

## 고추균과 효모를 혼용첨가한 고추장 숙성 중 미생물과 효소활성도의 변화

오훈일 · 손성현 · 김정미\*

세종대학교 식품공학과, \*연세대학교 식품영양과학연구소

### Changes in Microflora and Enzyme Activities of *Kochujang* Prepared with *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces rouxii* during Fermentation

Hoon-Il Oh, Seonghyun Shon and Jeongmee Kim\*

Department of Food Science and Technology, Sejong University,

\*Research Institute of Food and Nutritional Science, Yonsei University

#### Abstract

Changes in microflora and enzyme activities of three kinds of *kochujang* were investigated during 6 months of fermentation. Three different kinds of *kochujang* were prepared using *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus oryzae* plus *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis* plus *Saccharomyces rouxii*. The pH of *kochujang* showed a slight decrease during fermentation. The number of mold and bacteria increased up to 30 days of fermentation and then decreased rapidly thereafter and the numbers of yeast increased after 30 days of fermentation. The viable cell counts of anaerobic bacteria increased remarkably up to 30 days of fermentation and then decreased to 60 days of fermentation. The activities of  $\alpha$ -,  $\beta$ - amylase and protease were the highest in *kochujang* prepared with *Aspergillus oryzae* plus *Bacillus licheniformis*.

Key words : *kochujang*, amylase, protease, *B. licheniformis*, *A. oryzae*, *S. rouxii*

#### 서 론

고추장은 옛날부터 전래해 내려온 우리 나라 고유 의 전통적인 대두 발효 식품으로 제조과정 중 amylase 의 당화 작용으로 인하여 생성된 당의 단맛, protease 의 단백질 분해 작용으로 생성된 아미노산의 구수한 맛, lipase의 작용으로 생성된 지방산과 고춧가루의 매 운맛 및 소금의 짠맛이 서로 조화되어 특유의 맛을 이 룬다. 이는 가정에서 메주를 이용하여 제조한 재래식 고추장과 공장에서 황국균(*Aspergillus oryzae*)을 이용 하여 대량 생산하는 개량식 고추장으로 분류되는데, 현 재 재래식 고추장의 경우 아직 산업화가 본격적으로 이루어지지 않고 있는 실정이다. 재래식 고추장 제조 에 있어 메주는 미생물 및 효소 원으로 중요한 역할 을 하는 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. 조와 이<sup>(2)</sup>의 보고에 의

하면 재래식 메주의 가장 독특한 미생물은 세균이며 곰팡이와 효모보다 월등히 많고 메주의 표면 및 내부 에 골고루 분포되어 있으며 주요 세균은 *Bacillus subtilis* 및 *Bacillus pumilus*의 2종이었고 메주 내부의 세균과 외부의 곰팡이에 의해 고추장이 발효 숙성되 어 독특한 향미를 부여한다고 하였다. 박과 김<sup>(3)</sup>은 메 주의 총균 수의 99%이상이 세균이고 곰팡이는 1% 이 하였으며 효모는 거의 검출되지 않았으므로 숙성이 주 로 세균에 의한다고 보고하였고 이 등<sup>(4)</sup>은 고추장에서 효모가 숙성 3개월까지 증가하고 그 후 감소되어 주 로 *Saccharomyces*속이 작용한다고 보고하였다. 이 등<sup>(5)</sup>은 재래식 고추장의 미생물 균을 검토하여 amylase 와 protease를 동시에 분비하는 우수 균주는 *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Aspergillus oryzae* 등이 라고 보고하였다. 재래식 고추장에서 발효에 관여하는 미생물 균은 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus licheniformis* 등 세균으로<sup>(2)</sup>, *Bacillus subtilis*는 생육온도가 30~40°C 인 호기성 고초균으로 구멍이 송송 뚫린 메주에서는 잘 자랄 수 있으나 점도가 비교적 높은 고추장의 내 부에서는 공기의 공급이 차단되므로 잘 자랄 수 없으

Corresponding author : Hoon-Il Oh, Department of Food Science and Technology, Sejong University, 98 Goonja-Dong, Kwangjin-ku, Seoul 143-747, Korea  
Tel : 82-2-3408-3229  
Fax : 82-2-3408-3569  
E-mail : ohhi@sejong.ac.kr

므로 제국용 균으로는 적합치 않으나 *Bacillus licheniformis*는 통성 혐기성 균이므로 고추장 내부에서도 잘 자랄 것으로 생각되어 제국용으로 적당한 균주로 생각된다.

