

황칠 발효액을 첨가한 된장의 품질 특성

박성은 · 서승호 · 유선아 · 나창수 · 손흥석

동신대학교 한의과대학

Quality Characteristics of Doenjang Prepared with Fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) Extract

Seong-Eun Park, Seung-Ho Seo, Seon-A Yoo, Chang-Su Na, and Hong-Seok Son

School of Oriental Medicine, Dongshin University

ABSTRACT This study was performed to investigate the quality characteristics of various salted (8, 10, and 12%) Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract as well as the effect of *Bacillus methylotrophicus* S8 strain, isolated from soy sauce, as a starter culture. After fermentation, the total cell number of low-salted Doenjang (8% and 10%) prepared with fermented Hwangchil was lower than that of Doenjang without fermented Hwangchil. Low-salted Doenjang (8% and 10%) showed higher total acidity, amino acid, and organic acid levels as well lower pH levels than high-salted Doenjang (12%), indicating active fermentation. The highest levels of lactic acid (48.1 mg/L) and glutamic acid (549.0 mg/L) were observed in low-salted Doenjang (8%) fermented with *B. methylotrophicus* S8 strain. The low-salted Doenjang (8%) fermented with *B. methylotrophicus* S8 also showed the highest score in overall preference of sensory evaluation. These results indicate that Hwangchil extract fermented with *B. methylotrophicus* S8 can be used as a starter for making low-salted Doenjang, resulting in improved palatability, and inhibition of abnormal fermentation.

Key words: Doenjang, *Dendropanax morbifera*, fermentation characteristics, *Bacillus methylotrophicus*

서 론

된장은 대두를 이용한 대표적인 전통 발효식품으로 소금에 의한 짠맛, 아미노산의 구수한 맛, 유리당의 단맛 이외에 유기산, 알코올 등이 가지는 맛과 향이 조화롭게 어우러진 천연 조미료이다(1,2). 된장은 발효 중 생성되는 펩타이드 성분이 감칠맛을 더해줄 뿐 아니라, 기본 재료인 대두의 isoflavone으로 인한 항암(3,4), 항산화(5), 면역증진(6) 및 콜레스테롤 저하(7) 등의 생리활성이 보고되면서 다양한 연구들이 활발하게 이루어지고 있다.

된장의 맛과 향은 된장 제조 시 사용되는 원료의 종류나 제조방법, 그리고 발효에 관여하는 미생물의 종류에 따라 달라진다(8). 된장의 품질을 개선하기 위해 양파(1), 마늘(9) 등 부재료를 첨가하거나 생리활성, 안전성 등을 부여하기 위해 동충하초(10), 유백피(11), 황기(12), 복령(13) 등의 한약재를 첨가하여 제조한 된장에 관한 연구들이 보고되고 있다. 한편 발효식품인 된장은 발효와 숙성에 관여하는 미생물이 품질 특성에 큰 영향을 줄 수 있으며, 메주나 된장과

같은 천연물에서 분리한 균주를 이용하여 된장의 품질을 개선하거나 제조 공정을 표준화하기 위한 연구들(8,14,15)이 진행되고 있다. 또한 ACE 저해 활성이 우수한 균주를 사용하여 제조한 된장(16), 프로바이오틱스 효과가 있는 혼합스타터를 이용하여 제조한 된장(17) 등 기능성 스타터 개발에 관한 연구들이 진행되고 있다.

황칠나무(*Dendropanax morbifera*)는 두릅나무과에 속하는 난대성 상록 활엽수로 해남, 완도, 보길도 등 서남해안 지역 및 제주도 일대에 자생하며(18), 항염증, 항균(19), 항암 및 항산화(20) 등의 효능이 보고되고 있다. 특히, 인간 면역체계에서 항체 생성의 중요한 역할을 하는 인간 B세포와 T세포의 생육과 cytokines의 양이 증가하는 결과가 보고되어 대사기능과 면역기능을 증진하는 작용이 주목받고 있다(21). 본 연구에서는 다양한 생리활성이 알려진 황칠을 첨가하여 된장을 제조하고 그 품질 특성을 분석하였다. 특히 황칠 추출액이 아닌 미생물이 활성화된 황칠 발효액을 된장 제조의 스타터로 사용함으로써 기존 방법과 차별화된 방식으로 된장을 제조하여 새로운 스타터 첨가 방법을 제시하였다. 나아가 황칠발효된장 제조에 적합한 스타터를 알아보고자 자체적으로 선발한 균주를 비롯한 여러 비교 균주를 사용하였으며, 일반적인 염 농도보다 낮은 저염 된장을 제조하여 황칠발효 스타터를 첨가한 저염 된장으로의 개발 가능성을

