

전통된장으로부터 분리한 균종으로 제조된 된장의 품질특성

유승구* · 강수민 · 노영숙
연세대학교 생명공학과

Quality properties on soy bean pastes made with microorganisms isolated from traditional soy bean pastes

Seung-Ku Yoo*, Su-Min Kang and Young-Sook Noh
Department of Biotechnology, College of Engineering and Bioproducts Research Center,
Yonsei University

Abstract

Quality properties of soy bean pastes made with *Aspergillus oryzae* and 5 *Bacillus* strains isolated from traditional soy bean pastes were examined. The pH decreased gradually and contents of amino-type nitrogen increased during fermentation. There were small differences in moisture and crude-protein contents, whereas big difference was observed in reducing sugar, isoflavones and organic acid contents. Isoflavones in the samples made with *Bacillus licheniformis* F2358 and *Bacillus subtilis* F2362 were high. Samples made with *Bacillus licheniformis* F2382 had high contents of organic acid and good score for taste and overall acceptability in sensory evaluation.

Key words : *Bacillus*, amino-type nitrogen, isoflavone, organic acids, soybean paste

서 론

한국의 재래식 된장은 예로부터 계승되어 온 우리나라의 대표적인 대두발효식품으로서, 곡류단백질에서 부족되기 쉬운 필수아미노산 및 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양학적 우수성을 지닌다⁽¹⁾. 또한 이러한 영양학적 우수성 외에도 항암⁽²⁾, 혈당강하, 항산화 효과^(3,4), 돌연변이 억제⁽⁵⁾, 혈전 용해능⁽⁶⁾ 등의 다양한 기능성도 지니고 있음이 보고되고 있다.

1890년 국내에서 장류가 상업적으로 생산된 이래 현재는 생활환경 및 식생활 개선 등의 원인으로 장을 직접 담그기보다는 구입하는 빈도가 현저히 높아지고 있다. 그러나 메주에 번식한 각종세균, 곰팡이 등의 여러 미생물들이 복합적으로 작용하여 효소작용에 의해 제조되는 재래식의 혼합발효 된장이 1-2종의 단일미생물을 이용한 개량식 단일발효 된장보다 맛과 영양의

측면에서 우수한 것으로 알려져 있다. 그러나 산업체에서 수많은 미생물들을 적용하기란 사실상 불가능하므로 재래식 된장과 개량식 된장의 품질차이를 비교 분석하여 전통된장의 맛과 성분을 상업적으로 근접시킬 수 있는 방법에 대한 연구가 필요하다. 근래에는 이러한 산업적으로 대량 생산되는 전통장류의 품질개선을 위하여 숙성기간별 미생물의 동정⁽⁷⁾, 다양한 균주별 발효에 의한 된장의 조직, 향기 및 품질변화에 대한 연구^(8-12,17) 등의 미생물 관련 연구가 진행되고 있으며, 효소관련 연구⁽¹³⁻¹⁵⁾, 맛에 관한 연구⁽¹⁶⁾ 등의 연구도 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 상업적 된장 제조 시 균주의 선택 및 공정과정의 개선을 위해 기존에 사용되어 온 *Aspergillus oryzae*(*Asp. oryzae*)와 전통장류에서 분리한 amylase, protease 등의 효소활성이 높은 5종의 *Bacillus* 우수균종을 접종한 된장을 제조하여 각 시료 중의 미생물 종류별 수의 변화를 숙성기간별로 분석하고, pH, 아미노태 질소, 유기산, 환원당, isoflavone 함량 등의 품질적 특성을 연구하였다.

