

## 메주에서 분리되어 단독균으로 발효된 메주와 간장

이상선 · 성창근\* · 배종찬\*\*\* · 유진영\*\*

한국교원대학교 생물과학 및 생물교육학

\*충남대학교 식품공학과

\*\*한국식품개발원 생물공학부

\*\*\*풀무원 중앙연구소

## Kanjang and Meju Made with a Single Inoculum of the Microorganism Isolated from the Korean Traditional Meju

Sang-Sun Lee, Changkeun Sung\*, Jong-Chan Bae\*\*\* and Jin-Young Yu\*\*

Dept. of Biological Science and Education, Korea National University of Education,  
Chung-Puk 363-791, Korea

\*Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chung-Nam National University,  
Taejon 305-764, Korea

\*\*Biotechnology Division, Korea Food Research Institute, Kyonggido 463-420, Korea

\*\*\*Pulmuone Co., Ltd. Seoul 138-169, Korea

### Abstract

Fifty three microbes, mainly fungal genera, were isolated from sixteen Mejus of different region. From those collected isolates, Meju was manufactured and assayed for the activities of amylase and protease. Correlations between sensory evaluation and color measurement were investigated with Kanjang (soy sauce) prepared by each pure inoculation. Color of Kanjang was quite various depending on fungal genera, but the taste was not quite related with the activity of amylase or protease. This fact might mean that taste of Kanjang depended on the complicate mechanistic action of enzyme for the substrate involved in the soybean hydrolysis. Thus, the taste of Kanjang originated from Korean traditional Meju seems to belong to complex flora of participated fungal genera as well as *Bacillus*. sp.

**Key words:** Kanjang(soybean sauce), Meju(soybean paste)

### 서 론

장류는 옛날부터 우리나라 각 가정의 반찬과 조미료로서 사용되어 식탁에서와 식품영양학적인 면에서 중요한 위치를 차지해 왔다. 장류로서 분류되는 고추장, 된장, 간장 중 간장은 왜간장과 조선간장으로 나뉘며 각기 다른 과정으로 만들어지고 있다. 조선 전통간장은 그 독특한 맛에서 시판되고 있는 왜간장과는 달라서 사용목적과 소비층이 다르다.

그러나, 간장의 맛과 함께 조선간장을 만드는 메주에 대한 연구는 매우 적으며, 전통메주에 관여하는 균의 서식양상에 대한 식품학적인 요인을 분석하는 것은 더더욱 연구된 바가 없다. 이러한 면에서 전통메주와 관

련되는 조선간장의 연구는 앞으로의 간장과학에 매우 중요한 것으로 생각된다.

현재까지 간장, 된장 제조과정에서 원료물질로 사용된 메주에 서식하는 균에 대한 연구는 여러 측면에서 연구가 진행되었으나, 발효메주에 대한 균의 서식 및 역할은 많이 밝혀지지 않고 있다. 일반 가정에서 만들어지는 메주는 가열처리한 콩을 공기 중에 노출시켜 발효한 것으로 다음과 같은 다양한 발효균속들이 보고되었다: *Aspergillus*(1-4), *Penicillium*(4,5), *Mucor*(6), *Rhizopus*(7) 및 효모(8), 세균(4,9). 그리고 이러한 균속들이 전통메주에서 분리되고 있다(10). 메주에서 일어나는 발효과정은 생물학적인 변화로 단백질 분해(11-15)와 전분 분해효소(11-16)와 지방 분해효소 등과 밀접한

† To whom all correspondence should be addressed

관련이 있는 것으로 알려지고 있다. 이러한 변화는 간장의 맛에 영향력을 줄 것으로 생각되어, 메주발효에 관련된 균의 서식양상은 전통메주에 중요성을 띄고 있다. 이러한 면에서 조선간장에 대한 전통메주의 균 서식과 관련된 기본적인 연구는 우리나라의 전통식품에 중요한 과제로 생각된다.

본 실험은 간장 제조과정의 원료물질인 메주에 대한 기초 연구로서, 메주발효에 관여하는 균들에 대한 기본 연구를 수행하여 간장의 주 원료인 발효메주에 대한 균의 동정과 균집락을 관찰함으로써 간장의 식품학적인 면을 관찰하여 간장의 맛과 색깔에 관여되는 기본자료 수집에 그 목적을 두었다. 우선, 각 지방에서 수집한 메주에서 균들을 순수 분리배양하였으며, 이들이 간장담금의 역할을 규명하였다. 그 결과 우리 전통메주에 있는 균들에 의한 단독균의 메주를 제조하여, 균들이 생화적인 변화를 야기시키는 단백질 분해와 전분 분해효소를 측정하였으며, 이에 대한 간장의 식품학적인 면을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 메주와 균분리

