

발효두부 제조용 Starter의 선발과 이를 이용한 두부의 발효특성

강경명 · 이신호[†]

대구가톨릭대학교 식품가공학과

Physiological Characteristics of Starter Isolated from *Kimchi* and Fermentation of Tofu with Isolated Starter

Kyoung Myoung Kang and Shin Ho Lee[†]

Dept. Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract

Sixty strains of lactic acid bacteria were isolated from *kimchi* and used as a starter for fermented tofu. Among the isolated strains, strain KL-6 showed antimicrobial activity against various pathogens, antioxidative activity, and viability in artificial gastric juice and artificial bile acid. The selected strain KL-6 was identified as *Pediococcus acidilactici* KL-6 by morphological and physiological tests, including Gram staining, catalase test, and 16S rRNA sequencing. The fermentation characteristics of tofu with a *kimchi* ingredient mixture (Control) consisting of red pepper, garlic, ginger, sugar, salt, *jeotgal*, and juice of chinese cabbage were compared with those of tofu inoculated with strain KL-6 and the *kimchi* ingredient mixture (TL) or a pre-fermented *kimchi* ingredient mixture (TPL) for 24 hr at 37°C. The pH levels of all tested tofu samples decreased after 1 week of fermentation, reaching 3.96 (control), 3.97 (TL), and 4.03 log cfu/g (TPL) after fermentation for 14 weeks at 20°C. Total aerobic content of fermented tofu increased until 2 weeks of fermentation, but decreased steadily thereafter. The number of lactic acid bacteria reached 10⁶ cfu/g after 1 week of fermentation in TL and TPL, whereas it took 2 weeks for the control. The number of lactic acid bacteria in all tested tofu samples reached 10³ cfu/g after 14 weeks of fermentation at 20°C. Coliform bacteria were not detected in TL or TPL after 1 week of fermentation. The sensory scores of TL and TPL were higher than that of control in terms of taste, flavor, texture, and overall acceptability. The sensory quality of TPL was the best among all tested fermented tofu samples.

Key words: tofu, *Pediococcus acidilactici*, lactic acid bacteria, fermented soybean food

서 론

식품의 발효는 미생물의 작용으로 식품의 각종 영양분이 소화되기 쉬운 상태로 변화한다. 오늘날 생균제(probiotics)로서의 기능성을 갖는 발효관련 미생물에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 생균제는 장내균총의 정상화, 유해세균의 정착억제에 따른 부패산물의 생성감소 및 질병예방, 면역기능의 강화, 콜레스테롤 저하 등의 기능이 인정되고 있다(1-4). 생균제로 갖추어야 할 조건은 장 정착성, 병원성세균의 억제와 발효식품에 부여되는 관능적 특성, 안정성, 박테리오파지 저항성이 있어야 하며, 특히 장내 생존력이 우수해야 상업적으로 이용가치를 가진다(5,6).

발효두부는 중국이나 대만의 두부유, 인도네시아의 taok-an, 필리핀의 tahuri, 태국의 tau hu yee, 일본의 tofuyo 등이 있다(7,8). 이 중 중국과 대만의 두부유(sufu)는 *Actinomyces elegans*, *Mucor heimalis*, *Mucor silvaticus*, *Mucor prairimi* 및 *Rhizopus chmenisis* 등의 유용 곰팡이를 두부

표면에 생육시켜 술덧과 소금용액을 섞은 침지액에 숙성시킨 것이며, 일본의 tofuyo는 두부를 건조시킨 후 *Monascus* sp.나 *Aspergillus* sp.의 국균을 찰쌀에 생육시킨 Koji와 증류주 등을 섞은 침지액에 넣어 숙성시킨 두부 발효식품이다(9). 이러한 발효두부는 저장성, 기호성 및 소화성이 우수한 대두의 치즈형태 발효식품으로 오래전부터 자양식, 병후의 보양식 및 어린이 노인의 식품으로서 이용되어왔다(10). 발효두부에 관한 국내 연구는 Kim과 Lee(11), Park과 Kim(12)이 대두 치즈 숙성 중 화학성분 변화 및 sufu 제조용 균주 선발과 제조 실험, 그리고 Lee 등(13)의 곰팡이와 응고제에 따른 발효두부의 품질특성 등 소수의 연구만이 보고되고 있다. 또한 이러한 발효두부는 독특한 품미로 인하여 국내에서는 기호성의 문제로 일반화되지 않고 있다. 본 연구는 곰팡이에 의한 발효과정을 거치지 않고 우리나라 고유의 발효식품인 김치와 접목하여 두부발효의 가능성을 검토하고자 식물유래 probiotic 기능을 가지는 유산균을 선발하고, 선발된 유산균과 김치양념을 사용하여 두부를 담금·숙성한 유산발