실험 방법

된장제조

대두는 미국산, 소맥분은 대한제분, 정제염은 한주

Corresponding author : Seung-Ku Yoo, Department of Biotechnology, College of Engineering and Bioproducts Research Center Yonsei University, Seoul, 120-749, Korea
Tel : 82-2-2123-2887
Fax : 82-2-362-7265
E-mail : skyoo@bubble.yonsei.ac.kr

소금, 접종균주는 *Asp. oryzae*(주)충무발효의 황국균종국)와 전국의 전통된장에서 분리 동정하여 얻은 우수 균주인 5 *Bacillus* 균종 *Bacillus licheniformis*(*B. licheniformis*) F2138, F2358, F2382, *B. stearothermophilus* F2342, *B. subtilis* F2362를 사용하여 된장을 제조하였다. 재료를 121°C에서 30분간 증자한 후 냉각한 다음 *Asp. oryzae*를 접종하여 40°C에서 48시간 배양한 제곡 소맥 22%, 대두를 8시간 물에 침지하며 121°C에서 30분간 증자한 후 냉각하여 *Bacillus*균을 접종하여 35°C에서 48시간 배양하였고 제조한 시료에 대두제곡 28%, 정제수 38%, 정제염 12%의 비율로 혼합한 후 분쇄하여 30°C에서 60일간 보관하였다.

미생물 분석

일반미생물은 시료를 0.85% 멸균 생리식염수에 희석하여 Plate Count Agar에서 35°C로 48시간 배양 후 생긴 집락수를 계측하였고, 효모 및 곰팡이는 10% (w/v) tartaric acid로 pH를 3.5로 맞춘 Potato Dextrose Agar에서 30°C, 96시간 배양한 후 생긴 집락수를 계측하였다.

제조 된장시료의 품질특성조사

pH는 시료와 증류수를 1:1로 혼합하여 pH meter로 측정하였고, 아미노태 질소는 Formal법으로 15일 간격으로 시료를 채취하여 분석하였다. 수분은 105°C 상압 건조법, 조단백질은 Kjeldahl법, 환원당은 Somoji법으로 분석하였다. Isoflavone의 함량은 Wang⁽¹⁸⁾등의 방법을 이용하여 시료 2g을 80% methanol에 용해시킨 후 Hewlett Packard HPLC(1050 series)로 분석하였다. 유기산은 Court와 Hendel의 방법⁽¹⁹⁾에 따라 시료 2g을 포화 NaHCO₃용액 2mL를 가해 5분간 혼합 후 10,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액 2mL를 취해 진한 황산, NaCl을 넣고 다시 diethylether 2mL로 3회 추출 후 혼합하여 GC로 citric, succinic, malic, fumaric, oxalic acid등 5가지 유기산을 분석하였다.

관능검사

관능검사는 시료와 미온수를 1:1로 혼합한 후, 훈련된 패널 12명이 색, 맛, 향미, 전체적인 선호도 등을 7점법(7점 매우 좋음, 4점 보통, 1점 매우 나쁨)으로 응답한 자료로부터 평가하였고 각 시료별 유의성을 SAS 통계 프로그램으로 검정하였다.

결과 및 고찰

숙성기간 중 미생물의 변화

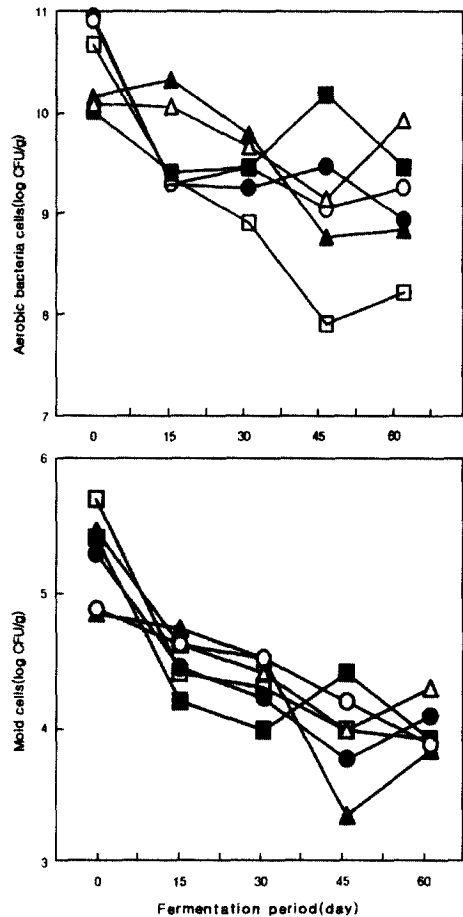


Fig. 1. Changes in aerobic bacteria cells and molds during fermentation of soybean paste.

