는 즉 存在하는 酵母는 多少 增加를 보이나 술덧內의 優點種의 種類는 全혀 다른 것으로 遷移되었다. 麴子와 술덧內의 酵母와는 수적 順位에 있어 全然 다른 所見을 보인다. 市販 濁酒 술덧內에 分布하는 大部分의 yeast 는 *Saccharomyces cerevisiae* 가 優秀한 種이었으며 드물게는 *Torulopsis sake* 가 優點種으로 分離된 경우가 있었으나 時間의 經遇에 따라서 이들의 分布 樣相에는 큰 差異가 일어나서 *Hansenula* group, *Candida* group 의 繁殖이 旺盛하고 *Pichia* group 의 增殖도 認定할 수 있었다. 特異한 것은 black

yeast 로 불리우는 yeast like fungi 가 많이 나타나 고있었다. *Saccharomyces cerevisiae* group 이濁酒 醱酵 過程에서 酒精醱酵에 主로 關與 한다는 李(1969) 等의 報告와 本 實驗에서 수적으로 *Saccharomyces* group 의 分離가 優秀했던것은 부합되는 事實이다. 그러나 *Torulopsis sake* 가濁酒 酒精醱酵의 主菌으로 調査된 것은 새로운 事實이다. 이러한 事實은 酒母 製造工程에서 主醱酵 酵母로서 이들을 添加할때 起因하는 것으로 生覺된다.

3. 有害細菌의 檢査

濁酒內 有害微生物群中 大腸菌群에 關해

서는 柳等(1968)의 調査와 李等(1968)의 調査가 있으나 食中毒細菌類의 調査는 처음 시도 되었다. 일반 적으로 食中毒細菌類로 알려진 *Salmonella* group 이나 *Streptococcus* group 이 곡류에 서식하는 것으로 알려져 있으나 本實驗에서 市販濁酒나 麴子 등에서 이들과 類似한 細菌類는 전혀 分離되지 않았다. 이러한 結果 夏節期 濁酒로 因한 腸疾患은 이들에 의한것이 아니라 腐敗로 因한 二次的인 生産物에 의해 惹起되는 것으로 思料된다.

摘 要

濁酒의 microflora 調査는 麴子等 各種 酵素劑의 microflora 및 술덧(醪)과 製成酒의 microflora 로 區分하여 調査 하였다.

1. 麴子の microflora 는 麴子の 製造工程에 따라 差異가 있고 關與하는 菌株의 種類와 數에 差異가 甚하며, 一定한 標準 製品을 얻기는 매우 困難하였다. 많은 種類의 yeast 즉 *Saccharomyces* 7 種, *Pichia* 2 種, *Candida* 3 種, *Torulopsis* 2 種, *Hansenula* 2 種類 等의 發育과 *Aspergillus* 群, *Mucor* 群, *Rhizopus* 群의 分布가 證明되었으며 麴子の 內層에는 主로 *Mucor* 群, 表層에는 *Rhizopus* 群과 *Aspergillus* 群이 分布되고 있었다.

Bacteria 로서는 그 大部分이 *Bacillus subtilis* group 과 *Micrococcus* group 이었고 *Aerobacter* 도 證明되었다.

麴子에서 直接 分離된 Molds 의 a-S.P. 는 *Aspergillus* 187.3, *Rhizopus* 152.3, *Mucor* 70.8 의 成積이었다.

2. 술덧(醪 mash)의 microflora 는 麴子內에 있었던 *Micrococcus* 가 1 段 仕込에 依해 그 數가 줄어지고 酸生成細菌類의 增殖은 活潑해졌으며, Sake yeast 를 酒母로 使用했을 경우 *Saccharomyces* 의 繁殖이 活潑해지고 1 段仕込時부터 顯著히 增加하는 것을 본다. 이밖에 *Torulopsis*, *Hansenula*, *Candida*, *Pichia* 等의 yeast 의 繁殖이 證明되는 것으로 보아 濁酒의 alcohol 醱酵에는 單一種의 yeast 作用이 아니라 多種類가 關與하고 있었다.

3. 製成酒의 microflora 는 술덧을 約 2 倍로 희석하면 不在하던 *Micrococcus* 의 增殖이 活潑해지고 Sake yeast 의 增殖은 없어지는 代身 pellicle formation yeast(産時酵母)의 增加가 顯著해지고 腐敗細菌인 *Bacillus* group 의 增殖이 旺盛해 졌다. acid production bacteria(乳酸菌群)의 發育은 抑制되었고 2 倍 또는 2 倍半 以上으로 희석하는 方法의 製成은 腐敗現象을 招來 하였다.

4. 有害細菌인 大腸菌 및 食中毒細菌類의 檢出은 各種酵素劑 및 濁酒內에서 分離할 수 없었다.