*Aspergillus*속은 강력한 전분 당화력이 있어 간장, 된장, 탁주, 약주 등에 사용되는 유용한 균으로 이 전분 당화력을 이용하여 개량식 고추장에서 주로 사용하여 왔다. 고추장에서 효모를 동정한 실험결과 담금 초기에는 알코올 생성력이 강한 *Saccharomyces cerevisiae*가 동정되었으며 숙성 후기에는 고농도의 식염농도에서도 생육이 잘되는 *Saccharomyces rouxii*가 동정되었다<sup>6)</sup>. 고추장의 식염농도는 약 10~15%이므로 *Saccharomyces rouxii*가 바람직한 것으로 생각된다. 따라서 밀가루나 찹쌀만으로 제국을 하여 사용하는 것보다는 더욱 강력한 당화 효소를 분해하는 *Aspergillus oryzae*를 전분질 원료에 제국하여 사용하고, *Bacillus licheniformis*는 콩에 제국한 다음 이를 혼합하면 amylase 활성과 protease 활성이 각각 우수한 혼합 koji를 얻을 수 있을 것이다. 또한 전통고추장에서 분리하여 동정한 품미가 우수한 효모인 *Saccharomyces rouxii*를 첨가하면 고추장 제조시 숙성이 단축될 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 실제 공장에서 만들고 있는 *Aspergillus oryzae*를 접종한 A구를 control로 하고 *Aspergillus oryzae*와 *Bacillus licheniformis*를 혼용한 B구, *Aspergillus oryzae*와 *Bacillus licheniformis* 및 *Saccharomyces rouxii*를 혼용한 C구를 제조하여 이 세 구간 간의 숙성중 미생물과 효소력의 변화를 비교 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

찹쌀, 콩, 밀가루 및 고춧가루는 가락동 농수산물 시장에서 구입하였으며 소금은 식탁염(주식회사 한주, 순도 99%)을 사용하였다.

사용된 균주는 세종대학교 식품공학과 생명공학연구실에 보관된 *Aspergillus oryzae*(OUT 5048)와 *Saccharomyces rouxii*를 potato dextrose broth(PDB) 배지에 제대 배양하여 최대 활성을 보일 때 종균으로 사용하였다. *Bacillus licheniformis*는 재래식 고추장에서 *Bacillus* sp.를 분리한 후 protease 활성이 높은 것을 선택하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology<sup>7)</sup>에 의해 동정하고, nutrient broth(NB) 배지에 제대배양하여 종균으로 사용하였다.

### Koji제조

찹쌀 koji는 찹쌀(675 g)을 24시간동안 침수시켜 물을 빼고 건조시킨 후 가루로 분쇄하여 증자통에 넣어 30분간 증자시키고 실온으로 방냉시킨 후 미리 활성화한 *A. oryzae* 종균배양액을 25 mL 접종하여 30°C에서 120시간동안 배양하였다.

콩 koji는 콩(450 g)을 24시간 침수시킨 후 물을 빼고 건조시킨 후 분쇄한 다음 증자통에 넣어 30분간 증자시키고 실온으로 방냉한 후 미리 활성화시킨 *B. licheniformis*를 0.5% 접종시킨 다음 30°C에서 120시간 동안 배양하였다.

*S. rouxii*는 효모배양액에서 30°C에서 2일간 배양한 다음 10배씩 증량 배양하여<sup>8)</sup> 660 nm에서 흡광도를 측정하여 0.7이상의 값이 나올 때까지 배양한 후 최종적으로 살균수 2500 mL에 접종하였다.

### 고추장 제조

고추장 담금에 사용한 찹쌀, 콩, 밀가루, 식염 및 고춧가루의 원료배합은 Table 1과 같다.

대조구(A)는 *A. oryzae*만을 찹쌀에 접종한 후 30°C에서 3일간 배양한 찹쌀 koji로 고추장을 제조하였다. 고초균 첨가구(B)는 *B. licheniformis*로 접종한 콩 koji에 *A. oryzae*로 접종한 찹쌀 koji를 혼합하여 고추장을 제조하였고, 효모 혼용구(C)는 *A. oryzae*로 접종한 찹쌀 koji에 *B. licheniformis*로 접종한 콩 koji를 혼합한 후 *S. rouxii* 배양액을 첨가하여 고추장을 제조하였다.