메주는 우리나라의 전국에 있는 조선 전통간장과 된장을 만들 메주를 수집하였다(수집일: 94년 12월부터 95년 3월). 각 수거 혹은 채집된 메주에서 우선 외부의 균 성장을 관찰하였으며, 이를 각각 냉동고에 보관하여 필요에 따라 사용하였다. 수집한 메주는 약절구를 이용하여 분말화해서, 멸균된 증류수에 넣어 희석하였다. 이 희석액을 0.5ml 취하여, 평판배지에 도말하여 28°C 항온기에서 배양하여 서식하는 균(이하 "메주균"이라함)을 분리하였다. 메주균이 분리하기 어려울 때는 균이 서식한 메주부위를 칼로 오려내어, 적당하게 습도를 유지하는 항온기에서 균을 재배양시켰다. 이때 나타난 균은 해부현미경 하에서 분생자의 색깔과 형태에 따라 구별하여, 멸균된 백금선을 사용하여 각균을 분리하였다. 분리배지로 사용된 배지는 potato dextrose agar(PDA)로, 한천이 굳기 전에 절산을 넣어서 pH 4.0로 조절하여 사용하였다. 평판배지 상에서 균총 형태와 색깔이 다른 것들은 일차적으로 현미경 하에서 포자낭과 분생자낭의 형태와 색깔에 따라 분리하여 동정하였다. 관찰된 내용과 계속하여 분리된 균이 일정한 균총과 현미경상 동일한 형태가 나올 때까지 균은 계속하여 분리하였다. 이러한 과정을 통하여 분리된 균들은 PDA에 보관하여 상온 혹은 냉장고에 사면으로 보관하였다.

### 균동정

분리된 균의 동정을 위하여 순수 분리한 균들을 배지 및 배양조건을 달리하여 배양하였다. 배양한 균총의 형태, 색깔 등의 기타 특징을 관찰하여 이를 동정에 이용하였으며, 아래와 같이 균의 종류에 따라 그에 관련된 참고문헌을 사용하였다. 각각의 균은 페트리 디쉬에 나타난 균총은 육안 및 해부현미경으로 관찰하였으며, 현미경 관찰에서는 slide culture 방법(17)으로 얻어진 분생자낭 및 포자낭의 모양, 색깔, 크기, 및 포자낭병(혹은 분생자낭병)의 특징에 중점을 두었다. 대부분의 경우, 세균들은 24시간 배양된 후에 균총이 나타났으며, 효모와 곰팡이는 배양기간 2~5일 경과 후에 나타났다. 여기서 각각의 분리된 균총은 현미경을 관찰하여, 포자낭이 확인되는 것을 접합균(*Mucorales*)으로 가정하여 분리 동정하였다(18-21). 분생자가 형성된 균들은 불완전균(*Hyphomycetes*)으로 가정하여 분리 동정하였다(19, 21-26). 여기에서 용어의 차이점으로 접합균으로부터 생산되는 포자낭(sporangium)으로 불안전균에서 생산되는 건조한 포자낭을 분생자낭(conidium)으로 파악하고 생태학적인 분류를 수행하였다. 접합균의 동정에서는 일반적으로 PDA 배지 혹은 2% malt extract agar(MEA) 배지를 사용하였으나, 불안전균인 *Penicillium*속과 *Aspergillus*는 Czapek's agar, MEA, PDA, 및 CYA의 균배지는 Ramirez & Martinez (24)의 방법에 따라 동정하였다.

### 메주담기

재래식 메주에서 분리한 메주균들이 메주에서 어떠한 역할을 하는지 알고자 메주담기를 하였다. 메주담기를 위하여 국내산 콩을 구매하였으며 이를 병(커피병; 9×9×17cm)에 넣고 상기균을 접종하였다. 커피병은 멸균시 쉽게 깨어지지 않아 완전 멸균에 적합하였다. 멸균할 때는 포자를 형성하는 *Bacillus sp.*를 사멸시키기 위하여 40분간 멸균한 후에 12시간 후 같은 조건하에서 20분간 재멸균하였다(27,28). 살균은 200g의 건조된 콩과 205cc의 수돗물을 병에 넣고 멸균기를 이용하여 125°C에서 15분 동안 살균하였다. 멸균된 콩에 본 실험에서 분리된 메주균을 접종한 후 28°C의 항온기에서 2주 동안 배양하여 단일균 메주를 만들었다.

### 분해효소

단백질 분해효소 역가측정은 시료 20g을 취하여 여기에 tris buffer(pH 8.1)를 동량 혼합 후 10,000g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 효소액으로 하였다. 10

mM N-p-tosyl-L-arginine methyl ester(TAME, Sigma)를 기질용액으로 하고(29,30) 완충용액은 pH 8.1의 tris buffer를 25°C water bath에 넣고 tris buffer 1.3 ml에 기질용액 0.15ml를 혼합한 후 준비된 효소액 0.05 ml를 가하여 247nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소역가는  $55,600 \times \Delta E/\text{min}[U/L]$ 으로 환산하였다. 또한, 2% 카제인 환천(casein agar)를 만들어 6mm의 구멍을 만든 뒤에 그 속에 밧 메주용액을 분주하여 30°C에 24시간 동안 보온하였다 한편  $\alpha$ -amylase는 KI를, glucoamylase는 dintrosalisilic acid(DNS)법을 이용하여 그 효소역가를 측정하였다(30).

### 간장담기

만들어진 메주는 색깔과 냄새 등 메주의 특성을 분석하였다. 또한, 이러한 메주는 2주 후 병의 뚜껑을 열어, 햇빛에 2주간 다시 말려서 수분을 제거하여 메주를 만들었다. 메주에 동일한 맥심커피병에 25%(v/w)의 소금물(순도 85%의 대한염업제) 600cc씩을 균일하게 넣었다 이러한 병에 곤충이 들어가지 않도록 뚜껑을 덮은 후, 20~25°C로 유지된 곳에 방치하여 3주 후에 간장을 만들고, 이를 단일균으로 제조된 간장으로 명칭하였다. 이때 만들어진 간장은 충남대학교 농과대학 식품공학과 대학원에 재학중인 10명의 학생들을 통하여 관능검사를 하였으며, 간장의 색도는 Hunter's system으로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 메주 서식균