REFERENCES

1. 張在統, 1962. 改良 濁酒製造法, 發明特許公報 第 31 號 公番 3193 號.
2. 鄭基澤, 1967. 韓國在來酒 改良에 關한 研究, 慶北大論文集(自) 11
3. 鄭淳泰, 1964. 약탁주의 제조법 특허공보 제 106 호 공번 64, 106
4. 鄭址圻, 1967. 原料를 달리하는 濁酒熟成醪中の 有機酸 및 糖類의 檢索에 關한 研究, 農化學會誌 8., (39), 43
5. 朝鮮酒造協會, 1935. 朝鮮酒造史, 朝鮮酒造協會 21., 122
6. 曹惠欽, 1970. 酵母의 生態學, 韓國微生物學會誌 8., (1), 41
7. 조덕현, 신용두, 1969. Gas chromatography 에 의한 한국산주류중의 유기산 검색, 기술연구소보 2., 1
8. 崔淑熙, 1961. 韓國麴子中の 微菌學的 研究, 成均館大 碩士學位論文集, 234
9. 總督府酒類試驗所, 1929. 白酒製造試驗, 釀造學雜誌 總督府 6., 44
10. 總督府酒類試驗所, 1928. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法の變遷調査 (十六), 朝鮮酒造協會雜誌 5. (2), 17
11. 朝鮮總督府酒類試驗所, 1926. 藥酒貯藏試驗報告, 朝鮮酒造協會雜誌 3., (2),
12. 朝鮮總督府酒類試驗室, 1929. 試釀藥酒貯藏報告, 朝鮮酒造協會誌
13. 朝鮮總督府酒類試驗所, 1927. 藥酒貯藏試驗報告 朝鮮酒造協會誌 4., (4),
14. Chung. J.H. 1967. Studies on the identification of organicacids and sugar in the fermented mash of the Takjoo made from different raw materials Jour. of Kor. Agri. Chem. Soc. 8., 39
15. Ernest Athearn Bessey, 1961. Morphology and Taxonomy of Fungi, Hafner Publishing Company ed, 1., 150
16. Fukomoto J., Yamamoto T., Tsuru D., 1957. Studies on bacterial amylase Report XXI Formation of bacterial amylase and Proteinase J., Agri. Chem. Soc Japan 31., 506
17. 洪淳佑, 河永七, 임병중, 1968. 시중막걸리의 성분과 동태 양조시험소보 1., 18
18. 洪淳佑, 河永七, 尹權相, 1968. 濁酒膠中の 糖化作用과 Amylase Activity 의 變化에 對하여, 韓國微生物學會誌 6. (4), 141
19. 홍순우, 하영칠, 윤권상, 1969. 막걸리의 성분과 그 보존성에 관한 연구(제 1 보), 기술연구소보 1., 46
20. 韓容錫, 全奩植, 1959. 韓國産酸酵菌에 關한 研究(第一報) 工研報告 9., 100
21. 韓容錫, 全奩植, 1960. 韓國産酸酵菌에 關한 研究(第二報), 工研究報 10., 112
22. 韓容錫, 金奇珠(1965. 韓國産酸酵微生物에 關한 研究 (第三報) 工研報告 19., 22
23. Ingram M.T.A. Robert, 1966. Microbiological Pirnciples in food irradiation(SM-73/14) Food. irradiation p267 procseding of Symposium. Karlsruhe 6., 10
24. 印鉉周, 李培成, 1968. 韓國 Rhizopus 屬의 分類學的 研究 (第一報), 韓國微生物學會誌 6. (3), 100
25. Katkura K.C. Hatanaka, 1959. Studies on the Production of enzymes by rice Koji, J. Soc. brew. Japan 54., 438
26. 全昊燮, 1961. 韓國麴子中の 細菌學的研究, 成均館大 碩士學位論文集, 292
27. 金燦祚, 1968. 濁酒 釀造에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究, 農化學會誌 10., 69
28. 金燦祚, 1959. 韓國酒類成分에 關한 研究(第2報), 農化學會誌 9. (59)
29. 金燦祚, 1967. 韓國酒類에 關한 研究 (第3報), 忠南大論文集 (自) 6. 3
30. 김익영, 1964. 주류제조방법, 특허공보 제133 호 공번 제133 호
31. 金光駿, 1968. 改良藥濁酒製造法, 發明特許公報第 40 號 公番 第 9025 號
32. 김승태, 1968. 탁주제조법, 特許公報 第 15 號 公番 250 號
33. 김성태, 1967. 탁주제조법, 特許公報 第 144 號 公番 136 號
34. 加來天民, 西川不二男, 1925. 朝鮮人飲食物及嗜好品の研究(第一報), 朝鮮醫學會雜誌 55, 33
35. 草道常春, 1925. 朝鮮酒酒母に就て 朝鮮酒造協會雜誌 2., 1
36. 草道常春, 1926. 夏でき腐う好釀造方法, 釀造