Table 1. The mixing ratio of raw materials for preparation of kochujang

Treatment <sup>1)</sup>	Glutinous rice(g)	Soy bean(g)	Wheat flour(g)	Red pepper powder(g)	Salt(g)	Yeast cultivation media(mL)	Water (mL)
A	2,250	1,500	3,300	1,650	1,500	-	4,800
B	2,250	1,500	3,300	1,650	1,500	-	4,800
C	2,250	1,500	3,300	1,650	1,500	3,000	1,800

<sup>1)</sup>A: *Aspergillus oryzae*

B: *A. oryzae* + *Bacillus licheniformis*

C: *A. oryzae* + *B. licheniformis* + *S. rouxii*

Table 2. The media composition for determination of viable number of microorganisms

Bacteria (Nutrient agar)		Molds (Peptone-dextrose agar)		Yeasts (Malt extract agar)	
Beef extract	3g	Dextrose	10g	Malt extract	30g
Peptone	5g	Peptone	5g	Peptone	5g
NaCl	100g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g	Sodium propionate	2.5g
Agar	20g	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.5g	NaCl	100g
Distilled water	1L	Rose bengal	0.035g	Agar	15g
pH	7.0	Agar	20g	Distilled water	1L
		Distilled water	1L	pH	4.0
		pH	4.0		

이와 같이 제조된 고추장은 20°C의 항온기에서 6개월간 숙성시키면서 매 1개월마다 담금한 항아리(중요무형문화재 제 96호, 이종각)에서 윗 부분을 건어내고 약 15 cm 깊이에서 시료를 채취하여 분석에 사용하였으며 매번 3회 반복하여 실시하였다.

#### pH 측정

시료 20 g에 5배의 증류수를 넣고 1시간 동안 교반하여 충분히 혼합한 다음 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 불용성 단백질을 분리 제거한 후 상징액의 pH를 pH-meter로 측정하였다<sup>(9)</sup>.

#### 미생물 균수 측정

숙성 기간 중 30일 간격으로 채취한 고추장 20 g에 멸균된 증류수 180 mL를 넣고 상온에서 2시간 진탕 후 살균수에 10<sup>4</sup>~10<sup>8</sup> 범위로 단계 희석시킨 후, 미리 조제한 배지(Table 2)에서 평판 배양하여<sup>(8)</sup> 호기성 및 혐기성 세균은 37°C에서 1~2일, 효모와 곰팡이는 27°C에서 3~4일 배양한 후에 나타나는 colony의 균수를 계수하였다<sup>(2)</sup>.

#### 효소활성도 측정

효소 활성은 amylase와 protease로 나누어 역가를 측정하였다<sup>(10)</sup>. 시료 10 g에 증류수 200 mL를 첨가하여 밀봉하고 실온에서 4시간 진탕한 후 여과하여 효소액을 조제한 다음 효소활성을 측정하였다.

α-amylase의 활성도는 1% 전분 용액 2 mL에 0.02 M 인산 완충액(pH 6.9) 1 mL를 넣어 기질로 사용하였고 미리 조제한 효소액을 1 mL 첨가하여 40°C에서 30분간 반응시킨 후, 1 M 초산 10 mL로 반응을 정지시키고 N/3000 요오드 용액 10 mL를 넣어 660 nm에서 흡광도를 측정한 후 효소액 1 mL가 나타내는 흡광도의 차(blank-시료)를 unit로 표시하였다.

β-amylase 활성도의 경우 dinitrosalicylic acid<sup>(11)</sup>으로 측정하였으며 1% soluble starch를 0.4 M 초산 완충액(pH 4.8)에 용해시켜 1 mL 취한 것을 기질로 사용

하였고 효소액 1 mL를 혼합한 후 30°C의 항온조에서 정확히 10분간 반응시킨 후 dinitrosalicylic acid reagent 3 mL를 첨가하여 발색시켜서 660 nm에서 흡광도를 측정하여, maltose로 표준곡선을 작성하여 효소액 1 mL가 maltose 1 mg을 유리시킬 때의 효소량을 1 unit로 하였다.

Protease의 활성도는 기질로 1.0% casein(Sigma사)를 0.1 M lactic acid buffer(pH 3.0)에 녹인 1% casein 1 mL와 증류수 1 mL를 시험관에 넣고 항온 수조에서 30°C로 조정된 후 효소액 1 mL를 첨가하여 10분간 흔들어 준 후 0.4 M TCA 용액 3 mL를 넣어 반응을 정지시킨 후 30분간 정치하였다. 이 반응액을 여과한 후 여액 2 mL를 취하여 다른 시험관에 옮겼다. 이 시험관에 0.55 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5 mL과 Folin reagent 3 mL를 넣고 30°C에서 30분간 반응시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 반응조건 하에서 1분간에 tyrosine 1 μg을 유리시키는 효소량을 1 unit로 하였다.