[†]Corresponding author. E-mail: leesh@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3217, Fax: 82-53-850-3217

효두부 제조의 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

균주 분리

경북지역에서 수집한 김치를 사용하여 0.02% sodium azide를 함유한 MRS agar(Difco, Detroit, MI, USA)에 도말하고, 37°C에서 24시간 배양 후 나타난 독립된 colony 중 특징적인 colony를 순수 분리하였다. 순수분리한 균주는 MRS agar slant에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 4°C에서 냉장보관하면서 사용하였다.

항균활성 측정

항균활성 측정용 균주는 *Listeria monocytogenes* KCTC 3569, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* KCCM 12255, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 21541, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Salmonella* Enteritidis KCTC 12400, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802를 사용하였으며, 분리균주의 항균활성은 paper disc method에 의한 clear zone의 생성 유무로 측정하였다.

인공위액 및 담즙산에 대한 내성

인공위액에 대한 내성은 Kobayashi 등(14)의 방법에 준하여 1 N HCl을 사용하여 pH 2.5로 조정된 MRS broth에 pepsin 1%를 첨가한 인공위액에 선발 유산균을 접종하여 37°C에서 3시간 배양한 후 생균수를 측정하였다. 인공담즙산에 대한 내성은 Lee와 No(15)의 방법으로 MRS broth에 pancreatin(Kanto Chemical, Tokyo, Japan) 1%와 10% Oxgall(Difco) 용액 1%를 첨가한 인공담즙액에 대한 인공위액에서 3시간 배양한 균체를 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 측정하였다.

DPPH radical 소거능 측정

분리균주를 MRS broth에 접종하여 37°C에서 24시간 배양 동안 일정시간 별로 배양액을 원심분리(3,000 rpm, 15 min)한 상등액을 시료로 사용하였다. α, α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능은 Blois(16)의 방법을 변형하여 상등액 0.4 mL에 0.4 mM DPPH 0.8 mL를 혼합하고, 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도(Pharmacia Biotech Ultrospec 1000, Cambridge, UK)를 측정하였으며 계산식, DPPH radical scavenging ability(%) = $100 - [(O.D. \text{ of sample} / O.D. \text{ of control}) \times 100]$ 에 의하여 산출하였다.

균주의 동정

최종 선발된 균주를 동정하기 위해 Gram 염색, gas 형성 유무, catalase activity test를 조사하였고, 분자생물학적 동정을 위해 27_F(5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3')와 1492_R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 프라이머를 이용하여 16S rRNA 유전자를 증폭하고 그 서열 분석

을 수행하여(Solgent Co., Daejeon, Korea) 확인하였다.

발효두부 제조

김치양념 재료는 경상시 하양읍 재래시장에서 구입하였으며, 두부 100 g당 고춧가루 3 g, 마늘 1 g, 소금 2 g, 설탕 2 g, 생강 0.5 g, 젓갈 2 g, 배추즙 31.5 g을 혼합하였고, 제조된 김치양념에 최종 선발된 균주를 600 nm에서 흡광도 1.00이 되도록 희석한 후, 2%(v/v) 접종하여 사용하였다. 두부는 일정한 크기(3×3×3 cm)로 자른 후, 김치양념 1:3(w/v) 비율로 침지하여 20°C에서 14주 동안 발효시켰다. 유산균을 접종하지 않은 김치 양념에 침지한 두부(Control), 유산균을 접종(2%, v/v)한 김치 양념에 침지한 두부(TL, tofu and kimchi ingredients with lactic acid bacteria)와 유산균을 접종하여 37°C에서 24시간 발효시킨 김치 양념에 침지한 두부(TPL, tofu in pre-fermented kimchi ingredients with lactic acid bacteria)로 나누어 발효 특성을 비교하였다.

