

국내에서 분리된 황국균을 활용한 된장 제조 및 특성 분석

이록경¹, 조한나¹, 신미진¹, 양진화¹, 김은성¹, 김형희², 조성호³, 이지영¹, 박영수¹, 조용식⁴, 이정미², 김현영^{1*}

¹순창군 장류사업소

²농업회사법인 순창장류(주)

³(재)발효미생물산업진흥원

⁴농촌진흥청 국립농업과학원 발효식품과

Received: November 26, 2015 / Revised: December 18, 2015 / Accepted: January 3, 2016

Manufacturing and Quality Characteristics of the Doenjang made with *Aspergillus oryzae* Strains Isolated in Korea

Rokkyoung Lee¹, Hanna Cho¹, Mijin Shin¹, Jinhwa Yang¹, Eunsung Kim¹, Hyeonhoy Kim², Sung-Ho Cho³, Ji Young Lee¹, Yeong-Soo Park¹, Yong Sik Cho⁴, Jungmi Lee², and Hyoun-Young Kim^{1*}

¹Institute of Sunchang Fermented Soybean Products, Sunchang 56048, Republic of Korea

²Sunchang Jangryu Corporation, Sunchang 56048, Republic of Korea

³Microbial Institute for Fermentation Industry, Sunchang 56048, Republic of Korea

⁴Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

This study was conducted to evaluate the possible utility of 3 *Aspergillus oryzae* strains (designated as SCF-6, SCF-37, and JJSH-1), isolated from Korean traditional fermented materials, as starter cultures in the soybean paste industry. Doenjang (fermented soybean paste) was made with the *A. oryzae* strains described above, and its quality attributes were analyzed during a 60-day aging period. No significant differences in pH, moisture, or salt content were detected among the doenjang varieties made with the 3 *Aspergillus* strains. The concentration of amino-nitrogen, an indicator of doenjang aging, increased in each sample during the aging period. After the 60-day aging period, the contents of amino-nitrogen and free amino acid in doenjang made with SCF-6 showed the highest concentrations among the tested doenjang products: 971.6 and 8,064.9 mg%, respectively. Measurements of the color of doenjang showed that lightness and yellowness decreased during the aging period, but redness increased. After the 60-day aging period, the γ -aminobutyric-*n*-acid (GABA) concentrations in doenjang made with SCF-6 and SCF-37 were 61.3 and 53.7 mg%, respectively. In doenjang samples, aflatoxin was not detected and the concentrations of biogenic amines (histamine and tyramine) were 2.55–5.60 mg/kg and 3.70–5.87 mg/kg, respectively. These results indicated that *A. oryzae* SCF-6 isolated from traditional fermented foods could be useful as a starter culture in the soybean paste industry.

Keywords: *Aspergillus oryzae*, koji, doenjang, free amino acid, protease activity, aging

서 론

청국장, 간장 등과 함께 재래식 된장은 단백질과 아미노산 함량이 높고, 저장성이 뛰어나며, 특유의 맛과 향을 지니고 있어, 우리 조상들의 식생활에 널리 애용되어 왔다[8, 12, 16, 20, 33]. 재래식 된장은 필수아미노산, 지방산, 유기산, 미네

랄, 비타민 등을 보충해 줄 수 있어 영양학적으로 우수하며 [5], 항산화 효과[10], 혈전용해 효과[15], 항암효과[23], 고혈압 방지효과[31], 항돌연변이성[27] 등 각종 생리활성 효과에 대한 연구가 활발히 진행되어왔다. 하지만 품질의 균일화가 어려워 제조업체에 따라 관능품질의 차이가 많으며 소비자의 연령층이나 취향에 따라 선호도의 차이가 크다[21].

최근 곡물에 황국곰팡이(*Aspergillus oryzae*)를 배양하여 제조된 코지(koji)로 콩과 함께 혼합 담금하여 제조된 미소(일본식 된장)의 제조 기술[32]과 설비의 기계화가 이루어지면서 대량생산하게 됨에 따라 개량식 된장이 보급되었다. 그

*Corresponding author

Tel: +82-63-650-5451, Fax: +82-63-650-5429

E-mail: kangwon01@korea.kr

© 2016, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

리고 개량식 된장의 맛과 풍미를 개선하고자 코지와 메주를 혼합 이용하여 전통 풍미를 지닌 개량된장을 제조하고 있으나, 업체별, 제품 종류별 품질차이가 있으며 품질 특성으로는 전통된장과 일본식 된장의 중간 형태를 띄고 있다[28]. 전통적인 방식으로 메주를 띄우는 동안 수 많은 종류의 세균과 곰팡이류가 자연적으로 착생하고 이러한 메주를 이용하여 된장을 제조할 경우, 숙성과정에서 다양한 미생물들의 대사작용에 의하여 그 된장 특유의 품질 특성이 나타나게 되는데, 제조 장소 및 시기에 따라 전통메주의 품질이 균일하지 못하고, 잡균의 오염과 같은 문제점이 나타나고 있다[2, 17].