Received 17 November 2015; Accepted 20 January 2016

Corresponding author: Hong-Seok Son, School of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Korea
E-mail: hsson@dshu.ac.kr, Phone: +82-61-330-3513

알아보고자 하였다.

재료 및 방법

발효 균주 및 배양

황칠발효된장 제조에 사용할 균주를 선별하기 위해 간장 등 여러 천연물에서 균주를 분리한 후 생리식염수에 희석, 현탁하여 그 상등액을 Plate count agar(Difco, Sparks, MD, USA)에 도말한 뒤 37°C에서 48시간 배양하였다. 배양 후 관찰된 colony를 2회 계대 배양하고 분리하여 4°C에서 보관하면서 사용하였으며 생육능력, 관능특성 등을 고려한 결과로(data not shown) S8 균주를 최종 선별하여 황칠발효에 사용하였다. S8은 간장에서 선별된 균주로 16S rRNA sequencing에 의해 분석한 결과 *Bacillus methylotrophicus*와 99%의 유사성을 보이는 것으로 확인되어 *B. methylotrophicus* S8로 명명하였다(Fig. 1).

상대적 비교를 *Lactobacillus plantarum* KCCM 11322는 Lactobacilli MRS broth(Difco), *Saccharomyces bayanus* EC-1118(Lalvin, Montreal, Canada)은 YM broth(Difco), *Bacillus subtilis* KCTC 2023은 Nutrient broth(Difco)에서 배양하여 실험에 사용하였다.

황칠 발효액 제조

황칠은 (주)파낙시안(Jangheung, Korea)에서 구입하였으며, 분쇄한 후 1:20(w/v)의 비율로 증류수를 첨가하고 121°C에서 15분간 추출하였다. 황칠 추출액에 균주 4종을 각각 1%(v/v) 접종하여 30°C incubator에서 120시간 배양하였으며, 120시간 배양된 황칠 발효액을 된장 제조에 사용하였다.

된장의 제조

된장은 순창메주(Sunchang, Korea)에서 채래 방식으로

제조된 전통메주를 분쇄한 뒤 메주 3배의 양인 소금물을 첨가한 후 염도계(Saline 28, Bellingham & Stanley Ltd., Basingstoke, UK)를 사용하여 최종염도가 8%, 10%, 12% 되도록 조절하였으며 여기에 균주를 달리한 황칠 발효액을 각각 5%(v/w) 첨가한 후 28°C에서 20일간 숙성시켜 제조하였다. 숙성 후에는 원심분리 하여 상등액을 실험에 사용하였다.

총균수 측정

된장의 총균수는 시료 0.1 mL에 멸균증류수를 가하여 10배씩 단계별로 희석하였으며 Plate count agar(Difco)에 분주하여 37°C에서 48시간 배양한 후 형성된 colony 수를 계수하였다.

pH 및 총산도 측정

pH는 pH meter(pH meter 250L, ISTEK, Seoul, Korea)를 이용하였으며, 총산도는 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 이때 소비된 NaOH 함량을 lactic acid(%)로 환산하여 계산하였다.