전통식에 따라 메주를 제조함에 있어서는 공기 중에서 자연 발효를 함으로 공기속에 있는 모든 균들이 접촉되어 메주발효에 참여할 수 있다. Table 1에서 보는 바와 같이, 최소한 단일균이 작용하는 메주는 거의가 없고, 여러 종류의 균들이 메주발효에 작용하고 있다. 즉, 메주에서 균총이 성장한 부분을 떼어서 본다면 최소한 한두개의 균들이 있는 것을 관찰하였다. 또한, 메주에서 날콩사이와 메주가 건조되면서 나온 틈 혹은 균열사이에는 접합균들이 자란 것을 쉽게 관찰할 수가 있다. Table 1에서 전남 순창 메주 혹은 충남 예산 메주의 경우는 메주가 건조되면서 생긴 균열사이로 접합균들이 자라면서 만들어 놓은 포자낭을 관찰할 수가 있었다. 각 전통메주에서 위에서도 언급된 바로 접합균과 불완전균들이 같이 작용하는 것으로 생각된다. Table 2에서도 메주에서는 접합균과 불완전균이 발견되고 있는 것은

메주를 형성할 때에 균의 천이가 일어나는 것으로 사려된다. 메주발효 동안 일어난 물리적인 변화와 관련되어 미생물의 천이도 연구되어야 된다. 본 실험에서 나온 미생물의 발견에서는 *Bacillus*는 메주 덩어리 속에서 항상 있어 메주에서 간장맛을 내는데 무엇보다 중요한 것으로 생각된다. 그외 메주발효에서 오염균이 작용하더라도 최소한 간장맛을 내는 것은 세균인 *Bacillus*에 의하여 일어나기 때문이며, 다른 공기 중의 균들이 작용함으로 지역적인 특수성을 띄는 것으로 생각된다.

메주로부터의 분리된 메주균은 도시와 시골간에서 서식균이 완전히 다르게 나타나고 있다. 몇개의 균을 제외하고는 메주균은 완전히 서식상태가 다르게 나타났다. 즉, 세균인 *Bacillus spp.*와 *S. brevicaulis*를 제외하고는 지역적으로 매우 다른 균상을 보이고 있었다. 이러한 것은 메주가 만들어지는 지역의 환경 상태를 반영한 것으로 보인다. Table 1, 3에서 보는 것은 *Botrytis cinerea*와 *Cladosporium cladosporioides*가 시골지역(오염이 적은 지역)에서 나오는 균종의 대표적인 것으로 간주된다. *Chrysonilia sitophilii*는 붉은 포자와 흰 균사는 메주 표면에 퍼져 있어 쉽게 동정되는 균으로 메주발효를 인위적으로 제조된 발효실에서 온도가 높아 서식한 균으로 간주된다. *Paecilomyces variotii*의 균종은 곤충하고 관련되는 균으로 곤충내 기생하는 균으로 orchatoxin A를 생성하는 것으로(31), 어느 정도 균의 서식에 관련되어 메주 발효과정에서 일어난 것을 짐작할 수 있는 자료가 될 수가 있겠다.

*A. oryzae*는 여러 군데에서 채집된 메주에서 발견되는데 충북 청원군, 경북 금릉군, 경북 경산시, 충북 증원군 등의 지역에서 공통적으로 관찰되었다. 이 균은 일차 실험에서는 다양한 지역에서 특히 도심지 지역에서 관찰되는 균으로 인위적으로 사용하였을 가능성이 많다. 왜냐하면, 자연 발효과정으로 메주발효에서 공통적으로 발견되는 균이 적었고(Table 1), 먼 지역사이에서 동일한 균이 동시에 발견은 인위적으로 가능한 일이기 때문이다. *P. thomii*는 흰균사와 살색 포자낭을 만들고 푸른색의 분생자를 만드는 균으로 건조한 지역에서 곡물 저장에서 흔히 존재하는 균으로 알려져 있다. 이 균종에서는 경북 금릉군과 충북 청주시에서 발견되었으며 흔하지 않는 균으로 생각된다. 특히, *P. citrinum*에 대한 것은 충남 예산군, 전남 순창군 및 제주도에서 채집된 메주에서 발견되었다. 이 균의 특징으로 메주에서는 치즈 냄새를 형성하였다. *P. citrinum*은 배지에서 붉은 색깔을 내는 것으로 상당히 특이한 균종으로 생각되며 간장을 제조하여 향과 맛을 평가한 결과 매우 좋았다. 이러한 동정된 균종과 지역적인 환경을 비교하

Table 1. The fungi isolated from the various traditional mejus collected(December, 1994 to March, 1995)