pH 및 미생물수 측정

pH 측정은 마쇄한 시료를 여과지(Whatman No. 2, Maidstone, England)로 여과하여 pH meter(ORION 410A, Orion Research Inc, Boston, MA, USA)로 측정하였다. 미생물수는 시료 10 g에 멸균 증류수 90 mL를 첨가하여 stomacher(LB W400, TMC, Seoul, Korea)를 이용하여 마쇄한 시료 1 mL를 무균적으로 취하여 총균수는 plate count agar(Difco), 유산균수는 0.02% sodium azide를 함유한 MRS agar, 대장균수는 violet red bile agar(Difco)에 접종하여 37°C에서 배양한 후 생균수를 측정하였다.

관능검사

관능검사는 식품을 전공하는 대학생 및 대학원생 25명을 대상으로 관능검사를 실시하였다. 측정항목으로는 색상, 조직감, 맛, 풍미, 종합적 기호도를 5점 채점법으로 평가하였다. 아주 좋다가 5점, 보통이다가 3점, 아주 나쁘다가 1점으로 평가하였다.

통계처리

통계분석은 SPSS system(statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package(version 12.0)를 이용, $p < 0.05$ 수준으로 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다.

결과 및 고찰

분리 유산균의 항균활성

경북지역에서 수집한 김치로부터 60균주의 유산균을 분리하였고, 병원성 미생물에 대한 항균활성이 우수한 10균주를 1차 선별하였다(Table 1). 분리균주인 KL-6와 KL-24는 *L. monocytogenes*, *S. aureus* subsp. *aureus*, *P. fluorescens*, *E. coli*, *Sal. Enteritidis*, *V. parahaemolyticus* 등 모든 균주

Table 1. Antimicrobial activity of isolated strains against various pathogens

Pathogens ¹⁾	Lactic acid bacteria										
	KL-2	KL-6	KL-9	KL-22	KL-24	MJ-25	MJ-41	MJ-79	MJ-81	MJ-82	
A	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
B	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
D	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
E	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

¹⁾A: *Listeria monocytogenes*, B: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, C: *Pseudomonas fluorescens*, D: *Escherichia coli*, E: *Salmonella* Enteritidis, F: *Vibrio parahaemolyticus*.

²⁾+: positive, -: negative.

에 대해 항균활성을 나타내었다. 유산균은 발효 중 유산 및 초산, 저급 지방산, hydrogen peroxide, diacetyl, bacteriocin, 항생물질 등을 생성하여 여러 가지 병원성 세균과 부패세균의 생육을 억제한다(17). 분리균주는 병원성 미생물에 대한 성장억제능을 나타내어 발효식품 제조 시 starter로 사용이 가능할 것으로 판단되었다.

인공위액 및 담즙산에 대한 내성

장내에서 생균제로서의 기능을 발휘하기 위해서는 항균 효과는 물론 강산성의 위액과 담즙을 분비하는 췌장 및 십이지장을 통과하여 최종적으로 장에 도달할 수 있어야 정장의 효과를 발휘하게 된다(18). 항균성이 우수한 6균주의 인공 위액과 담즙산에 대한 내성은 Table 2와 같다. 6종의 분리균주는 인공 위액에서 배양 초기 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL에서 3시간 배양 후 KL-6(10^4 CFU/mL)와 MJ-82(10^3 CFU/mL)를 제외한 균주는 모두 사멸하였다. 분리균주 KL-6와 MJ-82는 인공위액에서 3시간 경과 후 약 10^4 CFU/mL의 생균수를 나타내어 섭취 후 위를 통과하는 기간 동안 생존할 수 있을 것으로 판단되었다. 인공위액에서 3시간 처리한 후 KL-6와 MJ-82의 균체를 인공 담즙산에 접종하여 24시간 동안 생균수의 변화를 관찰한 결과 초기 균수는 각각 10^4 CFU/mL (KL-6), 10^3 CFU/mL(MJ-82)였고, 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 증가하여, 배양 24시간째 10^9 CFU/mL(KL-6), 10^8 CFU/mL(MJ-82)를 나타내었다. 이는 Lee와 No(15), Paik 등(19)의 결과와 유사하였으며, 분리균주는 위산과 담즙산에 대한 내성이 있으므로 정장의 효과를 기대할 수 있는 starter로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