유리아미노산 분석

원심분리 된 시료를 0.2 µm membrane filter(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과한 뒤 액체 크로마토그래피를 이용하여 유리아미노산을 정량하였다. 유리아미노산 함량은 LC(Agilent 1100 series, Hanover, Germany) 기기를 이용하여 측정하였으며, 칼럼은 ODS Hypersil(150 mm × 4.6 mm, 3 µm, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)을 사용하였고 이때 칼럼 온도는 40°C였다. 검출기는 Agilent 1100 diode array detector(338 nm, Ref 390, 20 nm)를 이용하였으며, 유도체화를 위해 automatic liquid sampler(G1329A, Agilent)의 injection program을 이용하여 OPA reagent를 반응시키는 online automated derivati-

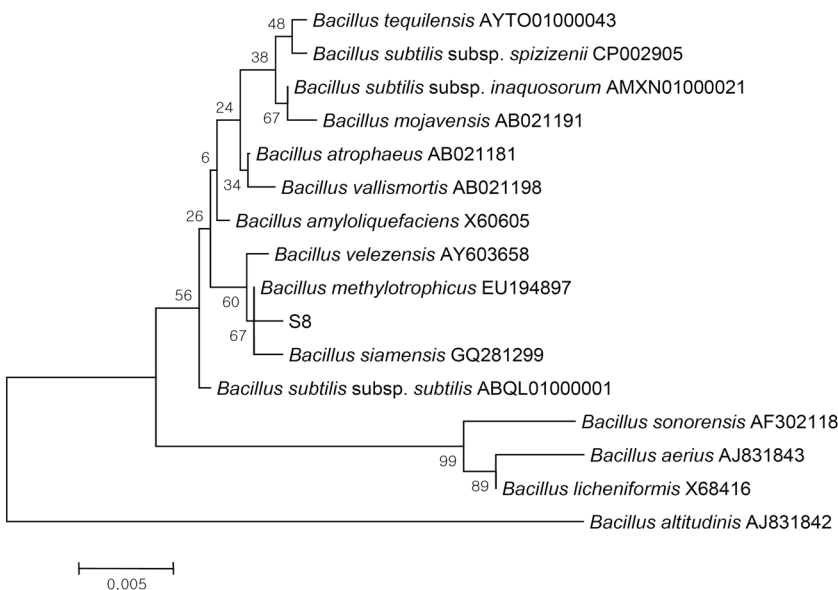


Fig. 1. Phylogenetic analysis of the isolate based on 16s rRNA gene sequence of other microorganism. The scale bar indicates the 0.005% nucleotide difference.

zation 방법을 이용하였다. 이동상 A는 10 mM Na₂HPO₄, 10 mM Na₂B₄O₇을 혼합하여 pH를 8.2로 조정하였으며, 이동상 B는 MeOH:MeCN:DW를 45:45:10(v/v/v) 비율로 혼합하여 제조하였다. 시간대별 이동상 B의 비율은 5분 4%, 22분 50%, 23.5분 100%, 26.5분 100%, 27분 4%, 30분 4%였으며, flow rate는 1.3 mL/min이었다.

유기산 분석

원심분리 된 시료를 0.2 µm membrane filter(Millipore)로 여과한 뒤 액체 크로마토그래피를 이용하여 유기산을 정량하였다. 유기산 분석을 위해 LC(Shimadzu 10Avp series, Kyoto, Japan) 기기를 이용하였고, 칼럼은 Supelco-gel™ C610-H(300 mm×7.8 mm, Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였으며 이때 칼럼 온도는 30°C였다. 검출기는 Shimadzu SPD-10Avp를 이용하여 210 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이동상으로는 0.1% H₃PO₄를 사용하였고 flow rate는 1 mL/min이었다.

아미노태 질소 함량

아미노태 질소 함량은 Formol 적정법(22)으로 측정하였다. 샘플 5 mL에 증류수 50 mL를 넣고 충분히 교반한 다음 20 mL를 취하였다. 여기에 0.1 N NaOH 용액을 가해 pH를 8.4로 조정 후 20 mL의 중성 formalin(pH 8.3)을 가하고 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH가 8.4가 되도록 적정하였다. 별도로 증류수에 대한 바탕시험을 시행하여 아미노태 질소 함량을 구하였다.