이러한 전통된장 단점을 보완하기 위해서 접종균의 이용이 바람직하며 최근 접종균의 전통식품 응용연구가 활발히 진행되고 있고, 장류 제조회사에서 장류 제품 품질의 균일한 위생학적 관리를 위해 종균을 사용하여 메주를 포함한 장류를 제조하고 있으나, 사용되고 있는 종균은 한국형 균주가 아니라 일본에서 종균화된 균주를 대부분 사용하고 있다[14]. 따라서, 우리나라의 고유의 발효식품(메주, 된장, 누룩 등)들은 전래되어 오는 전통기술에 의하여 주로 제조되었으나, 점점 산업화 사회로 전환되면서 식품생산 공장을 위한 균일 품질 및 고품질 생산기술이 필요한 실정이다. 그리고 전통발효식품의 발효에 관여하는 미생물들은 우리나라의 귀중한 유전자원이며, 이러한 유전자원들이 소멸되기 전에 발굴하여 보존하기 위한 기술 개발이 이루어져야 한다.

본 연구에서는 전라북도에서 시판되고 있는 전통적인 방식으로 제조된 메주 및 누룩을 구입하여 분리된 곰팡이 중 단백질 분해 역가가 높은 황국곰팡이를 확보하였다. 이를 메주 접종균으로 하여 된장을 제조하고 그 품질을 비교 평가함으로써 국내에서 분리한 황국균의 장류 산업에 대한 활용 가능성을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 원료

본 실험에 사용한 균주는 전라북도 순창지역 다른 전통 메주에서 각각 분리한 *Aspergillus oryzae* SCF-6과 *A. oryzae* SCF-37[21] 그리고 전주 전통주 회사에서 제조한 누룩으로부터 Lim 등[21]의 방법 대로 본 연구에서 분리한 *A. oryzae* JJSF-1를 사용하였다. 본 연구에 사용된 *A. oryzae* 균주는 PDA(Difco Co. USA) 배지에 접종하여 30°C에서 7일간 배양하여 다음 실험에 사용할 때까지 4°C에 보관하였다. 본 실험에 사용한 찰과 대두는 순창에서 생산된 제품을 구입해 사용하였다.

코지 제조

코지를 제조하기 위하여 백미를 수세하고 6시간 침지시킨

후 2시간 물 빼기를 하고, 121°C에서 30분간 증자한 후 실온에서 냉각시켰다. PDA 배지에서 7일간 배양된 *Aspergillus oryzae* SCF-6, SCF-37 그리고 JJSH-1을 각각 멸균된 NaCl 0.85% 수용액에 현탁하였다. 이후 현탁액을 10⁴ spores/g 되도록 백미에 각각 접종하고 항온 항습기(Jeiotech Co. Korea)에 넣고 7일 동안 제육하였다. 온도는 30°C로 유지하였으며 상대습도는 80%로 유지하였다.

날알메주 제조

날알메주를 제조하기 위하여 대두를 수세 및 선별하고 121°C에서 30분간 증자한 후 실온에서 냉각시켰다. 증자된 대두 2.8 kg을 제육상자(45 cm × 30 cm × 5 cm)에 담고 증자된 대두 무게에 0.5%가 되도록 미리 제조된 코지를 접종하여 항온항습기(30°C, 상대습도 80%)에서 48시간 제육하였다. 제육과정 동안 품온이 40°C가 넘지 않도록, 3-4회 대두를 뒤지기 하여 대두 표면에 곰팡이 균사의 형성이 잘 되도록 유도하였다[19].

된장 제조

증자된 대두 1.29 kg에 제육된 날알메주 0.98 kg을 첨가하고 소금 1.18 kg을 완전히 용해하여 최종 염 농도가 13 ± 0.5% 그리고 총 무게가 5 kg 되도록 첨가하였다. 혼합한 조성물은 파쇄하여 20 L 플라스틱 용기에 담고 30°C 항온 항습기에서 저장 숙성하였다. 60일 저장 숙성 동안 15일 간격으로 시료를 취하여 아래와 같이 분석하였다.

일반성분 분석 및 효소활성 측정

수분은 적외선 수분측정기(FD-720, Kett, Japan)를 이용하여 0.1% 이하의 유의차를 향량으로 측정하였으며, 염도는 시료 10 g을 90 ml의 증류수를 넣어 믹서기로 균질화 한 후, 염도계(TM-30D, Takemura, Japan)로 측정하였고, pH는 시료 10 g을 동량의 증류수로 희석하여 직접 pH meter(Mettler Toledo, Switzerland)로 측정하였다[19]. 아미노산성 질소는 Formol 적정법을 사용하여 정량하였다[1, 9]. 된장의 표면색도 측정은 색차계(Colorimeter, Model CR-300, Minolta, Japan)를 사용하여 명도(L 값), 적색도(a 값, +: 적색, -: 녹색), 황색도(b 값, -: 황색, +: 청색)로 나타내었으며 3회 반복 측정하였다. 이때 사용한 표준 백색판의 L, a, b 값은 각각 95.96, 0.31 및 2.44이었다. Protease 활성은 Hagihara의 방법[4]을 변형하여 측정하였다. 효소액 0.5 ml에 0.1 M phosphate buffer(pH 6.2) 1 ml를 가한 다음, 기질용액(0.6% casein, pH 6.2)를 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응후 0.44 M trichloroacetic acid(TCA) 2.5 ml를 넣어 반응을 중지시키고 실온에서 10분간 방치한 다음 원심분리시켜 상등액 1 ml에 0.55 M Na₂CO₃ 용액 10 ml와

1 ml의 1 N Folin & ciocalteus' reagent 용액을 넣어 37°C에서 30분간 발색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 1 unit는 1분 동안 tyrosine 1 µg을 유리시키는 양을 환산하여 나타내었다.