항산화 활성

항산화 물질은 free radical에 전자나 수소를 공여하여 복합체를 만들고, DPPH는 항산화 물질로부터 전자, 수소를 받아 불가역적으로 안전한 분자를 형성하므로, 전자공여능으로부터 항산화 활성을 추정할 수 있다(20). 항균활성, 인공위액 및 담즙산에 대한 내성이 우수한 분리균주 KL-6 배양액의 항산화활성은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 성장에 따라 DPPH radical 소거능은 증가하였다. Joo 등(21)은 열수 추출물 항산화 활성 시험결과, 꿀풀 추출물 자체의 전자공여능은 낮았으나 꿀풀 추출물에 유산균을 첨가하여 실험한 결과에서는 높은 전자공여능을 나타내었다고 보고와 *S. thermophilus* 및 *L. bulgaricus* 등의 유산균 배양 세포 추출액에서 항산화 활성이 있다는 Lin과 Yen(22)의 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 따라서 분리 선발된 KL-6는 전반적으

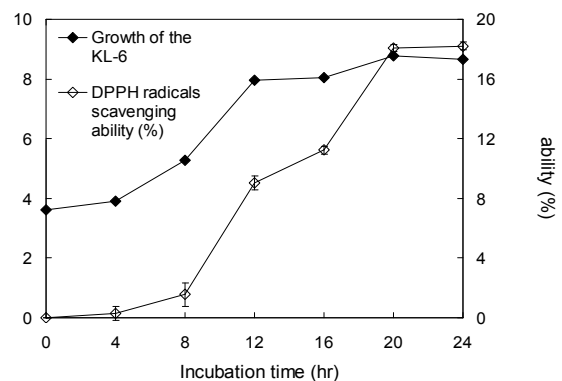


Fig. 1. Changes in DPPH radicals scavenging ability and growth of isolated strain KL-6.

Table 2. Survival of isolated strains in artificial gastric juice and bile acid at 37°C

Incubation time	Isolated strains						
	KL-6	KL-24	MJ-25	MJ-41	MJ-81	MJ-82	
I ¹⁾	0 hr	8.96±0.01 ³⁾	7.54±0.06	6.48±0.01	6.88±0.03	8.72±0.01	8.08±0.00
	3 hr	4.70±0.00	ND ⁴⁾	ND	ND	ND	3.05±0.01
II ²⁾	0 hr	4.54±0.03	ND	ND	ND	ND	3.05±0.01
	6 hr	5.37±0.07	ND	ND	ND	ND	4.69±0.01
	24 hr	9.05±0.00	ND	ND	ND	ND	8.72±0.01

¹⁾ I: Viable cell in artificial gastric juice for 3 hr at 37°C.

²⁾ II: Viable cell in artificial bile acid for 24 hr at 37°C after treatment with gastric juice for 3 hr at 37°C.

³⁾ Viable cell±SD (n=3).

⁴⁾ ND: Not detected.

로 DPPH 라디칼 소거능을 가지고 있는 것으로 판단된다.

선발균주의 동정

최종선발된 분리균주 KL-6는 사연구균, Gram 양성, Catalase 음성 그리고 정상발효유산균으로 확인되었다. 또한 16S rRNA 유전자 염기서열 분석하여 GenBank에 등록되어 있는 유산균들과 상동성을 비교한 결과, *Pediococcus* (*P.*) *acidilactici*와 100%(accession no. AJ305320) 일치하여 최종적으로 *P. acidilactici* KL-6로 명명하였다(Fig. 2). 따라서 본 연구에서 분리한 *P. acidilactici* KL-6는 병원균에 대하여 효과적으로 저해하여 김치 및 발효식품의 안전성을 확보하고 발효과정 중 경쟁 균주를 억제하여 품질을 유지할 수 있는 산업적으로 유용한 starter로 개발될 수 있을 것으로 판단된다.