관능평가

관능평가는 된장 관능평가 경험이 있는 훈련된 패널을 선정하여 실시하였다. 평가는 색, 향, 맛, 종합적 기호도의 4개 항목에 대하여 매우 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 보통(3점), 좋다(4점), 매우 좋다(5점)로 하는 5점 척도법을 이용하였다.

통계처리

통계처리는 SPSS(Version 22.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였으며, 각

실험의 평균 차에 대한 통계적 유의성 검증은 Duncan의 다중검증법(DMRT, Duncan's multiple range test)을 사용하여 95% 유의수준에서 각 시료 간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

총균수 측정

황칠 발효액을 첨가하여 제조한 된장을 20일간 발효한 후 총균수를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 황칠 발효액을 첨가하지 않은 된장(control)의 총균수는 제조 직후 log 6.8 CFU/g에서 20일째까지 증가하여 염도 8% 된장이 log 7.3 CFU/g으로 가장 높았고 염도 12% 된장은 log 7.02 CFU/g으로 가장 낮은 값을 보였다. Mok 등(23)은 염 농도를 달리하여 제조한 된장에서 염도가 낮은 된장일수록 세균, 곰팡이, 효모가 증가하여 염 농도에 따라 총균수가 차이가 있다고 보고하였다. 반면에 황칠 발효액을 5% 첨가하여 제조한 된장의 경우 발효 전 총균수 log 6.1~7.3 CFU/g 정도(data not shown)로 균주에 따른 차이는 있지만, 균주를 접종하지 않은 실험구(log 6.8 CFU/g)보다 높은 값을 나타내었다. 이는 황칠 추출액에 균주를 첨가하여 120시간 발효한 황칠 발효액을 된장에 첨가하였기 때문에 황칠 발효액에서 증식한 균수가 첨가되어 발효 전 초기 균수가 증가한 것으로 된장 제조를 위한 스타터로서의 사용 가능성을 보여준다.

발효 후에는 염도 8%, 염도 10% 된장의 경우 황칠 발효액을 첨가하지 않은 된장보다 황칠 발효액을 첨가하여 발효한 된장의 총균수가 모두 낮았다. 하지만 염도 12%의 경우 황칠 발효액을 첨가한 실험구들이 첨가하지 않은 실험구보다 오히려 증가하는 경향을 보였다. 일반적으로 황칠나무는 항균 효과가 있다고 보고되고 있다(20). Kim(19)의 연구에 따르면 16개 균주에 대하여 황칠나무의 항균 활성을 측정한 결과 *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*의 두 효모에 대하여 강한 억제 효과를 보였으며 모든 대상 균주에 대해 항균 활성을 보인다고 보고하고 있다. 본 연구에서 황칠 추출물에 스타터를 접종하여 120시간 배양한 황칠 발효액의 경우 된장에 첨가 시 균수가 log 8 CFU/mL 이상으로

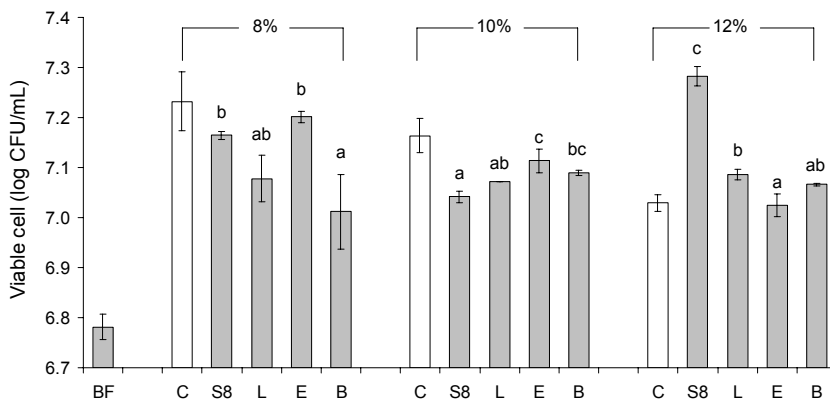


Fig. 2. Total microbe of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax moribifera*) extract. Different letters (a-c) above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) based on the Duncan's multiple range test. BF, before fermentation; C (control), after fermentation; S8, Doenjang prepared with fermented Hwangchil extract by *Bacillus methylotrophicus* S8; L, *Lactobacillus plantarum*; E, *Saccharomyces bayanus*; B, *Bacillus subtilis*.