Marks	Locations	Isolate	Identifications and simple descriptions
A	Danong Meju, Bukwimyun, Chongwongun, Chungbuk	M- 1	<i>Aspergillus oryzae</i> (Pale green colonies)
		M- 2	<i>Scopulariopsis brevicaulus</i> (dark brown, velvet colonies)
		M- 3	Bacteria (Red colonies)
		M- 4	<i>Aspergillus oryzae</i> (Pale green)
		M- 5	<i>Neurospora</i> ( <i>Chrysonilia sitophila</i> , Red color)
B	Danong Meju, Bukwimyun, Chongwongun, Chungbuk	M- 6	<i>Mucor hiemalis</i> f. <i>silvaticus</i> (short hyphae and chain sporangia)
		M- 7	<i>Rhizopus oryzae</i> (longhyphae) with the dark sporangia
		M- 8	<i>R. oryzae</i> (longhyphae) with the dark sporangia
		M-35	<i>Mucor racemosus</i>
C	Kim soeun Meju, Wangsil, Sunchanggun, Jeonnam	M-36	<i>S. brevicaulus</i> (dark brown, velvet colonies) similar to M-2
		M- 9	<i>Neurospora</i> ( <i>Chrysonilia sitophila</i> , Red color)
		M-10	<i>R. stolonifer</i> (long hyphae) with the dark sporangia
		M-11	Bacteria (transparent colonies)
D	13 people's traditionally home-made Meju, Sunchang gun, Jeonnam	M-12	<i>M. racemosus</i> short hair/ white sporangia
		M-13	<i>M. hiemalis</i> f. <i>hiemalis</i> , short white hair with a pale brown sporangia
		M-14	<i>M. hiemalis</i> f. <i>silvaticus</i> , Long hair hyphae and pale sporangia/
		M-15	<i>M. racemosus</i> , Long hair hyphae and pale sporangia/?
		M-16	<i>Penicillium citrium</i> like fungi with thw white hyphae at the edge.
E	Kim chael Meju, Nongsomyun, Keumneunggun, Kyongbuk	M-17	<i>M. racemosus</i> , Long hair hyphae and pale sporangia/
		M-18	<i>M. hiemalis</i> f. <i>silvaticus</i>
		M-19	<i>M. hiemalis</i> f. <i>hiemalis</i> (chlamydoconidium chained in the hyphae)
		M-20	<i>Botrytis cinerea</i> (The dark black colonies)
F	Lee dohi Meju, Nongsomyun, Keumneunggun, Kyongbuk	M-21	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (budding conidium)
		M-22	<i>P. griseo-pureum</i> (the dwarf colonies)
		M-23	<i>Absidia glauca</i> (Long white hyphae with and persistent sporing)
		M-24	<i>Ab. spinosa</i> with long hyphae and the black sporangium
		M-25	<i>A. oryzae</i> , Yellow aspergillus with two branches (primary sterigmata)
G	Jain Nonghyup Meju, Jainmyun, Kyongsansi, Kyongbuk	M-28	<i>P. thambii</i> (The blue colony but brown in the center, perfect stage)
		M-26	<i>P. griseo-pureum</i> (the dwarf colonies)
		M-27	<i>A. oryzae</i> , Yellow-Green colonics (primary sterigmata)
H	Lee byeongkeun's Meju, Ducksanmyun, Jinchongun, Chungbuk	M-29	The black aspergillus ( <i>A. niger</i> ).
		M-30	<i>A. niger</i> (No blight yellow colonies).
		M-31	<i>Paecilomyces variotii</i> (Pale green, velvet-dwarf, Brown colonies)
I	Lee haejong Meju, Chungju city, Chungbuk	M-32	<i>P. thambii</i> ( <i>Eupenicillium cinnamopurpleum</i> )
		M-33	Bacteria (white colonies)
		M-34	<i>S. brevicaulus</i> , but different from M-2 and M-36
J	Yaejon Meju, Keumsanmyun, Keumsangun, Chungnam	M-37	<i>Ab. glauca</i> , white colonies with long hair
		M-38	Bacteria (white colonies)
K	Chondungsan Meju, Sanchokmyun, Jongwongun, Chungbuk	M-39	<i>A. oryzae</i> (the dark green)
		M-40	<i>M. racemosus</i> , short hair/ brown sporangia
L	Yu higeun Meju, Namyeon Gun Myo So, Chungnam	M-41	<i>R. stolonifer</i> , long hyphae with the black sporangia
		M-42	<i>Ab. spinosa</i> , short hyphae with the brown sporangia
		M-43	<i>P. turolense</i> (simple penicillus with dark green blue velvet colonies)
		M-44	<i>P. citrinum</i> (irregular biverticulate penicilli with 2-4 phialides)
M	Han kibang Meju, Ganemyeon, Bukjejugun, Jeju	M-45	<i>M. hiemalis</i> f. <i>hiemalis</i> like hyphae but different, brown sporangia.
		M-46	<i>P. citrinum</i> (irregular biverticulate penicilli with 2-4 phialides)
N	Bak sungsu Meju, Keumnamyun, Yeonkugun, Chungnam	M-47	<i>P. turolense</i> , velvet like M-43
		M-48	<i>P. turolense</i> , velvet like M-43
		M-49	<i>Mucor</i> , short/ brown /persistent sporangia ( <i>Absidia</i> genus)
O	Chonggukjang Meju, Durewon, Geosangun, Chungbuk	M-50	Bacteria (white and glue-like colonies)
P	Namyongun, Ducksanmyun, Yesangun, Chungnam	M-51	<i>Pc. variotii</i> (Pale green colonies, velvet-dwarf, Brown colonies)
		M-52	<i>B. cinerea</i> (Yellow green colonies)
		M-53	<i>Cl. cladosporioides</i> (budding conidium, The dark black colonies)

**Table 2. The relative activities of protease(PA), caseine hydrolysis(HC),  $\alpha$ -amylase(AA), and glucoamylase(GA) in the mejus made with a single inoculum. Panel tests, color measured by Hunter's system(L, a, b) in the Kanjangs made from the above meju**