유산발효두부의 pH 및 미생물의 변화

병원성 미생물에 대한 항균활성과 항산화 활성을 갖는 유산균을 선발하여 이를 이용해 제조한 유산발효두부의 발효 중 pH 및 미생물의 변화는 Table 3와 Table 4에서 보는 바와 같다. pH는 대조구, 유산균을 접종한 구(TL)는 발효 전 각각 6.39, 6.41, 유산균을 접종하여 24시간 발효시킨 양념으로 처리한 구(TPL)는 6.05로 가장 낮았다. 발효 1주 동안 모든 처

리구의 pH는 급격히 감소하였고 TPL이 발효 2주까지 가장 낮았다($p < 0.05$). 이는 두부를 침지하기 전 *P. acidilactici* KL-6를 접종하여 전 발효시킨 양념의 사용에 기인된 것으로 사료된다. 발효두부의 pH는 발효 10주까지 감소하였고, 그 이후부터 서서히 증가하는 경향을 나타내었다. 발효 전 각 처리구의 총균수는 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g의 분포를 보였으며, 발효 2주까지 모든 처리구에서 증가하였고, 이후 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 중 유산균의 변화는 총균수와 유사한 경향을 나타내었다. 발효 전 두부의 유산균수는 10^2 CFU/g이었으며, 발효 1주 대조구는 10^4 CFU/g, TL구와 TPL구는 10^6 CFU/g을 나타내었다. 모든 처리구의 유산균수는 발효 2주 후 서서히 감소하는 경향을 나타내어 Lim과 Cho(23)의 비단두부를 장류에 담금하여 저장성하는 동안 유산균의 수는 점차 감소한다는 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 대장균군은 발효 1일째까지 대조구에서 관찰되었으나, 유산균 처리구는 발효 1주째부터 관찰되지 않았다. 이는 발효 과정 중 유산균의 성장에 의해 생성된 산에 기인된 것으로 판단되며, Jung(24)의 김치 숙성 초기부터 대장균이 감소하다가 숙성 15~20일 후에는 검출되지 않았다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 발효 중 *P. acidilactici* KL-6의 성장으로 인한 다양한 성장억제물질의 생산에 기인된

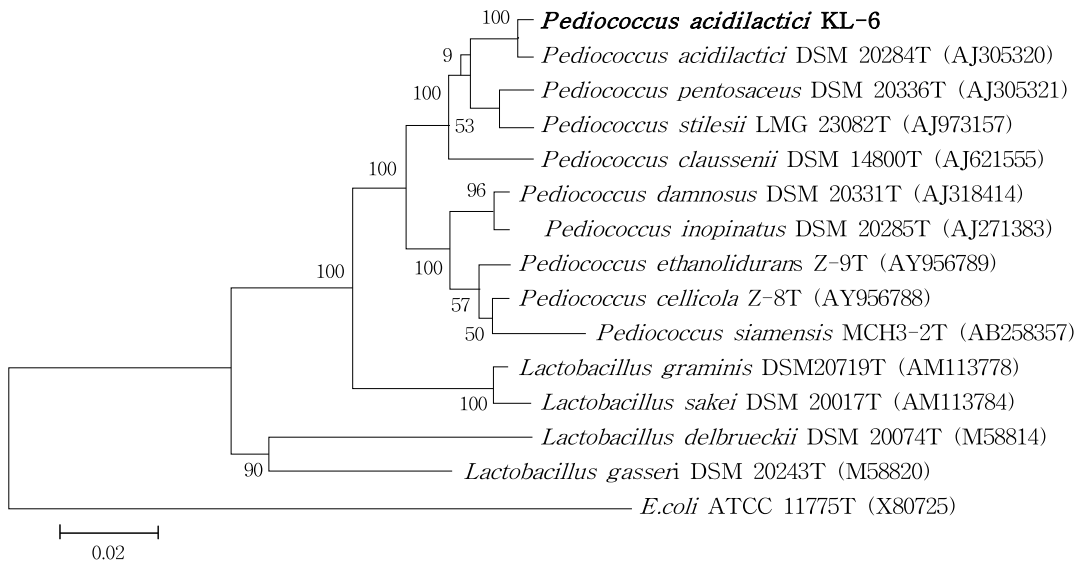


Fig. 2. Phylogenetic analysis of the isolate based on 16S rRNA gene sequences of other LAB.