- 學雜誌 3. (4), 63
37. 李國植, 李泰雨, 1968. 막걸리의 Microflora, 酒類開發에 관한 研究發表抄錄, 2., unpublished.
 38. 李根培, 金鍾協, 1969. 放射線照射에 의한 韓國產濁酒 및 藥酒의 shelf-life 延長에 관한 研究 韓國微生物學會誌 7. (2), 45
 39. 李斗永, 1968. 리조프스속균의 중국 또는 국을 이용한 탁약주의 제조법, 特許公報 第 11 號 公番 第 11 號
 40. 李斗永, 1967. 韓國麴子の 醱酵生産力에 관한 研究, 韓國微生物學會誌 5. (2), 51
 41. 李培成, 丁聖九, 1969. 막걸리 대체원료에 따른 고성능 발효균주 개발에 관한 연구, 기술연구 소보 2., 4
 42. 李培成, 1968. 우리나라 발효제에서 분리된 미생물의 분리 및 생리학적 조사연구 (제 1 보), 양조시험소보 1., 39
 43. 이성범, 최계환, 임동순, 김덕치, 1969. 막걸리에 제조를 위한 효소제의 개발 연구(제 1 보) 기술 연구소보 2., 72
 44. 이성범, 임동순, 1968. 막걸리증 대장균군의 오염에 관한문제, 양조시험소보 1., 7
 45. 이성범, 장원진, 임병중, 김덕치 1969. 막걸리 제조시 술덧(mash)의 성분-동태에 관한연구(제 1 보), 韓國微生物學會誌 7., 153
 46. 李星範, 1967. 濁藥酒 製造에 있어서의 酵素源 및 그의 效率의 添加方法에 관한 研究, 韓國微生物學會誌 5. (2), 43
 47. 李炳宇, 1956. 改良濁酒製造法, 發明特許公報 第29號 公番 第 683 號
 48. 李炳宇, 1958. 改良藥酒製造法, 發明特許公報 第42號 公號 第1, 118 號
 49. 이춘녕, 장지현, 1969. 한국고유주조기술의 사적인 연구, 기술연구소보 2., 40
 50. 문명현, 김영준, 1968. 약탁주제조법, 特許公報 第 370 號
 51. 文明顯, 金元鎬, 李武性, 1962. 藥濁酒製造法, 特許公報 第 86 號 公番 3, 460 號
 52. 長西廣輔, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査, 釀造學雜誌 6. (10), 43
 53. 長西廣輔, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (八), 釀造學雜誌 6. (7).
 54. 長西廣輔, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (九), 釀造學雜誌 6. (10), 50
 55. 長西廣輔, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (六), 釀造學雜誌 6. (10), 33
 56. 長西廣輔, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 製造法의 變遷調査 (七), 釀造學雜誌 6. (10)
 57. 小原殿, 1939. 朝鮮產麴子に關する研究, 釀造學雜誌 17., 660
 58. 齊藤賢道, 1928. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (十五), 朝鮮酒造協會雜 5. (1)
 59. 佐田生, 1929. 麴子の製造に對する研究 (一), 朝鮮酒造協會誌 3. (6)
 60. 孫泰華, 1961. 濁酒釀造에 미치는 抗生物質의 影響 (第一報), 慶北大論文集 (自) 5., 157
 61. Sthelik G.K. Kaindle, 1966. Microbiological studies on the influence of combined process of heat and irradiation on the survival of *Sacch. cerevisiae* var. *ellipsoideus* (SM-7 2/43), Food irradiation (p 229 proceedings of a symposium Karlsruhe. 6., 10
 62. 武田義人, 1927. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (十四), 朝鮮酒造協會雜誌 4. (5)
 63. 武田義人, 1928. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (十三) 朝鮮酒造協會雜誌 4. (4)
 64. 武田義人, 1929. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (十一), 朝鮮酒造協會雜誌 4., 2
 65. 武田義人, 1934. 朝鮮產醱酵菌類의 研究 (第二報), 日本農化學會誌 10., 281
 66. 武田義人, 1927. 朝鮮麴子の 研究並に 該製造法의 變遷調査 (十二), 朝鮮酒造協會雜誌 4. (3)
 67. 武田義人, 1930. 朝鮮產醱酵菌類의 研究 (第一報), 日本農化學會誌 6., 1, 023
 68. Takeda, Z., 1935. Studies on Rhizopus species III, J. Agri. Chem. Soc. Japan 11, 845
 69. Taiji I., Yoshito T., Hiroshi I., 1965. Taxonomical studies on genus Rhizopus. The Journal of general and applied Microbiology II. Supplement Tokyo, Japan
 70. Yang Hyung Ho., 1959. Studies on the separation and identification of free amino acids in liquors by means of paperchromatography, 中央. 論文集 4
 71. 양조시험소, 1968. 서울시내 탁주제조장 정수 분석, 양조시험소보 1., 1
 72. Yamada S.I. 1966. Analysis of Alcohols.

- Analytical method for brewing, Japanese 4th ed. Sangyo Tosho KK Tokyo Japan, 99, 178, 108
73. Yoshio Otani Satoru Takahashi, 1961. Studies on the improvement of alcohol mash XXV Japan Jour. of Ferment. Technology 39. (1), 34
73. 유준, 장학태, 1968. 막걸리에 있어서의 병원성세균에 관한연구, 양주시립소보 1., 113