## 결과 및 고찰

#### pH의 변화

pH는 미생물의 생육 및 효소 생성량에 영향을 미치므로 미생물이 분비하는 효소에 의해서 숙성시켜 사용하는 고추장의 경우 pH는 고추장의 품질에 매우 중요한 영향을 미친다. 또 pH의 변화에 따라 미생물군도 변화하므로 고추장에 있어서 pH 변화는 숙성상태를 간접적으로 알 수 있는 자료가 된다.

고추장 숙성기간 동안의 pH 변화는 Table 3과 같이 담금 직후에는 5.29~5.35였으나, 그 후 점점 낮아져서 숙성 60일 경에는 4.71~4.84의 범위를 나타내었다. 시험구별로는 A>B>C구의 순으로 pH가 높았으나 유의적인 차이는 없었다. 효모 첨가구에서는 숙성초기에 pH가 강하됨을 보여주었으나, 그 후에는 큰 변화는 없었다. 이러한 pH의 강하현상은 고추장 숙성과정 중 젖산균에 의한 젖산 및 각종 유기산의 생성으로 인한 결과로 생각된다. 재래식 고추장의 경우 이 등<sup>(12)</sup>은 숙성

Table 3. Changes in pH of the *kochujang* during fermentation

Sample <sup>1)</sup>	Fermentation time (days)						
	0	30	60	90	120	150	180
A	5.35 ± 0.01	4.93 ± 0.05	4.84 ± 0.03	4.77 ± 0.01	4.65 ± 0.03	4.53 ± 0.01	4.57 ± 0.01
B	5.32 ± 0.02	4.84 ± 0.07	4.74 ± 0.04	4.75 ± 0.12	4.69 ± 0.15	4.63 ± 0.13	4.64 ± 0.10
C	5.29 ± 0.00	4.75 ± 0.03	4.71 ± 0.04	4.73 ± 0.21	4.69 ± 0.21	4.67 ± 0.25	4.68 ± 0.01

<sup>1)</sup>A: *Aspergillus oryzae*

B: *A. oryzae* + *Bacillus licheniformis*

C: *A. oryzae* + *B. licheniformis* + *S. rouxii*

기간 동안 pH가 4.35~4.97로 보고하였고 개량식 고추장에 있어서는 이<sup>(13)</sup>는 4.5~4.9로 숙성 30일까지 급격히 떨어지나, 그 후 완만히 감소하다가 90일 이후 약간 증가한다고 보고하여 본 실험과 비슷한 경향을 보였다. 곰팡이 단용구에 비해 곰팡이와 고초균 혼용구에서 비교적 산 생성이 활발함을 알 수 있었다. pH의 저하는 미생물의 성장, 특히 효모의 성장과 밀접한 관계를 보여주었다. 즉 pH가 5이하로 강하되면서 효모가 출현한 것을 관찰할 수 있었고, 특히 곰팡이는 pH가 강하되면서 크게 저해받는 것이 관찰되었다.

미생물 수의 변화

고추장 숙성과정 중 호기성 세균의 변화는 Fig. 1과 같이 고초균을 첨가한 B구와 C구는 담금 초기 3.9~4.2 × 10<sup>6</sup> 생균 수였던 것이 숙성 30일 경에는 급속히 증가하였고 그후 서서히 감소하여 숙성 90일 이후에는 일정한 수준을 유지하는 경향을 보여주었으나, 곰팡이만을 첨가한 A구는 숙성 90일까지 완만하게 증가한

후 일정한 수준을 유지하였다. 특히 효모첨가구인 C구의 경우 숙성 90일 이후부터 호기성 세균의 수가 일정 수준을 유지하였으며, 이는 효모의 생육 시 세균의 생육이 다소 저해가 있다는 이<sup>(6)</sup>의 보고와 유사하였다.