Fungal isolates	Meju				Kanjang			
	PA	HC	AA	GA	Taste(PT)	Color L	Color a	Color b
M-01	6.17	28	53	18	31	43.82	19.71	54.27
M-02	7.74	0	38	14	31	27.78	21.34	44.45
M-03	3.04	26	21	3	32	59.22	16.10	62.59
M-04	2.41	0	40	43	34	47.45	18.02	57.74
M-05	4.02	0	37	16	35	57.65	17.94	65.69
M-06	2.28	11	12	2	34	43.43	11.11	41.65
M-07	5.83	0	39	15	27	65.89	16.18	67.34
M-08	4.41	0	39	14	34	51.14	22.79	66.33
M-09	4.32	22	42	14	33	32.06	15.27	43.71
M-10	3.57	14	35	14	37	69.27	11.06	62.76
M-11	6.24	28	54	2	35	42.37	30.69	69.93
M-12	3.72	0	40	13	22	30.76	3.26	21.17
M-13	4.04	0	38	13	29	34.15	9.09	41.06
M-14	4.41	0	38	12	31	67.37	6.43	54.20
M-15	2.67	0	39	13	32	45.79	9.33	45.75
M-16	2.37	0	38	13	28	74.84	3.52	50.61
M-17	3.44	0	37	13	36	54.95	7.75	47.48
M-18	4.69	0	38	13	31	76.60	4.61	56.57
M-19	1.39	7	10	1	27	56.00	9.47	55.85
M-20	5.39	9	52	5	37	51.38	17.73	63.25
M-21	2.26	20	19	3	37	67.16	4.48	46.93
M-22	3.33	0	39	13	26	73.76	4.04	53.97
M-23	3.44	0	40	13	31	63.36	3.17	43.69
M-24	3.02	16	39	31	38	79.07	4.00	54.03
M-25	5.56	26	69	48	37	45.61	13.67	49.52
M-26	2.00	36	14	4	31	52.11	26.19	77.45
M-27	4.67	44	67	78	31	52.11	26.19	77.45
M-28	2.28	34	21	1	23	58.38	13.02	54.40
M-29	5.83	12	71	7	26	60.33	16.04	62.09
M-30	6.46	17	68	8	30	52.64	17.21	58.35
M-31	1.22	23	19	64	25	62.08	6.29	49.36
M-32	9.82	34	83	15	36	32.12	26.87	53.54
M-33	3.69	51	35	12	26	48.91	23.11	70.12
M-34	5.32	29	64	6	33	27.82	34.56	47.42
M-35	2.20	11	19	5	26	79.97	0.57	43.51
M-36	7.17	53	99	15	31	33.88	32.95	57.04
M-37	1.69	6	9	2	32	66.48	3.86	56.50
M-38	4.20	53	41	7	36	57.13	14.7	64.77
M-39	5.39	24	61	47	39	46.07	26.86	69.21
M-40	3.82	39	32	43	25	54.37	28.56	80.71
M-41	4.20	49	83	99	34	55.64	22.22	69.87
M-42	3.39	40	37	58	30	58.71	24.52	81.19
M-43	1.74	10	19	2	32	61.78	11.57	59.91
M-44	2.91	11	20	2	37	55.40	23.25	73.33
M-45	2.37	46	18	14	31	67.33	14.76	68.75
M-46	3.20	22	31	4	29	67.46	12.40	66.10
M-47	3.35	13	30	5	24	62.42	15.80	63.45
M-48	2.72	22	17	6	24	54.12	20.34	66.38
M-49	2.24	15	8	4	31	75.34	5.36	56.27
M-50	5.33	49	38	8	37	61.21	19.76	68.26
Average	3.94±1.77	19±17	39±20	18±21	31±4	55.3±13.6	15.4±8.8	58.4±11.7

Table 3. The relative activities of protease(PA), caseine hydrolysis(HC),  $\alpha$ -amylase(AA), and glucoamylase(GA) from eight different genera in the meju made with a single inoculum. Panel tests, color measured by Hunter's system(L, a, b) in the Kanjangs made from the above meju

Fungal genera	Meju				Kanjang			
	PA	HC	AA	GA	Taste(PT)	Color L	Color a	Color b
Bacteria	4.50 <sup>abc</sup>	41.4 <sup>a</sup>	37.8 <sup>b</sup>	6.4 <sup>a</sup>	33.2 <sup>ab</sup>	53.8 <sup>bc</sup>	20.9 <sup>a</sup>	67.1 <sup>bc</sup>
<i>Mucor</i>	3.11 <sup>ac</sup>	10.8 <sup>b</sup>	27.4 <sup>a</sup>	12.2 <sup>a</sup>	29.6 <sup>b</sup>	57.2 <sup>bc</sup>	9.2 <sup>bc</sup>	51.3 <sup>d</sup>
<i>Absidia</i>	2.89 <sup>ac</sup>	15.5 <sup>b</sup>	31.3 <sup>a</sup>	26.0 <sup>ab</sup>	32.8 <sup>ab</sup>	66.9 <sup>bc</sup>	9.0 <sup>bc</sup>	58.8 <sup>b</sup>
<i>Rhizopus</i>	4.50 <sup>abc</sup>	15.8 <sup>b</sup>	49.0 <sup>b</sup>	35.5 <sup>b</sup>	33.0 <sup>ab</sup>	60.5 <sup>bc</sup>	18.1 <sup>a</sup>	66.0 <sup>bc</sup>
<i>Asp. oryzae</i>	4.84 <sup>ac</sup>	24.4 <sup>b</sup>	58.0 <sup>b</sup>	46.8 <sup>b</sup>	34.4 <sup>a</sup>	47.0 <sup>a</sup>	20.9 <sup>a</sup>	61.6 <sup>d</sup>
<i>Penicillium</i>	3.55 <sup>ac</sup>	20.2 <sup>b</sup>	32.8 <sup>a</sup>	11.3 <sup>a</sup>	28.8 <sup>b</sup>	57.5 <sup>b</sup>	16.1 <sup>b</sup>	61.5 <sup>bc</sup>
<i>Scopulariopsis</i>	6.74 <sup>b</sup>	27.3 <sup>ab</sup>	67.0 <sup>b</sup>	11.7 <sup>a</sup>	31.7 <sup>ab</sup>	29.8 <sup>a</sup>	29.6 <sup>a</sup>	49.6 <sup>a</sup>
Others	4.03 <sup>abc</sup>	10.5 <sup>b</sup>	43.2 <sup>b</sup>	9.7 <sup>a</sup>	32.7 <sup>ab</sup>	57.2 <sup>bc</sup>	12.4 <sup>ab</sup>	55.4 <sup>d</sup>
Average	3.94±1.77	19±17	39±20	18±21	31±4	55.3±13.6	15.4±8.8	58.4±11.7