(a) Changes in aerobic bacteria cells, (b) Changes in molds during fermentation. Microorganisms were counted during 60 days of fermentation from the sample pastes prepared with 5 *Bacillus* strains. ● : Soy bean paste made with *B. licheniformis* F2138(BL-1), ○ : *B. stearothermophilus* F2342 (Bst), ■ : *B. licheniformis* F2358(BL-2), □ : *B. subtilis* F2362(Bsu), ▲ : *B. licheniformis* F2382(BL-3), △ : Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382(Bsu+BL-3)

5가지 *Bacillus*균종으로 제조한 된장의 숙성기간동안 호기성 세균의 변화는 Fig. 1(a)에서 보는 바와 같이 크게 감소하거나 증가함이 없이 1 log cycle범위에서 증가 또는 감소하였다(Fig. 1a). *B. licheniformis* F2138 및 *B. subtilis* F2362, *B. licheniformis* F2382 혼합시료의 경우는 60일까지 거의 동일하게 감소하다가 F2382, F2362의 경우는 60일경에 증가하였다. Fig. 1(b)에서 보는 바와 같이 곰팡이는 15일 후 1 log cycle정도 감소하였으나 그 이후에는 변화가 거의 없었고 효모는 검출되지 않았다. 효모는 곰팡이나 세균에 의해

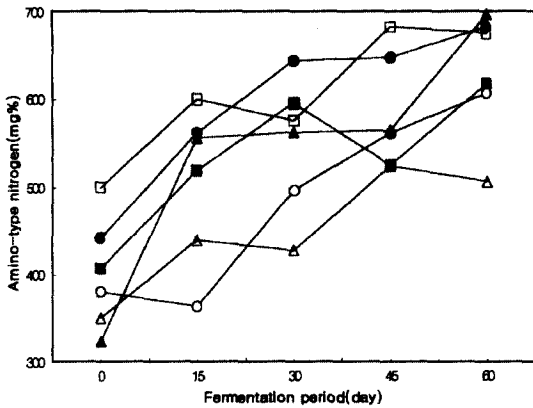


Fig. 2. Changes in amino-type nitrogen contents during fermentation of soy bean paste.

Soybean pastes were prepared with 5 *Bacillus* strains isolated from the Korean traditional soybean paste. Changes in amino-type nitrogen content were detected at the 15 days' interval by Formal method. ● : Soy bean paste made with *B. licheniformis* F2138(BL-1), ○ : *B. stearothermophilus* F2342(Bst), ■ : *B. licheniformis* F2358(BL-2), □ : *B. subtilis* F2362(Bsu), ▲ : *B. licheniformis* F2382(BL-3), △ : Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382(Bsu+BL-3)

생육이 저해되는 것으로 보아 성장이 어려운 조건으로 추정된다.

pH 및 아미노태 질소

pH는 시료간의 차이는 있었으나 숙성기간 동안 초기의 pH값 (6.68-7.02)에서 60일 후 5.95-6.28로 감소하였다. 이러한 pH의 감소는 유기산의 증가와도 관련이 있어 된장의 맛과 풍미를 향상시킨다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 아미노태 질소는 초기에 비해 506.4-682.1 mg%로 1.4-1.6배 증가하였다. *B. licheniformis* F2382 시료의 아미노태질소량은 초기에는 낮았으나 60일 후에는 2배 정도로 증가하였다. 이 결과는 박 등⁽¹¹⁾이 보고한 60일 후의 전통 된장과 유사한 결과이며, *Asp. oryzae*를 접종한 쌀 koji 된장보다는 낮은 결과를 나타내었다. 이는 koji의 사용 원료나 접종 균종, 메주 사용 유무, 발효, 온도, 보관조건, 된장 담금시기 등 여러 가지 요인 등에 따라 차이가 있는 것으로 판단된다.