고추장 숙성기간 중 곰팡이 수의 변화는 Fig. 2와 같이 숙성 30일까지 현저하게 증가하고 그 이후 급격하게 감소하였으며 숙성 60일 이후부터는 서서히 감소하는 경향을 보였다. 이 결과는 이 등<sup>(12)</sup>의 보고와는 유사하였으나, 90일 이후에는 곰팡이가 거의 검출되지 않는다는 보고<sup>(14)</sup>와는 상이하였다. 본 연구 결과 60일 이후에는 곰팡이가 비교적 숙성에 관여하지 않는 것으로 생각되므로 지속적으로 숙성에 관여하는 고초균이 고추장 발효에 비교적 바람직한 종속으로 사료된다. 시험구 별로 관찰한 결과 효모 첨가구에서 곰팡이 수가 두드러지게 감소하였는데 이 결과는 세균에 비해 곰팡이의 생육이 효모의 생육과 밀접한 관계가 있는 것을 나타낸다.

고추장 숙성기간 중 효모 수의 변화는 Fig. 3과 같

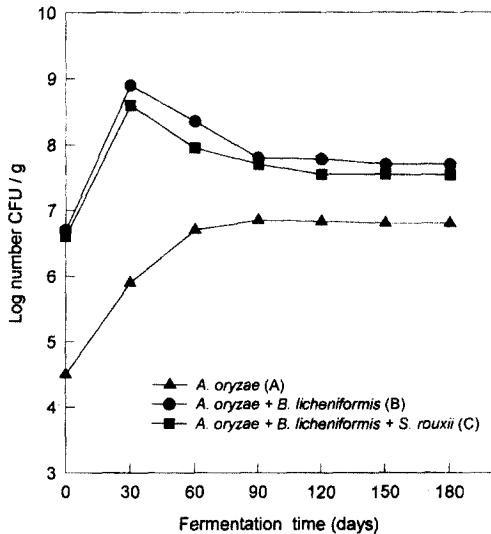


Fig. 1. Changes in number of aerobic bacteria of the *kochujang* during fermentation.

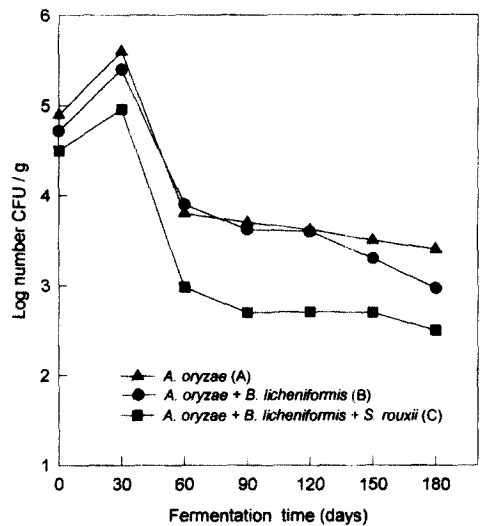


Fig. 2. Changes in number of molds of the *kochujang* during fermentation.

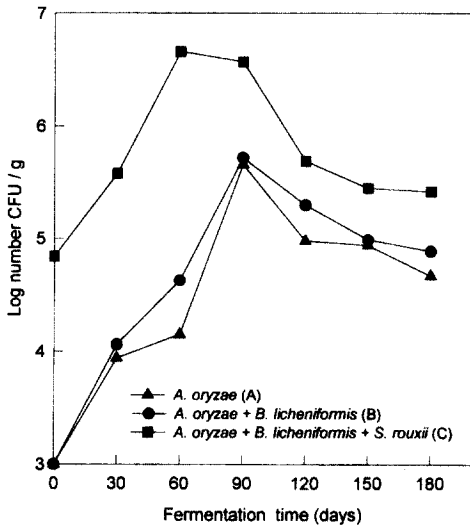


Fig. 3. Changes in number of yeast of the *kochujang* during fermentation.

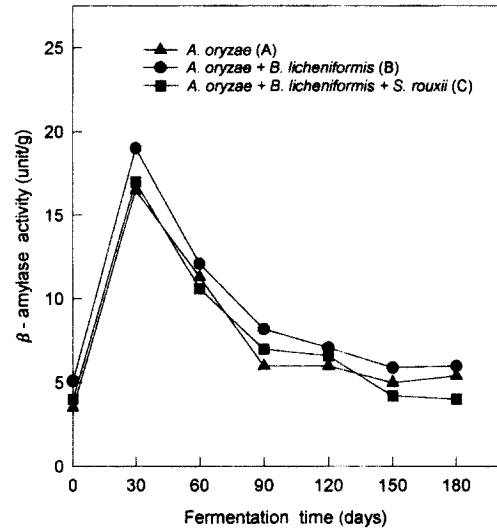


Fig. 5. Changes in  $\beta$ -amylase activity of the *kochujang* during fermentation.