Table 4. Pearson correlations between two components measured or determined from the above

	Meju				Kanjang			
	PA	HC	AA	GA	Taste(PT)	Color L	Color a	Color b
PA	1.0000	.1844	.7939 <sup>b</sup>	.0687	.2520	-.5205 <sup>b</sup>	.5358 <sup>b</sup>	.0304
HC	.1844	1.0000	.2940 <sup>a</sup>	.3196 <sup>a</sup>	.0800	-.1609	.5770 <sup>b</sup>	.5037 <sup>b</sup>
AA	.7939 <sup>b</sup>	.2940 <sup>a</sup>	1.000 <sup>0</sup>	.4057 <sup>b</sup>	.2421	-.4470 <sup>b</sup>	.4961 <sup>b</sup>	.0347
GA	.0687	.3196 <sup>a</sup>	.4057 <sup>b</sup>	1.0000	.0835	-.0564	.2235	.2619
Taste	.2520	.0800	.2421	.0835	1.0000	-.0969	.1900	.1310
Color L	-.5205 <sup>b</sup>	-.1609	-.4470 <sup>b</sup>	-.0564	-.0969	1.0000	-.5837 <sup>b</sup>	.2281
Color a	.5358 <sup>b</sup>	.5770 <sup>b</sup>	.4961 <sup>b</sup>	.2235	.1900	-.5837 <sup>b</sup>	1.0000	.5832 <sup>b</sup>
Color b	.0304	.5037 <sup>b</sup>	.0347	.2619	.1310	.2281	.5835 <sup>b</sup>	1.000

<sup>a</sup>Significant correlations between the two components at 95% confidence level

<sup>b</sup>Significant correlations between the two components at 99% confidence level

면 그 지역의 공기중 균의 서식과 일치되는 것으로 메주 발효는 자연 속에 있는 균들에 의하여 좌우됨을 관찰할 수가 있었다.

한편 *S. brevicaulus*는 흰색 균사에 갈색의 포자가 생성되므로 상당히 외관상으로 받는 균으로 생각된다. 그리고, 단백질 분해능이 높은 것을 관찰하고 이 균을 배양하여 메주를 만들었을 때는 암모니아 냄새가 크게 나타났다.

접합균에 있어서 메주발효는 대부분 건조된 메주에서는 그 흔적이 관찰되었으나, 처음의 메주 제조과정 중 습기가 있을 때에 접합균이 많이 관찰되었다. 관찰된 접합균들은 *Mucor*, *Absidia*와 *Rhizopus*속이 특히 많았다. 또한 이들 다양한 균종들이 메주발효 초기에 잘 성장함을 관찰하였다. Table 2에서의 자료로 *M. huemalis*, *M. circinelloides* f. *griseo-cyanus*, *Ab. corymbifera*의 접합균은 메주 제조와 아울러 간장맛을 내는데 중요한 구실을 하는 균종이다. 이차 실험 Table 3에서 *R. oryzae*, *R. stolonifer*, *Ab. gluca* 및 *Ab. spinosa*가 메주 발효를 통하여 간장의 좋은 맛을 만들어 주는 균으로 나타났다. 이는 일차 실험 (Table 1, 3)을 통하여 접합

균도 메주발효를 통하여 어느 정도 조선간장의 맛에 관련된다는 것을 보여주고 있다. 메주가 삶은 콩에서 형성될 과정에서는 수분이 많고, 또 온도가 높기 때문에 건조되는 과정에서 접합균이 작용할 것으로는 생각되었다. 이러한 메주 생성과정에서 계속하여 균이 관찰되는 것으로 볼 때 위에서 언급된 접합균은 전통메주에서 중요한 역할을 해왔던 균으로 생각된다. 또한 각각의 다양한 균들이 발견되는 것은 위의 불완전균과 같이 지역에 따른 결과로 공기 중에 산재된 포자가 부착된 결과로 유추될 수 있다. *Absidia*속과 *Rizopus*속의 접합균은 초기 메주발효에 중요한 균으로서 이러한 균들이 작용함으로 메주발효가 일어나는 것으로 생각된다.