된장 제조 시 첨가할 경우 스타터로 작용하여 유해균 등 다른 균주의 증식을 억제할 수 있으며, 황칠 자체의 항균성이 더해져 저염 된장(염도 8%, 10%) 발효 후 총균수가 감소한 것으로 추정된다. 된장의 이상발효에 관한 미생물학적인 명확한 기준은 없으나 Lim 등(24)의 연구와 Jeon 등(25)의 연구에서는 고염 된장의 표면에서 관찰되지 않지만 저염 된장의 표면에서 흰 막이 형성되었으며, 이는 산막효모로 동정되었다. 본 실험에서는 산막효모 등 외관상의 변화를 관찰할 수 없었으며, 판능상 모든 실험구에서 이상발효가 일어나고 단정 지을 수 없었다.

pH 및 총산도

본 연구에서 제조한 된장의 pH와 총산도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. pH는 된장 제조 직후 4.8에서 발효 후 4.0~4.6으로 모든 샘플에서 감소하였으며 이는 저염 된장에 관한 기존 연구 결과들(26-28)과 일치한다. 염도를 달리한 된장의 pH를 살펴보면 염도 8%, 10% 된장이 일반적인 된장의 염 농도인 12% 된장에 비하여 낮은 pH로 측정되었으며 염도가 낮을수록 낮은 pH를 나타낸 것은 염 농도가 낮을수록 많은 미생물이 생육하기 때문으로 추정된다. 이와 반대로 산도는 된장 제조 직후 0.07%에서 20일 발효 후 0.13~0.23%로 증가하였으며, 염도가 낮을수록 산도가 높은 것은 pH의 값이 감소한 것과 부합하는 결과이며 발효 중에 미생물 대사작용으로 생성되는 유기산에 의한 결과로 생각된다. 일반적으로 된장의 발효가 진행됨에 따라 pH는

저하하고 산도는 증가하는데, 본 연구에서는 황칠 발효액을 첨가한 저염 된장(염도 8%, 10%)의 경우 *B. methylotrophicus* S8이 유산균(*L. plantarum*)과 비슷한 정도로 pH와 총산도 값에 영향을 미치는 것으로 분석되었다.

유리아미노산 함량

균주를 달리하여 제조한 황칠발효된장의 발효 전후 유리아미노산 함량은 Table 1과 같다. 본 연구에서 검출된 주요 유리아미노산으로는 glutamic acid, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, proline, tyrosine 및 valine이며 이 중 구수한 맛에 관여하는 glutamic acid가 가장 많고 그다음 isoleucine, proline 순으로 많았다. An 등(29)의 보고에 따르면 메주 균을 달리한 숙성 된장에서 아미노산 함량을 측정한 결과 glutamic acid, aspartic acid, leucine, isoleucine 등의 함량이 많았으며, Shin 등(1)은 주요 아미노산으로 glutamic acid, arginine, leucine, isoleucine을 보고하고 있고 본 연구는 기존 연구 결과와 유사한 경향을 보였다. 총유리아미노산 함량은 발효 전 1,089.5 mg/L에서 발효 후 2,162.5~2872.2 mg/L로 함량이 증가하였고, 염도가 낮아질수록 총유리아미노산 함량은 높았다. 낮은 염도의 된장에서 미생물의 생육이 활발하여 이에 따라 염도 8%의 된장이 염도 12% 된장보다 유리아미노산 함량이 높은 것으로 생각된다.