유리아미노산 분석

유리아미노산은 식품공전에 준하여 측정하였다[17]. 시료 3 g을 취하여 70% 에탄올 30 ml를 가하고 1시간 동안 균질화한 후, 원심분리(15,000 × g, 15 min)하였다. 상등액을 70% 에탄올 25 ml로 2회 반복 추출하고, 추출액을 합하여 감압 농축하였다. 이 농축물을 0.02 N HCl 20 ml에 녹이고 10배 희석하여 0.22 µm syringe filter로 여과 후 아미노산 자동분석기(Hitach L-8900, Japan)에 주입하여 분석하였다.

아플라톡신 및 바이오제닉아민 분석

아플라톡신 분석은 식품 공전법[9]을 활용하여 측정하였다. 시료 25 g에 추출용액(NaCl 1 g을 물 30 ml에 녹인 후 메탄올 70 ml를 가하여 혼합한 용액) 100 ml를 첨가하여 균질화한 후, 여과지(No 2, Whatman, Buckinghamshire,

UK)로 여과하고 그 여액 10 ml에 증류수 30 ml를 가하여 희석하였다. 희석액 20 ml를 immunoaffinity column(Afla Test™ WB, VICAM, Waters)에 주입하여 초당 1방울 정도의 속도로 통과시켰다. 이후 물 10 ml를 같은 유속으로 유출시켰다. 컬럼 내에 남아 있는 용액을 감압펌프를 이용하여 제거한 후 아세토니트릴 3 ml로 용출시켰다. 용출액은 질소로 건조시키고 잔류물에 트리플루오로초산 0.2 ml를 가하여 암소에서 15분간 방치한 후 80% 아세토니트릴 용액 0.8%를 가하여 혼합하고 0.45 µm 멤브레인 필터로 여과하여 식품공전법[9]에서 제시한 대로 아플라톡신 표준용액을 조제하고, HPLC/FLD를 활용하여 아플라톡신 B1, B2, G1, 그리고 G2를 각각 분석하였다(Table 1).

바이오제닉 아민 분석은 García-García 등[3]의 방법을 사용하였다. 시료 5 g에 0.1 N 염산 15 ml를 가한 후 균질화하고 원심분리(4,000 × g, 4°C, 15 min) 한 후 상등액을 취하였다. 이러한 조작을 3회 반복하여 취합된 상등액에 0.1 N 염산을 가해 최종 부피가 50 ml이 되도록 하였다. 포화탄산나트륨용액과 1% 염화단실아세톤용액으로 유도체화 된 표준용액 및 시료를 HPLC로 분석하였다(Table 2).

Table 1. The operation condition of HPLC/FLD for aflatoxin B1, B2, G1 and G2.

Parameters	Conditions
Instrument	Shiseido SI 2
Detector	FLD (Em: 360 nm, Ex: 450 nm)
Column	Shiseido UG 120 (4.6 × 250 mm, 5 µm)
Temperature	40°C
Injection volume	10 µl
Flow rate	1 ml/min
Mobile phase	Acetonitrile: D.W. (75:25, v/v)

Table 2. The operation condition of HPLC for biogenic amines (HIS, TRY).

Parameters	Conditions
Instrument	Shiseido SI 2
Detector	UV 254 nm
Column	Shiseido UG 120 (4.6 × 250 mm, 5 µm)
Temperature	40°C
Injection volume	10 µl
Flow rate	1 ml/min
Mobile phase	A: H ₂ O, B: Acetonitrile
Gradient	A:B = 45:55, 0–10 min A:B = 35:65, 10–15 min A:B = 20:80, 15–25 min A:B = 10:90, 25–30 min A:B = 10:90, 30 min over

결과 및 고찰

일반성분 변화

본 연구에서는 국내 발효식품에서 분리된 곰팡이 중 단백질 분해 역가가 높은 황국곰팡이의 장류 산업의 가능성을 확인하고자 *Aspergillus oryzae* SCF-6, 37 그리고 JJSH-1을 메주 접종균으로 활용하여 된장을 제조하고 그 품질을 비교 평가하였다. *A. oryzae* 3종의 균주를 각각 활용하여 제조한 된장 시료의 60일 발효 숙성 과정에서의 pH 변화는 Fig. 1A와 같다. 된장 발효 초기의 6.15–6.58 수준으로 나타났고 숙성과정을 거치면서 5.31–5.68로 낮아졌으나 시료간의 유의적 차이는 없었다. *A. oryzae*를 접종하여 제조한 콩알 메주 된장[24]과 citric 및 phytic acid를 첨가한 된장의 숙성 과정에서도 pH가 전반적으로 낮아지는 추세[14]와 유사한 것으로 나타났다. 된장 숙성 중의 pH 저하는 다른 장류 발효식품에서도 나타나는 일반적인 현상으로 숙성 중 미생물의 작용으로 lactic acid, acetic acid, oxalic acid 등의 유기산 생성이 원인이라고 알려졌다[14]. 일반적으로 pH 저하로 인한 산도 증가는 된장국을 끓였을 때 맛에서도 영향을 주기 때문에 된장의 pH 변화는 된장의 품질 특성을 판단하는 중요한 인자라고 볼 수 있다.