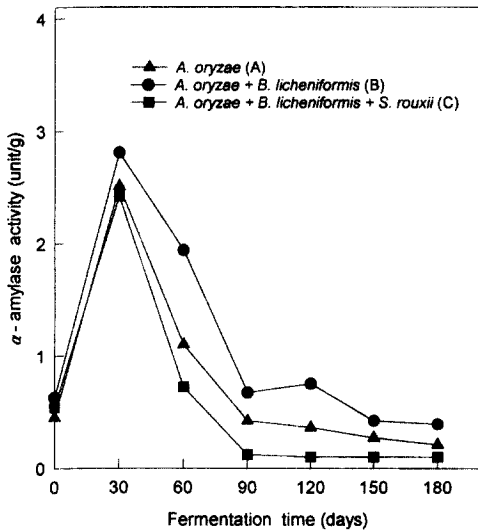


Fig. 4. Changes in  $\alpha$ -amylase activity of the *kochujang* during fermentation.

이 효모 첨가구에서는 숙성 60일까지 급격히 증가한 후 감소하는 경향을 보여주었다. 효모 무첨가구에서는 고추장 숙성 30일경을 전후하여 효모를 발견할 수 있었으며 숙성 60일 이후부터 숙성 90일까지 급격히 증가한 후 지속적으로 감소하는 경향을 보여주었으나 그 수는 효모첨가구에 비해 적었다. 효모는 고추장 향미 성분 및 저장성과 밀접한 관련이 있는 에탄올 생산에 관여하므로 이<sup>(6)</sup>는 고추장 제조시 효모의 수가 많은

것이 유용하므로 고추장을 담글 때 효모의 첨가가 바람직하다고 하였다.

#### 효소 활성도의 변화

고추장 단맛의 원인 성분은 고추장 발효 미생물이 분비하는 amylase의 활성도에 의해 영향을 받는다. 고추장의 숙성기간 중  $\alpha$ -amylase 활성도의 변화는 Fig. 4와 같이 곰팡이와 고초균을 혼합한 B구가 다른 시험구보다 비교적 높은 활성을 보여주었고, 숙성 30일까지 증가하는 경향이었으나, 그 후 급격히 감소하였다. 특히 효모 첨가구에서는 비교적 큰 폭으로 활성이 약해지는 것으로 보아  $\alpha$ -amylase 활성도가 곰팡이의 수와 밀접한 관련이 있음을 알 수 있었다. 이<sup>(6)</sup>는 효모를 첨가한 개량식 고추장의 경우  $\alpha$ -amylase는 담금 10일 이후 감소하다가 50일 경에 다시 상승한 후 감소하였다고 보고하여 본 실험 결과와 비슷한 경향을 보였다. 또한 amylase 활성은 pH와 온도의 영향을 받는데 Jana와 Pati<sup>(15)</sup>의 보고에 의하면  $\alpha$ -amylase 활성의 최적 pH가 6.0 정도였고 숙성기간이 경과되면서 pH나 염 등의 농도에 의해 효소의 활성도가 저해되었고 신등<sup>(16)</sup>도  $\alpha$ -amylase의 활성이 숙성 기간에 따라 감소하는 경향을 나타낸 것으로 보고하였다. 따라서 고추장의 장기숙성 시에는 amylase의 활성이 다소 감소되는 것으로 생각된다.

한편 고추장 숙성 중 전분질을 분해하여 환원성 당을 생성시키는 당화효소인  $\beta$ -amylase 활성도의 변화는 Fig. 5와 같이 숙성 30일 경까지 급격한 증가를 보였

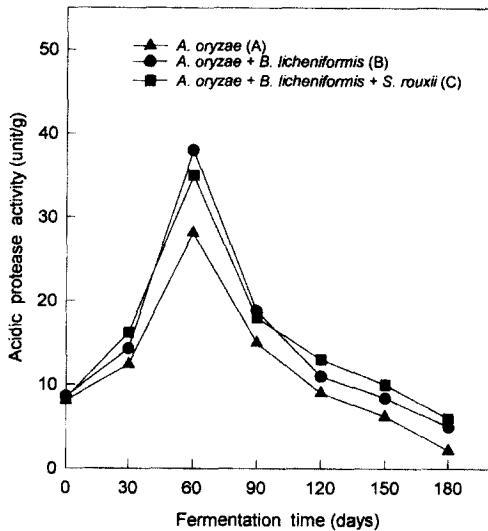


Fig. 6. Changes in acidic protease activity of the kochujang during fermentation.