수분, 조단백, 환원당 함량

Table 1에서 보는 바와 같이 수분 함량은 50.4~54.9%로 시판된장과 유사하였으며, 시료간의 수분 차이는 제국 시 발효상자의 부위별 차이, 배양기 내부의 상자 위치, 미생물 증식에 따른 막 형성으로 인한 시료간의 수분증발 등의 차이로 추정된다. 조단백은 14.23~16.07%, 환원당은 5.07~11.34%로 시료간에 큰

Table 1. Moisture, Crude-protein and reducing sugar contents in soybean paste fermented for 60 days.

Moisture were analyzed by drying up to 105°C, crude protein by Kjeldahl method, reducing sugar as glucose by Somoji method. BL-1: Soybean paste made with *B. licheniformis* F2138, Bst: *B. Stearothermophilus* F2342, BL-2: *B. licheniformis* F2358, Bsu: *B. subtilis* F2362, BL-3: *B. licheniformis* F2382, Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382

Samples	Moisture(%)	Crude-protein(%)	Reduced sugar(%)
BL-1	54.2	15.9	11.3
Bst	51.4	16.1	10.3
BL-2	50.4	15.3	6.2
Bsu	54.9	15.5	5.3
BL-3	53.5	14.3	5.1
Bsu+BL-3	53.1	15.2	6.0

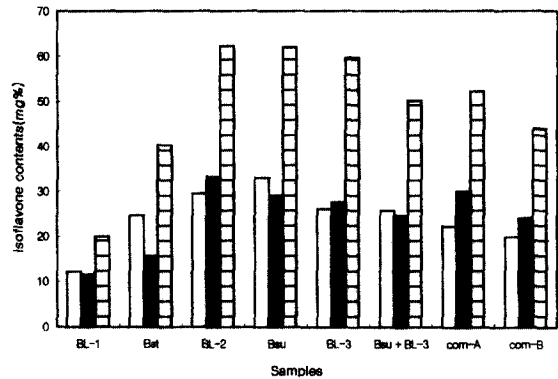


Fig. 3. Isoflavone contents in soybean paste fermented for 60 days.

Two grams of samples were dissolved in 80% methanol and isoflavone content were analyzed by HPLC. BL-1:Soybean paste made with *B. licheniformis* F2138, Bst: *B. Stearothermophilus* F2342, BL-2: *B. licheniformis* F2358, Bsu: *B. subtilis* F2362, BL-3: *B. licheniformis* F2382, Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382, com-A: commercial soybean paste A, com-B: commercial soybean paste B. □: Daidzein, ■: Genistein, ▨: Total

차이를 보였는데 *B. licheniformis* F2138과 *B. stearothermophilus* F2342 시료의 경우 환원당 함량이 높은 것은 다른 균종에 비해 amylase활성이 높기 때문인 것으로 생각된다. 환원당은 된장 내 미생물의 영양원, 유기산 발효의 기질로 이용되므로 숙성되면서 수치가 감소하게 된다.

Isoflavones

항산화성 물질로 알려진 isoflavone 함량은 *B. licheniformis* F2358와 *B. subtilis* F2362 시료가 가장 높았다(Fig. 3). 골다공증 예방에 효과가 있는 것으로

Fig. 4. Organic acid contents in soy bean paste fermented for 60 days.

Two grams of sample pastes were mixed in NaHCO₃ solution. Supernatant was eluted with diethylether and organic acids were detected by GC. BL-1: Soybean paste made with *B. licheniformis* F2138, Bst: *B. stearothermophilus* F2342, BL-2: *B. licheniformis* F2358, Bsu: *B. subtilis* F2362, BL-3: *B. licheniformis* F2382, Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382. □: Oxalate, ■: Malate, ▨: Citrate, ▩: Succinate, ▪: Fumarate

알려진 daidzein 함량은 *B. subtilis* F2362가 가장 높았으며, angiogenesis를 저해하는 등 암세포 생육의 억제에 효과적인 것으로 알려진 genistein은 *B. licheniformis* F2358의 경우가 가장 높았다. Genistein의 함량은 시판 된장과 비교한 결과 대부분 시판된장보다 높거나 유사하였으나 *B. licheniformis* F2138시료의 경우는 3배 정도 낮았다. 시료간의 차이가 나는 것은 미생물이 isoflavone을 생성한다는 것과 관련이 있을 것으로 사료된다.