숙성과정 중 된장 시료의 수분함량 및 염도의 변화는 각각 Fig. 1B, C와 같다. 시료의 수분함량은 평균 51.2%로서 50.6–53.6%의 범위에서 나타났으며 숙성기간 동안 큰 변화 없이 비슷한 수준을 유지하였다. 된장은 숙성과정 동안 제조

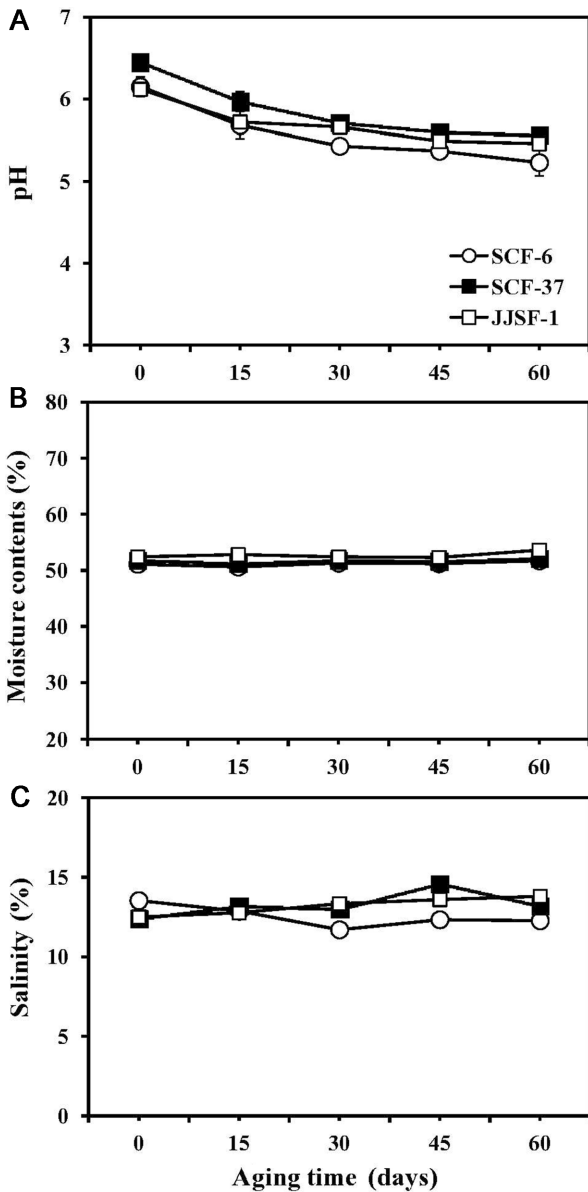


Fig. 1. Changes in pH (A), moisture contents (B), and salinity (C) during aging of doenjang at 3°C for 60 days. ○: Doenjang made with round shaped meju inoculated with *A. oryzae* SCF-6, ■: Doenjang made with round shaped meju inoculated with *A. oryzae* SCF-37, □: Doenjang made with round shaped meju inoculated with *A. oryzae* JJSF-1, respectively.

원료 자체의 수분 함량과 숙성 기간 중 상대 습도의 변화, 고형분의 분해 정도에 의해 수분 함량이 달라지는 것으로 보고되고 있는데 [7], 본 연구에서 제조된 된장의 수분함량은 시판되고 있는 전통된장 15종의 수분함량 49.5–58.9%과는 유사하나 [11], 현미 코지를 이용한 쌀 된장 [19]의 수분함량보다는 다소 낮은 수치이다.

염도의 경우 담금 직후에는 12.4–13.5%로 시료 간에 큰 차이가 없었으며 숙성 60일에는 12.3–13.8%로 염도가 다소 높아지는 것은 숙성기간 중 숙성 환경에 의해 일부 수분의 증발이 일어난 것으로 생각되나 염도의 변화는 크지 않았으며, 배합 시 목표염도로 계산했던 13%로 측정되었다. 이러한 경향은 숙성기간 중에 염도의 변화가 미비하였다는 다른 연구결과와 유사하다 [4].