으나 그 이후에는 계속적으로 감소하였으며  $\alpha$ -amylase의 경우에서와 같이 곰팡이와 고초균의 혼용구에서  $\beta$ -amylase의 활성도가 높았다. 신 등<sup>(17)</sup>은 고추장의 전분액화효소와 당화효소의 활성이 엿기름 첨가시 급격히 증가하였고 고추장 숙성 40일 경까지는 감소하다가 60일 경에 다시 증가하여 90일 경에는 감소하였고 또한 고추 품종을 달리 하였을 때  $\beta$ -amylase의 활성이 고추장 숙성 60일에 가장 높았으며 그 이후 급격히 감소하였다고 보고하여<sup>(16)</sup> 본 실험 결과와 상이하였다. 이<sup>(6)</sup>는 효모를 첨가한 개량식 고추장의 경우  $\beta$ -amylase가 담금 20~30일 이후 급격히 감소하였다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 보였다. 고추장 제조시 전분당화력의 활성이 저하되면 제품의 조성이 짙고 감미의 부족을 초래하여 맛의 조화를 상실하므로, 단 맛의 생성과 우량한 향기를 생성하기 위하여  $\beta$ -amylase의 활성이 높은 것이 좋은데,  $\beta$ -amylase 활성은 곰팡이 단독첨가구보다, 곰팡이와 고초균의 혼용 첨가구에서 보다 높은 활성을 보여주어, 곰팡이와 고초균의 혼용 첨가구가 바람직하다고 본다.

고추장의 구수한 맛에 관여하는 유리 아미노산의 함량은 protease의 활성도에 의해 영향을 받는다. 고추장 숙성 중 acidic protease의 활성도 변화는 Fig. 6과 같이 숙성 30일 이후부터 60일까지 급격히 증가하는 경향을 보여주었으며 특히 곰팡이와 고초균 혼용구에서 보다 높은 활성도를 보여주었다. 고추장 숙성 후 acidic protease는 숙성 30일 경에 최대 값을 보였고<sup>(18)</sup> 신

등<sup>(17)</sup>도 단백질 분해효소 활성도가 담금 초기에는 산성 protease의 경우 활성이 높아 숙성 30~40일 경에 높은 활성을 보이다가 그 이후 감소하는 경향이 나타났고 고추 품종을 달리하였을 때는 산성 protease가 숙성 중 점차 감소하다가 60일 경에 약간 증가하였다가 다시 감소하는 불규칙성을 보였다<sup>(16)</sup>. 이<sup>(6)</sup>는 제곡 후 효모 첨가에 의한 고추장 양조시 protease의 활성변화를 숙성 210일 동안 측정한 결과 숙성 40일을 전후하여 acidic protease의 활성도가 최대 값을 나타냈고 산성 protease가 중성 protease에 비해 월등하게 높은 활성을 나타냈음을 보고하였다. Kusumagi 등<sup>(19)</sup>은 *B. licheniformis*나 *S. rouxii*는 식염 내성을 가지나 온도와 pH의 영향을 받으며 특히 pH의 영향으로 0.5% acetate에 의해 성장이 저해되었음을 보고한 바 있다. 고추장의 protease는 산성 protease가 주체로서 단백질 원을 구수한 맛의 지표가 되는 유리 아미노산으로 가수분해시키는 효소로 특히 고추장의 단기 숙성 시에 유리 아미노산 생성을 증가시키려면 산성 protease의 역할이 높아야하므로 그 활성이 높은 고초균을 고추장 제조시 첨가함이 바람직하다고 생각된다.

## 요 약

고초균과 효모를 혼용 첨가한 고추장을 6개월간 숙성시키면서 pH, 미생물 및 효소활성도의 변화를 조사한 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다. pH 변화는 담금 직후에는 5.29~5.35에서 숙성 60일 경에는 4.71~4.84로 낮아졌으며 효모 첨가구에서는 숙성 초기에 pH 강하가 심한 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 호기성 세균 수는 고초균 첨가시 담금 초기에는  $3.9\sim 4.2 \times 10^6$  생균 수였던 것이 숙성 30일 경까지 급속히 증가하였고 그후 서서히 감소되어 숙성 90일 이후에는 일정 수준을 유지하였다. 곰팡이 수는 숙성 30일까지 현저히 증가한 후 감소되어 숙성 60일 이후에는 완만한 수준을 보였고, 고추장 숙성 기간 중 효모 무첨가구에서는 고추장 숙성 30일경을 전후하여 효모를 발견할 수 있었으며 숙성 60일까지 급격히 증가한 후 감소하였다. 효모 첨가구에서는 30일 이후부터 효모 수가 증가하였으며 숙성 60일 이후부터는 감소하였다.  $\alpha$ -amylase와  $\beta$ -amylase 활성도는 곰팡이와 고초균을 혼합한 시험구가 비교적 높은 활성을 보여주었고 효모첨가구에서는 활성이 감소되었다. Acidic protease 활성도는 숙성 30일 이후 급격히 증가하는 경향이 나타났으며 특히 곰팡이와 고초균 혼용구에서 보다 높은 활성도를 보여주었다. 따라서 곰팡이 단용구