유기산 함량

Fig. 4에서 보는 바와 같이 유기산 함량은 *B. licheniformis* F2382 시료에서 가장 많이 검출되었으며, 5가지 유기산 중 oxalate, citrate, succinate 등 3가지 유기산이 가장 많은 것으로 나타났다. *B. subtilis* F2362와의 혼합균주로 만든 시료는 유기산 함량이 높은데 비해 *B. stearothermophilus* F2342시료는 최대 함량 유 시료에 비해 유기산 함량이 2.5배 정도 적게 검출되어 시료간의 차이가 많았다. 유기산의 종류별로는 citrate>oxalate>malate>succinate>fumarate순으로 검출되었다.

관능검사

*Asp. oryzae*와 5종의 *Bacillus*균주로 만든 된장의 관능검사 결과는 Fig. 5에서 나타내었다. 외관은 *B. subtilis* F2362, 색과 향미는 *B. stearothermophilus* F2342가 가장 좋았으며, 전체적인 선호도와 맛에서는

Fig. 5. Sensory score of soybean paste fermented for 60 days.

Sample pastes were dissolved in warm water. Sensory evaluation were performed by 12 trained panels. BL-1: Soy bean paste made with *B. licheniformis* F2138, Bst: *B. stearothermophilus* F2342, BL-2: *B. licheniformis* F2358, Bsu: *B. subtilis* F2362, BL-3: *B. licheniformis* F2382, Bsu+BL-3: *B. subtilis*+*B. licheniformis* F2382. □: Appearance, ■: Color, ▨: Flavor, ▩: Taste, ▪: Overall acceptability

B. licheniformis F2382가 가장 우수한 것으로 나타났다. 이와 같이 *B. licheniformis* F2382시료는 관능검사 전 항목에서 고르게 좋은 점수를 보였으나, *B. subtilis* F2362나 *B. licheniformis* F2382 혼합균주로 만든 시료는 색깔을 제외한 전 항목에서 낮은 점수를 나타냄으로써 혼합 균주로 된장 제조 시 신중한 균주의 선택이 중요함을 알 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때 본 실험에서 미생물 균종을 달리하여 제조한 시료 중 *B. licheniformis* F2382 시료가 관능, 유기산, 아미노태 질소와 isoflavone함량 등 전반적으로 품질이 우수한 것으로 나타났다. 따라서 상업적인 된장제조 시 균주의 선택과 제조공정, 원료선택과 제곡방법 등의 연구로 계속 개선하여 간단면 재래식된장의 기능성과 맛에 근접할 수 있는 된장을 만들 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

우리 고유의 장맛을 상업적으로 대량 제조하기 위하여 기존에 사용되었던 *Asp. oryzae*와 전통장류에서 분리한 *Bacillus* 5균종을 이용하여 제조한 된장의 품질 특성을 조사하였다. 숙성기간동안 미생물은 15일 후 1 log cycle 정도 감소하였으나 그 이후는 거의 일정하였고, pH는 초기 6.0~7.0에서 5.95~6.28로 감소하였다. 아미노태 질소는 점차적으로 증가하여 초기의 1.4~1.6배로 증가하였다. 수분과 조단백은 시료간의 큰 차이를 보이지 않았으나 환원당, 유기산, isoflavone함