아미노산성 질소 변화

아미노산성 질소의 함량은 된장의 숙성 정도를 나타내는 중요한 기준으로 콩 단백질이 미생물의 효소작용(protease)으로 가수 분해되어 생성된다 [30]. 일반적으로 아미노산성 질소는 제조과정에서 대두 단백질의 변성도, 발효 미생물의 생육과 효소 생성 조건 그리고 보관 및 숙성 등에 의해 차이가 나타나며, 함량이 높은 장류가 성분 면에서 좋은 것으로 평가된다 [11]. 된장의 한국산업규격과 전통식품규격에 의하면 아미노산성 질소 함량 기준을 300 mg% 이상으로 규정하고 있다. 본 연구에서 제조 초기에는 286.7–442.1 mg%에서 숙성이 진행됨에 따라 증가하여 숙성 60일째에는 SCF-6을 활용하여 제조한 된장이 971.6 mg%로 높았으며 SCF-37 (954.3 mg%) 그리고 JJSF-1(773.8 mg%) 순으로 나타났으나 45일째까지는 SCF-37로 제조한 된장의 아미노산성 질소 함량이 SCF-6의 것보다 높게 유지되었다. 아미노산성 질소의 함량은 모든 시료에서 초기보다 2–2.7배 가량 증가하였다 (Fig. 2). 이는 다른 조건은 동일한 상태에서 접종 미생물만을 달리한 경우로 접종 미생물 및 낱알메주 제조 상태 따라 차이가 나타난 것으로 판단되며, 특히 protease 활성의 차이에 의한 것으로 판단된다 (Fig. 3). 된장 제조시 protease 활

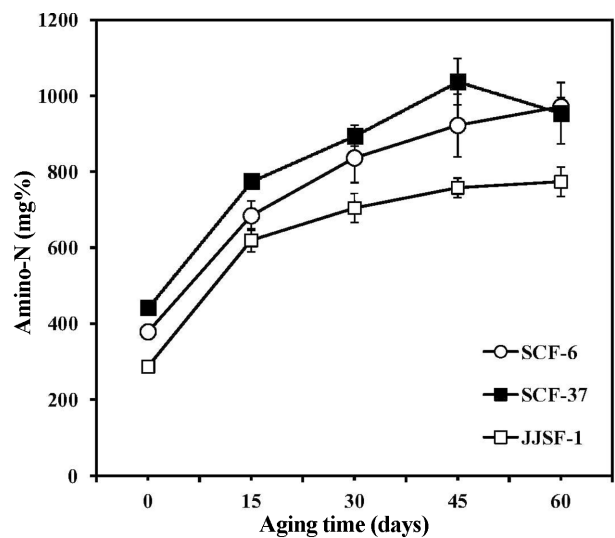


Fig. 2. Changes in amino-type nitrogens during the aging of doenjang at 30°C for 60 days.

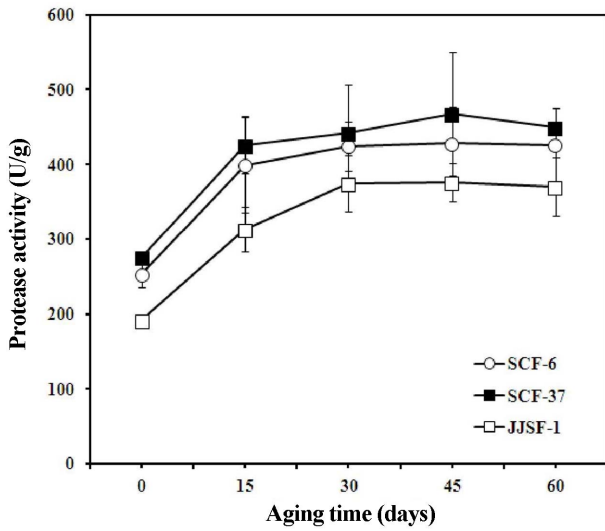


Fig. 3. Changes in protease activity during the aging of doenjang at 30°C for 60 days.

성은 191.6–275.7 U/g이었으며 비교적 초기의 protease 활성이 높은 SCF-6과 37로 각각 제조된 된장은 숙성 15일까지 급격히 증가한 후 숙성 60일까지 일정한 수준을 유지한 반면 비교적 초기의 낮은 protease 활성(191.6 U/g)을 보인 JJSF-1으로 제조된 된장은 숙성 30일까지 증가 후, 일정한 수준을 유지하였다. 본 연구결과에서 아미노산성 질소 함량은 재래식 된장 제조 시 아미노산성 질소 함량이 377.2–834.08 mg%이었고[26], 국내 시판 장류의 아미노산성 질소 함량은 207.6–443.6 mg%이었다는 보고[29]에 비해 비교적 높았으며, 아미노산성 질소함량이 된장의 숙성기간이 경과함에 따라 계속 증가한다는 경향과 유사하다[11].

유리아미노산 함량 비교

A. oryzae 균주에 따라 제조한 된장의 유리아미노산 함량 결과는 Table 3에 나타내었다. 아미노산 분석결과, 모든 시료에서 glutamic acid > arginine > leucine > histidine 순으로 나타났다. 이러한 결과는 현미 코지를 이용한 쌀 된장의 유리아미노산을 측정된 실험결과[20]와 유사한 반면, 미생물 급원을 달리한 숙성 된장의 유리아미노산 측정된 실험 결과 된장에 따라 다소 차이가 날 수 있고 glutamic acid, tyrosine, lysine aspartic acid 등이 비교적 많이 검출되었다는 보고 [13]와는 차이가 있다. 일반적으로 된장의 맛은 유리아미노산에 의해 좌우되며, 담금 원료, 숙성 온도, 숙성 기간에 따라 차이가 날 수 있고, aspartic acid, cystine, glutamic acid 는 된장의 구수한 맛을 내는 성분으로 알려졌으며, leucine 과 isoleucine은 쓴 맛에 영향을 줄 수 있다고 알려졌다[24]. 유리아미노산 총 함량은 SCF-6, SCF-37와 JJSF-1은 각각

Table 3. Contents of free amino acids in doenjang after aging of 60 days.