Table 3. Changes in pH of fermented tofu during fermentation for 14 weeks at 20°C

Group ¹⁾	Fermentation time (weeks)									
	0	1	2	4	6	8	10	12	14	
Control	6.39±0.03 ^{2)aA}	4.77±0.01 ^{bA}	4.44±0.02 ^{cA}	4.35±0.00 ^{dA}	4.04±0.01 ^{eA}	3.87±0.01 ^{bB}	3.70±0.03 ^{iB}	3.99±0.01 ^{fB}	3.96±0.00 ^{gC}	
TL	6.41±0.04 ^{aA}	4.14±0.00 ^{cB}	4.22±0.01 ^{bB}	3.97±0.01 ^{dC}	3.81±0.01 ^{eC}	3.80±0.00 ^{eC}	3.72±0.00 ^{fB}	3.98±0.00 ^{dB}	3.97±0.01 ^{dB}	
TLP	6.05±0.03 ^{aB}	4.09±0.01 ^{dC}	4.16±0.02 ^{cC}	4.28±0.02 ^{bB}	3.90±0.00 ^{fB}	3.91±0.01 ^{fA}	3.77±0.00 ^{gA}	4.04±0.02 ^{eA}	4.03±0.00 ^{eA}	

¹⁾Control: tofu in kimchi seasoning, TL: tofu with lactic acid bacteria in kimchi seasoning, TPL: tofu in pre-fermented kimchi seasoning with lactic acid bacteria for 12 hr at 20°C.

²⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

^{a-i}Values with different letters within a row differ significantly ($p < 0.05$).

^{A-C}Values with different letters within a column differ significantly ($p < 0.05$).

Table 4. Changes in viable cell of fermented tofu during fermentation for 14 weeks at 20°C (log CFU/g)

Group ⁴⁾	Fermentation time (weeks)									
	0	1	2	4	6	8	10	12	14	
TAB ¹⁾	Control	3.45±0.02 ^{5)cC}	5.31±0.18 ^{bB}	5.97±0.03 ^{aC}	5.25±0.37 ^{bB}	4.96±0.18 ^{cB}	3.96±0.15 ^{dC}	3.27±0.08 ^{cC}	3.28±0.02 ^{cC}	3.19±0.11 ^{eA}
	TL	4.11±0.00 ^{fA}	6.06±0.02 ^{bA}	6.58±0.10 ^{aB}	5.72±0.19 ^{cAB}	5.17±0.17 ^{dB}	4.31±0.02 ^{eB}	4.12±0.10 ^{fA}	3.99±0.15 ^{fB}	3.25±0.05 ^{gA}
	TPL	3.61±0.01 ^{gB}	6.13±0.02 ^{bA}	6.74±0.04 ^{aA}	6.10±0.02 ^{bA}	5.98±0.07 ^{cA}	5.16±0.02 ^{dA}	5.08±0.00 ^{eB}	4.61±0.01 ^{fA}	3.09±0.09 ^{hA}
LAB ²⁾	Control	2.34±0.21 ^{gA}	4.61±0.10 ^{cC}	6.04±0.08 ^{caAB}	4.85±0.00 ^{bC}	4.47±0.09 ^{cC}	4.28±0.04 ^{dC}	3.98±0.02 ^{eB}	3.48±0.01 ^{fC}	3.38±0.03 ^{fA}
	TL	2.53±0.20 ^{hA}	6.60±0.02 ^{aB}	5.92±0.01 ^{bB}	5.49±0.02 ^{cB}	5.39±0.02 ^{cB}	4.90±0.18 ^{dB}	4.49±0.42 ^{eA}	4.02±0.06 ^{fB}	3.45±0.02 ^{gA}
	TPL	2.60±0.01 ^{iA}	6.73±0.04 ^{aA}	6.15±0.11 ^{bA}	5.89±0.04 ^{cA}	5.57±0.01 ^{dA}	5.29±0.12 ^{eA}	4.97±0.02 ^{fA}	4.45±0.03 ^{gA}	3.43±0.05 ^{hA}
CB ³⁾	Control	2.17±0.01 ^{aA}	1.61±0.01 ^{bA}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TL	2.32±0.17 ^{aA}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TPL	2.27±0.04 ^{aA}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾TAB: Total aerobic bacteria. ²⁾LAB: Lactic acid bacteria. ³⁾CB: Coliform bacteria.