량은 시료간에 큰 차이를 나타냈다. 환원당은 *B. licheniformis* F2138, *B. stearothermophilus* F2342가 다른 시료에 비해 함량이 있고, isoflavones은 *B. licheniformis* F2358, *B. subtilis* F2362시료가 함량이 높았다. 유기산은 *B. licheniformis* F2382 시료가 가장 많았고, 유기산 종류별로는 citrate함량이 다른 유기산에 비해 현저히 높았으며 fumarate는 미량으로 검출되었다. 관능검사에서 전체적인 맛과 선호도는 *B. licheniformis* F2382가 좋은 것으로 나타났다. 위와 같은 결과를 산업적 된장제조에 적용하여 공정과정을 개선한다면 전통 장맛과 기능성에 보다 근접하는 개량식 된장 제조가 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 특정연구과제 연구비 지원 (1997년-1999년)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Yang, S.H. and Chung, Y.J. Optimization of the taste components composition in traditional korean soybean paste. J. Kor. Soc. Food Nutr. 21: 449-453 (1992)
2. Hong, S.S. Anticancer effects of korean traditional soybean paste. Food Technol. 7: 56-57 (1994)
3. Kim, M.H. and Lee, J.H. Antioxidant materials in domestic Meju and Doenjang. J. Korean Soc. Food Nutr. 23: 251-260 (1994)
4. Kim, M.H. and Lee, J.H. Antioxidant materials in domestic Meju and Doenjang. J. Korean Soc. Food Nutr. 23 : 604-613 (1994)
5. Park, K.Y., Moon, S.H., Cheigh, H.S. and Baik, H.S. Antimutagenic effects of Doenjang. J. Food Sci. Nutr. 1: 151-158 (1996)
6. Kim, S.H. New trend of studying on potential activities of Doenjang-Fibrinolytic activity. Korea Soybean Digest. 15: 8-15 (1998)
7. Yoo, S.K, Cho, W.H., Kang, S.M. and Lee, S.H. Isolation and identification of microorganisms in korean traditional soybean paste and soybean sauce. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 113-117 (1999)
8. Park, J.S. Histological changes of Doenjang during the fermentation with different strains. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 477-481 (1992)
9. Park, J.S., Lee, M.Y., Kim, K.S. and Lee, T.S. Volatile flavor components of soybean paste(Doenjang) prepared from different strains. Kor. J. Food Sci. Technol. 26: 255-260 (1994)
10. Joo, H.K. Oh, K.T. and Kim, D.H. Effects of various mixed ratio of Meju and its microorganism on Doenjang fermentation. Korean Food Res. Center. 151-170 (1992)
11. Park, J.S., Lee, M.R., Kim, J.S. and Lee, T.S. Compositions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste(Doenjang) prepared with different microbial sources. Kor. J. Food Sci. Technol. 26: 609-615 (1994)
12. Kim, S.S. Effect of Meju shapes and strains on the quality of soy sauce. Kor. J. Food Sci. Technol. 10: 63-72 (1978)
13. So, M.H. Conditions for the production of amylase and protease in making wheat flour Nuluk by *Rhizopus japonicus* T2. Korean J. Food & Nutrition 6: 96-102 (1993)
14. Lim, S.I., Kim, H.K. and Yoo, J.Y. Characteristics of protease produced by *Bacillus subtilis* PCA 20-3 isolated from korean traditional Meju. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 154-160 (2000)
15. Lim, S.I. Purification and characterization of protease produced by *Aspergillus wentii* isolated from korean traditional Meju. 32: 161-167 (2000)
16. Yang, S.H., Choi, M.R., Choi, J.K. and Chung Y.G. Characteristics of the taste in traditional korean soybean paste. J. Kor. Soc. Food Nutr. 21:443-448 (1992)
17. Kim, G.E., Kim, M.H., Choi, T.S. and Lee, J.H. Flavor compounds of domestic Meju and Doenjang. J. Kor. Soc. Food Nutr. 21: 557-565 (1992)
18. Wang, H. and Murphy, P.A. Isoflavone content in commercial soybean foods. J. Agric. Food Chem. 42: 1666-1673 (1994)
19. Court, W.A. and Hendel, J.G. Determination of non-volatile organic acids in flue-cured tobacco by gas-liquid chromatography. J. of Chromatographic Sci. 16: 314 -320 (1978)

(2000년 3월 30일 접수)