Amino acids	Content in sample (mg%)		
	SCF-6	SCF-37	JJSF-1
Phospho ethanol amine	190.5	169.5	38.6
Aspartic acid	567.5	631.2	493.2
Threonine	315.7	246.8	179.2
Serine	462.6	419.0	338.8
Glutamic acid	1169.2	933.1	826.4
α-Amino adipic acid	190.2	158.8	173.1
Glycine	418.8	540.4	315.0
Alanine	455.9	473.8	364.0
Citrulline	30.8	0.0	0.0
α-Amino-n-butyric acid	12.0	12.6	13.7
Valine	463.5	460.7	416.4
Cystine	21.1	29.5	44.5
Methionine	114.7	138.9	150.7
Isoleucine	8.0	13.7	14.4
Leucine	770.0	723.8	738.0
Tyrosine	164.2	171.9	173.0
Phenylalanine	463.7	449.5	466.6
β-Alanine	245.4	135.8	116.0
β-Amino iso bytyric acid	35.5	115.7	110.2
γ-Amino-n-butyric acid	61.3	53.7	0.0
Ethanol amine	11.6	11.3	10.3
Ornithine	4.0	2.8	5.1
Lysine	1.2	645.9	0.9
1-Methylhistidine	604.5	0.0	587.4
Histidine	132.8	126.6	114.4
3-Methylhistidine	0.0	0.0	0.0
Arginine	774.3	769.6	786.0
Proline	381.9	346.9	219.0
Total	8,064.9	7,744.5	6,693.9

8,064.9, 7,744.5 그리고 6,693.9 mg% 측정되었는데, 단백질 분해효소 역가가 높을수록 유리아미노산 함량이 높게 나타났다. 이러한 결과는 *A. oryzae* 및 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하여 제조한 쌀 된장의 유리아미노산 총 함량인 3455.9–4047.0 mg%[20]보다 약 2배 정도 높은 것으로 나타났다. 또한 전국에서 수거한 전통 된장의 유리아미노산은 707.4–4403.5 mg% 범위였으며, 전통된장의 평균 유리아미노산 총량인 2908.9 mg%[24]보다도 많은 유리아미노산이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

γ-Amino-n-butyric acid(GABA)는 식품 중에 널리 분포하고 있으며, 인체에서 중추신경계 전달물질로 작용하며, 혈압 상승억제, 혈중 cholesterol 및 중성지방의 억제, 뇌의 혈류 개선 등 많은 약리적 효과가 알려져 의약품 원료로 사용되

Table 4. Changes of hunter color in doenjang during aging of 60 days.

Samples	Hunter	Aging time (days)				
		0	15	30	45	60
SCF-6	L	38.2 ± 0.22 ^{a)}	34.0 ± 0.61	29.5 ± 0.2	30.2 ± 0.18	29.3 ± 0.39
	a	5.3 ± 0.23	6.9 ± 0.6	6.0 ± 0.09	6.8 ± 0.04	6.0 ± 0.04
	b	6.6 ± 0.04	5.3 ± 0.35	2.4 ± 0.05	2.4 ± 0.04	0.2 ± 0.14
SCF-37	L	36.8 ± 0.07	36.9 ± 0.13	31.3 ± 0.38	30.5 ± 0.15	30.1 ± 0.03
	a	5.1 ± 0.09	5.6 ± 0.09	7.5 ± 0.16	6.5 ± 0.33	6.1 ± 0.06
	b	6.7 ± 0.28	4.9 ± 0.15	4.3 ± 0.17	2.0 ± 0.08	0.0 ± 0.1
JJSF-1	L	41.6 ± 0.36	37.1 ± 0.44	34.7 ± 0.32	33.8 ± 0.17	32.8 ± 0.21
	a	5.9 ± 0.11	6.6 ± 0.1	7.8 ± 0.06	8.4 ± 0.22	7.7 ± 0.14
	b	8.8 ± 0.16	7.0 ± 0.27	6.1 ± 0.1	5.5 ± 0.20	2.2 ± 0.38

^{a)}mean ± S.D

고 있다[22, 25]. 숙성 60일째 GABA 함량은 SCF-6과 37에서 각각 61.3과 53.7 mg%로 측정된 반면 JJSF-1에서는 불검출되었다. SCF-6과 37에서 측정된 GABA의 함량은 Jo 등 [7]이 보고한 1년 숙성 된장의 GABA 함량 43.8 mg%에 비해 다소 높은 수준이었다. 추후 된장숙성 동안의 GABA 함량 분석 및 GABA 함량을 증진 조건에 대한 연구가 필요하지만, *A. oryzae* SCF-6과 37을 활용하여 GABA 함량이 높은 기능성 된장의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