에 비해 고초균을 혼용 첨가한 고추장이 숙성 중 미생물 수도 많았고 효소 활성도가 높은 것으로 나타났다.

## 문 헌

1. Park, J.M., Lee, S.S. and Oh, H.I. Changes in chemical characteristics of traditional *kochujang meju* during fermentation. Korean J. Food Nutr. 8: 184-191 (1995)
2. Cho, D.H. and Lee, W.J. Microbiological studies of Korean native soy-sauce fermentation. J. Korean Agri. Chem. Soc. 13: 35-42 (1970)
3. Park, K.I. and Kim G.J. Research on the brewing of Korean soy sauce (Part 1). Research of Industrial Development Center. 20: 89-94 (1970)
4. Lee, T.S., Yang, K.J., Park, Y.J. and Yu, J.H. Studies on the brewing of *kochujang* (Red pepper paste) with the addition of mixed cultures of yeast strains. Korean J. Food Sci. Technol. 12: 313-323 (1980)
5. Lee, K.H., Lee, H.J. and Chung, M.K. Studies on *chungkookjang* (Part 1) on the changes of soy-bean protein in manufacturing *chungkookjang*. J. Korean Agri. Chem. Soc. 14: 191-200 (1971)
6. Lee, T.S. Studies on the brewing of *kochujang* (Red pepper paste) by the addition of yeasts. J. Korean Agri. Chem. Soc. 22: 65-90 (1979)
7. Holt, J.G., Sharpe, M.E., Mair, N.S. and Sneath, P.H. Endospore forming gram-positive rods and cocci. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, pp 1105-1109, Willams and Wilkins, Baltimore, USA (1986)
8. Park, J.M. and Oh, H.I. Changes in microflora and enzymes activities of traditional *kochujang meju* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 56-62 (1995)
9. Lee, H.Y., Park, K.H., Min, B.Y., Kim, J.P. and Chung, D.H. Studies on the change of composition of sweet potato *kochujang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 10: 331-336 (1978)
10. Shon, S.H. A study on the quality changes of *kochujang* prepared with *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces rouxii* during fermentation. M.S. thesis, Sejong Univ., Seoul, Korea (1993)
11. Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-431 (1959)
12. Lee, K.H., Lee, M.S. and Park, S.O. Studies on the microflora and enzymes influencing on Korea native *kochujang* (Red pepper soybean paste) aging. J. Korean Agri. Chem. Soc. 19: 82-92 (1976)
13. Lee, S.K. Effect of the red pepper seed contents on the chemical composition of *kochujang*. Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng. 12: 293-298 (1984)
14. Koo, M.S., Kwon, D.J. and Kang, T.S. Studies on the development of technology for commercialization of Korean traditional fermented soybean products. Korea Food Research Institute pp. 45-48 (1992)
15. Jana, M. and Pati, B. Thermostable, salt-tolerant  $\alpha$ -amylase from *Bacillus* Sp. MD-124. J. Basic Microbiology. 37: 323-326 (1997)
16. Shin, D.W., Kim, D.H., Cho, U., Lim, M.S. and An, E.Y. Effect of red pepper varieties on the microflora, enzyme activities and taste components of traditional *kochujang* during fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 1050-1057 (1997)
17. Shin, D.W., Kim, D.H., Cho, U., Lim, M.S. and An, E.Y. Changes in microflora and enzyme activity of traditional *kochujang* prepared with various raw materials. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 901-906 (1997)
18. Kim, Y.S., Kwon, D.J., Koo, M.S., Oh, H.I. and Kang, D.S. Changes in microflora and enzyme activities of traditional *kochujang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 502-509 (1993)
19. Kusumagi, K., Yoshida, H. and Tomiyama, S. Inhibitory effect of acetic acid on respiration and growth of *Zygosaccharose rouxii*. J. Ferment. Bioeng. 85: 213-217 (1998)

(1999년 2월 10일 접수)