결론적으로 메주에서 분리된 균들은 간장맛에 관련하고는 있지만, 대부분은 미소한 맛의 특징들로 구성되어 있는 것으로 한국사람에게는 단일 순수한 맛보다는 복합적인 맛을 우선으로 느끼고 있음을 나타내고 있다. 메주가 처음 성형되었을 때 수분이 많은 상태에서는 접합균이 작용하여 초기 메주발효를 유도하고, 다음에는 세균인 *Bacillus*와 *S. brevicaulus*가 메주발효에 주작용을 하는 것으로 생각된다. 그리고, 메주발효에 다

른 균들이 새로이 서식하면서 효소작용 등에 의하여 복합적인 맛을 간장에 부여하는 것으로 보인다. 이러한 관점에서, 조선 전통간장의 맛은 일본의 왜간장과 달리 복합적인 균의 서식으로 나타나는 것으로 생각할 수 있다. 그러나, 중요한 간장맛을 내는 균은 세균이며(모든 메주에 포함되어 있는 균), 특히 강한 맛을 주는 *S. brevicaulus* 균이라고 생각된다. 그의 접합균은 자연 메주 발효에서 메주 전조단계에서 초기에 작용하여 간장의 깊은 맛에 관여되는 것으로 생각된다. 이러한 것은 메주의 물리적인 특성과 관련되는 것으로 현재로서는 이에 대한 자료를 뒷받침할 실험이 이루어져야 할 것이다. 그러나, 이러한 메주의 발효과정에서 물리적인 것을 뒷받침할 수 있는 중요한 미생물의 천이가 관찰되었다는 것에 이 실험은 의의가 크다고 생각된다.

메주에서 효소분해능

Table 3에서의 자료를 통계처리하여, 메주균으로 사용하였을 때에 간장맛과 비교 설명함으로써 메주발효에서 메주균의 중요성을 생각해 볼 수가 있다. 여기서 Table 3에 나온 간장맛은 20~30대의 연구자들이 관능검사한 내용으로 우리 전통간장맛과 다를 것으로 생각된다. 그러나, 기본적인 젊은 세대에서 느끼는 간장맛과 단일균 접종으로 메주가 형성되어 간장이 만들어진 것을 비교 설명하고자 한다. 즉 메주 자체는 식품이 아니고 간장을 통하여서 식품이 만들어지기 때문이기에 최종 좋은 메주로서는 간장의 평가를 하고자 시도하였다.

간장의 맛과 색깔

우선, 간장의 색도에 있어서는 Hunter 색분류계로 명도(L value), 적색도(녹색포함. a value), 황색도(노랑과 청색포함, b value)의 값을 이용하였다(박과오, 1995). 다른 자료로서는 단백질 분해능(PA)과 우유의 카제인 분해능(HC)을(Table 3) 그리고, 전분분해능으로 알파 아밀레이즈(AA)와 글리코아밀레이즈(GA)를 사용하였으며, 이는 모두가 간장을 담기 전에 만들어진 메주로부터 얻은 결과이다. 이러한 자료를 입력하여 서로의 상관관계를 통계처리하여 그 의의를 찾고자 한 결과 단백질 분해능으로 측정된 값은 카제인 분해능과 상관관계를 갖는 것으로 나타났으며, 이는 콩분해와 카제인 분해가 비슷한 내용으로 생각되어진다. 간장의 색깔에서 명도의 값은 PA와 AA가 서로 상관관계를 갖고 있다. 즉 콩의 내용물질이 효소에 의하여 분해됨에 따라서 많은 물질이 방출됨에 따라서 명도가 떨어지는 것으로 생각할 수가 있다. 적색도(a)의 값도 PA, HC, 및 AA

값에 의하여 비례하는 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 단백질 분해능도 카제인 분해능과 상관관계를 갖고 있었다. 여기서 나온 각각의 측정된 인자들에 있어서 서로의 상관관계는 일반적으로 추론할 수 있는 내용이다. 그러나, 간장맛과 관련되는 것은 어느 인자들도 상관관계를 보이지 않고 있다. 다만, 간장의 명도와 적색도의 값은 메주의 분해효소와 관련이 있는 것으로 균의 작용의 결과로 생각된다. 이러한 것은 메주균에 나온 효소능은 각각 다른 능력이 있는 것으로 나타났기 때문이다(Table 4).

여기서, 우선 간장의 명도나 적색도의 경우를 본다면, 메주균이 방출하는 효소의 능과 관련이 있었다. 이러한 효소의 분해능은 각각의 메주균이 생산에 의해 좌우되기 때문에 간장의 색도는 메주균의 능에 의해서 좌우된다고 생각된다. 그리고, 간장에서 가장 중요한 맛은 어느 한 요인(예: 단백질 분해능)에 의해서 일어나는 것이 아니고, 메주균의 총체적인 능력에 의해서 일어나고, 여기서 측정된 것 외 다른 어떤 것에 의한 것으로 생각된다. 여기서, 측정된 파라메타는 간장맛과 어떤 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Table 2와 Table 4의 결과와 함께 중요한 자료로 생각된다. 여기서 앞에서 언급된 바와 같이 간장의 색깔과 명도는 메주균에 의한 것이 나타났으나, 아직 측정하지 못하는 어떤 인자가 간장의 맛에 좌우되는 것으로 좀더 폭 넓은 연구가 필요하다고 하겠다.

요 약

충북 청원군 등 우리나라의 각기 다른 16곳으로부터 메주를 채취하여 53개의 균을 분리하였다. 이들 다양한 균으로부터 단독균을 사용하여 메주를 제조하고 효소활성도를 측정하였으며 간장을 담갔을 때에 관능검사와 색도를 통하여 이들간의 상관관계를 조사하였다. 균에 의한 간장의 색깔은 다양하게 나타났으나 간장의 맛은 간장 공장에서 중요시 여기는 단백질 분해역가와 관련성이 적었다. 즉 조선 전통메주로부터의 맛은 기질에 대한 효소의 작용양상에 따르는 것으로 나타났다. 또는 조선 전통메주의 맛은 조선 전통메주에 있어서는 최소한 여러가지 복합적인 균이 관여함으로 복합적인 균의 작용에 관련되는 것으로 생각된다.