⁴⁾Control: tofu in *kimchi* seasoning, TL: tofu with lactic acid bacteria in *kimchi* seasoning, TPL: tofu in pre-fermented *kimchi* seasoning with lactic acid bacteria for 12 hr at 20°C.

⁵⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

^{a-i}Values with different letters within a row differ significantly (p<0.05).

^{A-C}Values with different letters within a column differ significantly (p<0.05).

Table 5. Sensory evaluation of fermented tofu after fermentation for 14 weeks at 20°C

Group ¹⁾	Taste	Color	Flavor	Texture	Overall acceptability
Control	2.43±0.53 ^{2)a}	3.14±0.69 ^a	2.71±0.49 ^a	2.57±0.79 ^a	2.57±0.53 ^a
TL	2.86±0.38 ^{ab}	3.29±0.49 ^a	3.29±0.49 ^b	3.29±0.95 ^b	2.71±0.49 ^{ab}
TPL	3.29±0.49 ^b	3.57±0.79 ^a	3.43±0.53 ^b	3.43±0.79 ^b	3.14±0.38 ^b

¹⁾Control: tofu in *kimchi* seasoning, TL: tofu with lactic acid bacteria in *kimchi* seasoning, TPL: tofu in pre-fermented *kimchi* seasoning with lactic acid bacteria for 12 hr at 20°C.

²⁾Values are means±standard deviation of triplicate determinations.

^{a,b}Values with different letters within a column differ significantly (p<0.05).

것으로 판단된다. 이상의 결과로 미루어 보아 두부와 김치 양념을 혼합한 유산발효는 가능할 것으로 판단되며, 특히 정장의 작용이 가능한 유산균을 starter로 첨가할 경우 발효에 의한 이점과 더불어 첨가 유산균에 의한 기능성이 부가되어 기능성식품으로서의 발효두부 제조가 가능할 것으로 판단된다.

유산발효두부의 기호성

유산발효두부의 맛, 색, 향, 조직감, 종합적 기호도에 대한 기호성은 Table 5와 같다. 맛, 향, 조직감 그리고 종합적 기호도는 TL구와 TPL구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 경향을 나타내었으며, 종합적 기호도는 TPL구가 가장 양호하였다. 이와 같이 *P. acidilactici* KL-6를 starter로 사용한 유산발효두부는 새로운 형태의 두부발효제품이며, 정장의 작용이 있는 유산균이 함유된 기능성식품으로서의 가치가 있을 것으로 판단된다. 이러한 발효두부는 단독 또는 보조식품으로서 활용이 가능할 것으로 판단된다. 향후 산업적 제조에 앞서, 발효특성 구명, 유산발효두부가 갖는 다양한 기능성에 관한 연구 그리고 원료의 전처리에 따른 발효기법에 관한 폭넓은 연구가 선행되어야 할 것으로 판단된다.

요 약

김치 및 젓갈류에서 probiotics의 기능을 갖는 유산균을

분리하여 발효두부 제조용 starter로 선별하여 김치양념을 이용한 발효두부 제조 가능성을 검토하였다. 분리한 60균주의 병원성균에 대한 항균활성과 인공위액 및 담즙산에 대한 내성이 우수한 균주 KL-6를 선발하였다. 최종 선발된 KL-6의 배양액의 DPPH free radical 소거능을 측정한 결과 성장에 따라 항산화 활성이 증가하였고, 16S rRNA 염기서열 분석에 의해 동정한 결과 *P. acidilactici* KL-6(100%)로 확인되었다. 김치 양념과 혼합한 두부(Control)와 선발유산균을 starter로 접종(2%, v/v)하여 김치 양념과 혼합한 두부(TL) 그리고 starter를 접종하여 37°C에서 24시간 동안 전 발효시킨 김치 양념과 혼합한 두부(TPL)의 발효 특성을 비교하였다. pH는 발효 1주 경과 후 모든 처리구에서 감소하였고, 발효 14주에 각 처리구별 pH는 3.96(control), 3.97(TL), 4.03(TPL)이었다. 유산발효두부의 총균수는 발효 2주까지 모든 처리구에서 증가하였으며, 이후 감소하는 경향을 나타내었다. 유산균수의 경우 TL 및 TPL구는 발효 1주째, 대조구는 발효 2주째 10⁶ CFU/g에 도달하였으며, 발효가 진행됨에 따라 각 처리구 공히 감소하여 발효 14주째 10³ CFU/g을 나타내었다. 대장균균수의 경우 대조구는 발효 1주일째까지 관찰되었으나, TL 및 TPL구는 발효 1주째부터 관찰되지 않았다. 기호성은 TL구와 TPL구가 맛, 향, 조직감, 종합적 기호도에서 대조구보다 높았으며, TPL구가 가장 우수하였다.