색도변화

시료 된장의 색도인 L 값(명도), a 값(적색도), b 값(황색도)의 변화는 Table 4와 같다. 모든 시료에서 된장 숙성 경과 동안 명도는 감소하였다. 최종 숙성 시료의 명도는 29.3-32.8 수준으로 나타났고, JJSF-1 시료의 명도가 높았으며 SCF-6에서 낮은 명도를 나타내었다. a 값은 숙성기간 동안 증가하였으며, 최종 숙성 시료의 a 값은 6.0-7.7 수준으로 나타났다. 황색도는 숙성이 진행하면서 감소하였다. 명도와 황색도는 단백질분해효소 역가와 상관관계가 있음을 보여주고 있는데 단백질 분해효소 역가가 높을수록 명도와 황색도가 더욱 낮아짐을 알 수 있었다. 이러한 결과는 단백질분해효소 작용으로 생성된 유리아미노산과 생성된 유리당이 aminocarbonyl 반응을 통해 melanoidin을 형성하게 되며, 된장의 색은 이러한 melanoidin의 의한 것으로 알려졌다. 된장 시료의 색도 정도는 가정에서 제조된 전통된장[29], 황국균을 활용한 개량식 된장 제조[24] 결과보다 낮은 수준으로 나타났다.

아플라톡신 및 바이오제닉 아민 함량 조사

사전 연구를 통해 본 연구에서 된장제조에 사용된 *A. oryzae* 균주는 아플라톡신을 생성하지 않는 것으로 확인하였으나[21], 낱알 메주 그리고 된장은 개방된 공간에서 혼합, 제조함으로 형태학적으로 *A. oryzae*와 유사하고 아플라

Table 5. Contents of aflatoxin and biogenic amines (HIS, TRY) in doenjang after aging of 60 days.

Samples	Total aflatoxin (µg/kg)	Biogenic amine (mg/kg)	
		Histamine	Tyramine
SCF-6	0	4.84 ± 1.53	5.33 ± 0.51
SCF-37	0	5.60 ± 0.61	3.70 ± 0.42
JJSF-1	0	2.55 ± 2.32	5.87 ± 0.96

톡신을 생성할 수 있는 *A. flavus* 또는 *A. parasiticus* 등의 곰팡이가 공기 중으로 전파되어 제조 과정 중에 착생될 우려가 있다[20]. 또한 된장 숙성 과정 중에 미생물의 작용에 의해 바이오제닉 아민이 발생될 수 있어 아플라톡신과 바이오제닉 아민은 제조된 된장의 품질에 중요한 요인이 될 수 있다[18]. Lee 등[18]은 국내 유통 발효식품 중 바이오제닉 아민 함량을 분석한 결과, 장류 제품 중 된장의 경우 histamine과 tyramine의 함량이 다른 바이오제닉 아민 보다 상대적으로 높게 측정되었다고 보고하였다. 숙성이 끝난 된장을 대상으로 아플라톡신과 바이오제닉 아민 중 histamine과 tyramine의 함량을 우선 분석한 결과, 모든 시료에서 아플라톡신은 불검출 되었고, histamine 함량은 2.55-5.60 mg/kg 그리고 tyramine은 3.70-5.87 mg/kg으로 측정되었다 (Table 5). 곰팡이 코지를 활용하여 제조한 된장은 비교적 깨끗한 환경에서 제조되었음을 보여주는 결과라고 사료된다. 일반적으로 식품에서 주로 검출되는 바이오제닉 아민은 histamine과 tyramine 외에 putrescine, cadaverine, tyrtamine, agmatine 등이 대표적이므로 제조된 된장에서 이러한 바이오제닉 아민 함량 분석 또한 필요하다[18].

요 약

국내 전통발효식품으로부터 protease 활성이 높은 *Aspergillus*

oryzae SCF-6, SCF-37, 그리고 JJSF-1 균주를 선발하여 된장을 각각 제조하고 60일간 숙성하면서 품질을 비교 평가하였다. 60일 숙성 동안 수분 염도 및 pH는 시료 간에 큰 차이가 없었다. 된장의 숙성지표가 되는 아미노산성 질소의 함량은 숙성 경과에 따라 증가하여 60일 숙성 후 SCF-6을 활용하여 제조한 된장이 971.6 mg%로 다른 시료보다 높았으며, 유리아미노산 함량도 상대적으로 높은 8,064.9 mg%이었다. SCF-6과 37로 제조한 된장은 60일 숙성 후 GABA 함량이 각각 61.3과 53.7 mg%로 측정되었다. 색도는 숙성 경과에 따라 명도와 황색도는 점차 감소한 반면 적색도는 점차 증가하였다. 아플라톡신은 모든 된장에서 불검출되었고, 바이오제닉 아민 중 histamine 함량은 2.55–5.60 mg/kg 그리고 tyramine은 3.70–5.87 mg/kg으로 매우 낮게 측정되었다. 본 결과로 *A. oryzae* SCF-6은 장류 제조의 종균으로 적합한 것으로 판단된다.