문 헌

1 Chang, K. H., Lee, K. H and Park, S. O. ' Studies on koji for soy sauce brewing, 1. Isolation of *Aspergillus* sp Report of the Army Research and Testing Labo-

- ratory, **1**, 40(1962)
2. Lee, K. H. and Chang, K. H. : Studies on koji for soy sauce brewing, 2 On the optimum conditions of growth and identification of *Aspergillus* sp *Report of the Army Research and Testing Laboratory*, **2**, 24(1963)
  3. Lee, T. Y and Lee, S. K. ' Studies on toxic metabolites occurring in foods, 1 Screen test of aflatoxin in some Korean fermented soybean foods. *J. Korea Assoc. Food Sci.*, **1**, 78(1969)
  4. 조덕현, 이우진 . 한국 재래식 간장의 발효 미생물에 관한 연구. *한국농화학회지*, **13**, 35(1970)
  5. Chang, C H : The studies on improvement of ordinary meju by adding of barley koji. Commemoration Theses Sixtieth Anniversary, Seoul National University, p 81 (1966)
  6. Hahn, Y. S. and Kim, K. J. : Studies on manufacturing of soy sauce, 5. On genus mucor in Korean bean Meju. *The Report of National Industrial Research Institute*, **11**, 140(1962)
  7. Hahn, Y. S., Park, B. D and Chun, K. S. ' Studies on manufacturing of soy sause, 4. On genus *Rhizopus* and *Mucor* in Korean wine kokja. *The Report of National Industrial Research Institute*, **11**, 52(1962)
  8. 이택수, 이석전 : 간장 발효에 관여하는 효모에 관한 연구(제 1보). *한국농화학회지*, **13**, 97(1970)
  9. 안봉진 . 재래식 메주 발효과정 중 단백질 및 아미노산 조성 변화에 관한 연구 영남대학교 석사학위논문(1984)
  10. 이상선 : 조선전통식품으로 메주발효. *한국학회지*, **23**, 161 (1995)
  11. 김수근 . 알라스카 폴락 탈지대두박을 이용한 대두 페이스트의 조제. 과학기술원 석사학위논문. p.10(1976)
  12. 김창식, 신효선 : 콩을 이용한 치즈제조에 관한연구. *한국식품과학회지*, **3**, 57(1971)
  13. 노변섭, 이홍석, 김수일 : 대두 Bowman-Birk 형, protease inhibitor 들의 품종간 비교. *한국농화학회지*, **32**, 116(1989)
  14. 이서래 . 한국의 발효식품. *한국문화 연구원*, *한국문화총서* 15, 이화여자대학교 출판부(1986)
  15. 배만중, 윤상홍, 최정 . 개량메주의 숙성과정중 pretein 및 amino acid 변화에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **15**, 379(1983)
  16. 이철호 : 재래식 간장 및 된장제조가 대두단백질의 영양가에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **8**, 12(1976)
  17. Bilai, V. I. and Zakharchenko, V. A. : Range of soil micromycete growth temperature. *Mykrobiol. ZH*, **33**, 30(1971)
  18. Zycha, H and Siepmann, P. ' *Mucorales*. Verlag von J Cramer, p.355(1969)
  19. Gilman, J. C ' A manual of soil fungi. The Iowa state University Press, Ames, Iowa, U.S.A., p.8(1968)
  20. Domsch, K. H., Dams, W and Anderson, T. : Compendium of soil fungi. Academic Press, London, Vol. 1, p.859 (1980)
  21. Pitt. J. I. and Hockang, A. D. . Fungi and food spoilage. CSIRO, Division of food Res Sydney. Academic Press, Sydney(1985)
  22. Barron, G. L. : New and uncommon species of *Penicillium* in the U.S.S.R. *Micol. Fitopatol.*, **6**, 145(1977)
  23. Pitt, J. I. : The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces* Academic Press, p.634(1979)
  24. Ramirez, C and Martinez, A. T. : Manual and atlas of the Penicillia. Elsevier Biomedical Press, p 847(1982)
  25. Raper, K. B and Fennell, D. I. ' The genus *Aspergillus*. Robrt E. Krieger Publishing Company Huntington, New York, p.686(1973)
  26. Domsch, K. H., Dams, W. and Anderson, T. : Compendium of soil fungi. Academic Press, London, Vol. 2 p 405(1980)
  27. 이상선, 박광호, 최경진, 원순애 . 메주에서 분리한 접합균(*Zygomycetes*)의 분리동정. *한국균학회지*, **21**, 172(1993)
  28. 이상선, 박광호, 최경진, 원순애 . 메주에서 분리한 불완전균(*Hyphomycetes*)에 관한 연구. *한국균학회지*, **21**, 247 (1993)
  29. Bergmeyer, H. U. ' Methods of enzymatic analysis. Academic Press, Inc., Vol 2. p.1000(1974)
  30. 박종면, 오훈임 . 재래식 고추장 메주숙성 중 미생물과 효소력의 변화. *한국식품과학회지*, **27**, 56(1995)
  31. 강성길, 이상선, 신현길, 김종배 : 한국발효 대두식품에서 오크라톡신 A의 정량과 균분리. *한국균학회지*, **19**, 148 (1991)

(1997년 5월 3일 접수)