문헌

1. Tannock GW. 1997. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Trends Biotechnol* 15: 270-274.
2. Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66: 365-378.
3. Fuller R. 1991. Probiotics in human medicine. *Gut* 32: 439-442.
4. Takiguchi R, Mochizuki E, Suzuki Y, Nakajima I, Benno Y. 1997. *Lactobacillus acidophilus* SBT 2928 on harmful intestinal bacteria. *J Int Microbiol* 11: 11-17.
5. Koo SM, Cho YH, Huh CS, Beak YJ, Park JY. 2001. Improvement of the stability of *Lactobacillus casei* YIT 9018 by microencapsulation using alginate and chitosan. *J Microbiol Biotechnol* 11: 376-383.
6. Cambell GL, Bedford MR. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds: a review. *Can J Anim Sci* 72: 449-466.
7. Smith AK, Cirrcle ST. 1978. *Soybean chemistry and technology*. Avi Publishing Co., Westport, CT, USA. p 410.
8. Reddy NR. 1986. *Legume-based fermented foods*. CRC press, Inc., Boca Raton, FL, USA. p 69.
9. Wang HL, Hesseltine CW. 1970. Sufu and lao-chao. *J Agr Food Chem* 18: 572-575.
10. Kim TY, Kim JM, Yoon IH, Chang CM. 1994. Changes in chemical components of soybean cheese making from cow's milk added soybean curd. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 837-844.
11. Kim GH, Lee YH. 1981. Changes of chemical components on soaking fermentation in soybean cheese. *Korea J Appl Microbiol Biotechnol* 9: 153-158.
12. Park KH, Kim ZU. 1980. Preparation of cheese like product from soybean. *J Korean Agric Chem Soc* 23: 115-121.
13. Lee SH, Kim YT, Shon MY, Sung CK, Park SK. 2001. Quality properties of fermented tofu prepared with different molds and coagulants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 617-622.
14. Kobayashi Y, Tohyama K, Terashima T. 1974. Tolerance of the multiple antibiotic resistant strain *L. casei* SPR 3002 to artificial digestive fluids. *Jpn J Microbiol* 29: 691-697.
15. Lee SH, No MJ. 1997. Viability in artificial gastric and bile juice and antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 6: 617-622.
16. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
17. Aguirre M, Collins MD. 1993. Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol* 75: 95-107.
18. Gilliland SE, Staley TE, Bush LJ. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J Dairy Sci* 67: 3045-3051.
19. Paik HD, Jung MY, Jung HY, Kim WS, Kim KT. 2002. Characterization of *Bacillus polyfermenticus* SCD for oral bacteriotherapy of gastrointestinal disorders. *Korean J Food Sci Technol* 34: 73-78.
20. Chung YC, Chang CT, Chao WW, Lin CF, Chou ST. 2002. Antioxidative activity and safety of the 50 ethanol extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *J Agric Food Chem* 50: 2454-2458.
21. Joo JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 7-14.
22. Lin MY, Yen CL. 1999. Reactive oxygen species and lipid peroxidation product-scavenging ability of yogurt organisms. *J Dairy Sci* 82: 1629-1634.
23. Lim JS, Cho EJ. 2005. The physicochemical characteristics of silk-tofu added with medicinal herb powder preserved in kochujang and deonjang (tofujiang). *Korean J Food Cookery Sci* 21: 447-458.
24. Jung KO. 1994. Effect of taking effect which reaches in *kimchi* public opinion inside of the hall pathogenic bacteria multiplication. *MS Thesis*. Dongguk University, Seoul, Korea.

(2012년 7월 4일 접수; 2012년 9월 3일 채택)