Acknowledgments

This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project title : Study of starter for manufacture of yakju, distilled spirits and fermented soybean, Project No. PJ009990)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

1. AOAC. 1990. Official methods of analysis, 15th ed., Association of official analytical chemists, Washington, DC., USA, 335.
2. Chang M, Chang HC. 2007. Characteristics of bacterial-koji and doenjang (soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJ1. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 325–333.
3. García-García P, Brenes-Balbuena M, Hornero-Méndez D, García-Borrego A, Garrido-Fernández A. 2000. Content of biogenic amines in table olives. *J. Food Prot.* **63**: 111–116.
4. Hakiyara, B. 1956. Method of enzyme vol. II, Asahousyoten, Tokyo.
5. Jang KI, Ahn JB, Park JA, Jo H, Woo I, Lee SH. 2012. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial doenjang and traditional doenjang in Korea. *Korean J. Food Nutr.* **25**: 142–148.
6. Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Choi KK, Kim HK, Yang H, et al. 2011. Changes in contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean doenjang by ripening periods. *J. Korean Food Sci. Nutr.* **40**: 557–564.
7. Jung SW, Kwon DJ, Koo MS, Kim YS. 1994. Quality characteristics and acceptance for doenjang prepared with rice. *Agric. Chem. Biotech.* **37**: 266–271.
8. Jung YJ, Chung SH, Lee HK, Chun HS, Hong SB. 2012. Isolation and identification of fungi from a meju contaminated with aflatoxins. *J. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 1740–1748.
9. KFDA. 2015. Food code.
10. Kim DH, Song HP, Kim KY, Kim JO, Byun MW. 2004. A correlation between fibrinolytic activity and microflora in Korean fermented soybean products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 41–46.
11. Kim JG. 2004. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste-amino nitrogen, amino acids, and color. *J. Food Hyg. Safety* **19**: 31–37.
12. Kim JH, Yoo JS, Lee CH, Kim SY, Lee SK. 2006. Quality properties of soybean pastes made meju with mold producing protease isolated from traditional meju. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**: 7–14.
13. Kim MJ, Lee HS. 1990. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation. *Korean J. Soc. Food Sci.* **6**: 1–8.
14. Kwak EJ, Park WS, Lim SI. 2003. Color and quality properties of doenjang added with citric acid and phytic acid. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**: 455–460.
15. Kwon SH, Shon MY. 2004. Antioxidant and anticarcinogenic effects of traditional doenjang during maturation periods. *Korean J. Food Preserv.* **4**: 461–467.
16. Lee CH, Lee SS. 2002. Cereal fermentation by fungi. *Appl. Mycol. Biotechnol.* **2**: 151–170.
17. Lee, GG. 2004. Soybean paste with good storage stability and flavor, and preparation method for the same. *Korea Patent* 10-0457354.
18. Lee HT, Kim JH, Lee SS. 2009. Analysis of microbiological contamination and biogenic amines content in traditional and commercial doenjang. *J. Food Hyg. Safety* **24**: 102–109.
19. Lee SE, Suh HJ, Hwang JH. 2011. Characteristics of rice doenjang prepared with brown rice koji. *Korean J. Food Preserv.* **18**: 859–868.
20. Lee SS, Park KH, Choi KJ, Won SA. 1993. Identification and isolation of zygomycetous fungi found on meju, a raw material of Korean traditional soy sauces. *Korean J. Mycol.* **21**: 172–187.
21. Lim E, Lee JY, Abdo Elgabba MA, Han KH, Lee BS, Cho YS, et al. 2014. Identification and characterization of *Aspergillus oryzae* isolated from soybean products in Sunchang county. *Korean J. Mycol.* **42**: 282–288.
22. Lim SD, Kim KS. 2009. Effects and utilization of GABA. *Korean J. Dairy Sci. Nutr.* **40**: 557–564.
23. Lim SY, Park KY, Bae MS, Kim KH. 2009. Effect of doenjang with black soybean on cytokine production and inhibition of tumor metastasis. *J. Life Sci.* **19**: 264–270.
24. No JD, Choi SY, Lee SJ. 2008. Quality characteristics of soybean pastes (doenjang) prepared using different types of microorganisms and mixing ratios. *Korean J. Food Cookery Sci.* **24**: 243–250.
25. Oh SH. 2007. Effects and applications of germinated brown rice with enhanced levels of GABA. *Food Sci. Ind.* **40**: 41–46.
26. Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB. 2002. Studies on the standardization of doenjang (Korean soybean paste). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**: 343–350.
27. Park KY, Moon SH, Cheigh HS, Baik HS. 1996. Antimutagenic effects of doenjang. *J. Food Sci. Nutr.* **1**: 151–158.

28. Park JS, Lee MY, Kim JS, Lee TS. 1994. Compositions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste (doenjang) prepared with different microbial sources. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 609–615.
29. Park SK, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH. 2000. Quality characteristics of home-made doenjang, a traditional korean soybean paste. *Korean J. Soc. Food Sci.* **16**: 121–127.
30. Sasagawa A, Gomi M, Ohura K, Yamazaki A, Yamada A. 2005. Production of miso based on koji prepared from mixed different grains using high-pressure treatment. *Nippon Shokuhin Kagaku Kairishi.* **52**: 485–490.
31. Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**: 230–234.
32. Song JY, Ahn CW, Kim JK. 1984. Flavor components produced by microorganism during fermentation of korean ordinary soybean paste. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **12**: 147–152.
33. Yoo SK, Kang SM, Noh YS. 2000. Quality properties on soy bean pastes made with microorganism isolated from traditional soy bean pastes. *Korean J. Food Sci. Technol.* **32**: 1266–1270.