된장의 담금 원료, 숙성온도, 기간 등은 유리아미노산 함량에 영향을 미치며 특히 종균의 사용 여부 및 종류에 따라

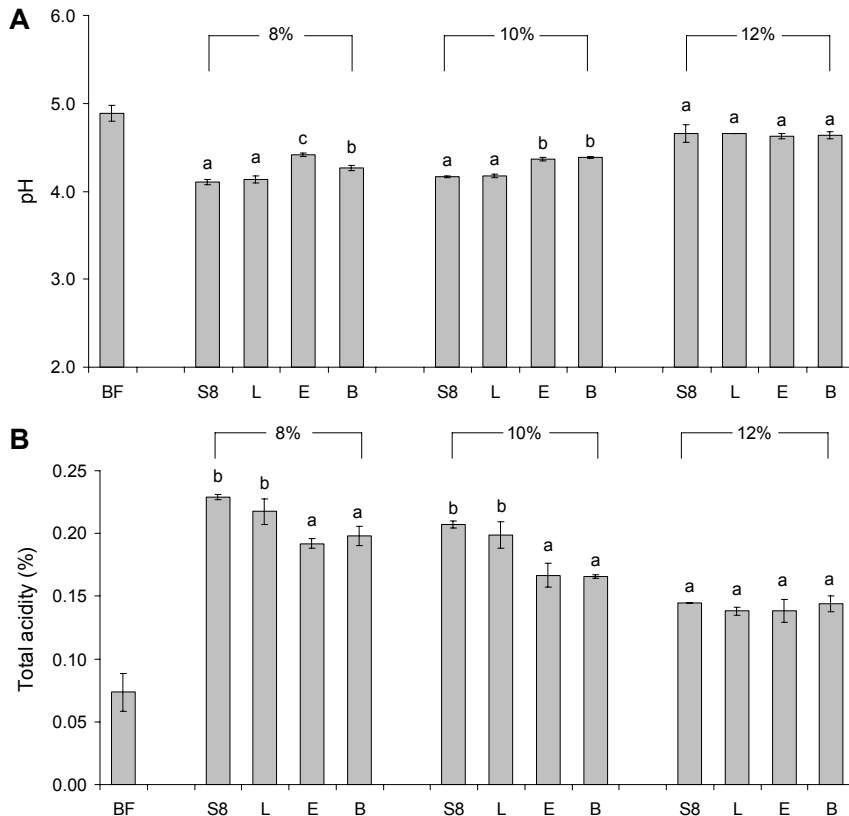


Fig. 3. pH and total acidity of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract. Different letters (a-c) above the bars indicate significant differences ($P<0.05$) based on the Duncan's multiple range test. Samples are the same as in Fig. 2.

Table 1. The free amino acid content of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract

Amino acid (mg/L)	Before fermentation	After fermentation (day 20)											
		Salinity 8%				Salinity 10%				Salinity 12%			
		S8 ¹⁾	L	E	B	S8	L	E	B	S8	L	E	B
Alanine	57.6±6.4	142.9±5.8 ^(c2)	128.2±4.1 ^b	147.3±7.1 ^c	90.7±0.8 ^a	114.6±3.6 ^c	100.0±1.6 ^b	79.2±2.6 ^a	80.3±1.5 ^a	61.7±3.2 ^a	62.3±5.4 ^a	64.7±1.9 ^a	63.7±0.9 ^a
Aspartic acid	69.2±12.9	95.0±6.5 ^b	90.3±4.4 ^{ab}	97.5±8.9 ^b	79.9±3.4 ^a	90.8±5.3 ^b	84.6±6.8 ^b	66.1±5.4 ^a	63.2±16.2 ^a	61.5±5.4 ^a	67.6±8.1 ^a	68.4±4.0 ^a	61.1±3.1 ^a
Glutamic acid	234.0±77.5	549.0±9.1 ^c	501.6±3.5 ^b	531.9±11.4 ^c	428.3±6.1 ^a	495.9±7.5 ^c	413.8±6.4 ^b	380.7±4.8 ^b	377.0±7.1 ^a	339.4±3.7 ^a	332.5±9.6 ^a	343.2±5.1 ^a	332.8±3.5 ^a
Isoleucine	146.9±6.7	437.3±18.6 ^a	462.5±13.6 ^{ab}	488.5±17.7 ^b	452.9±7.9 ^a	448.2±9.9 ^a	433.9±12.5 ^a	445.6±10.2 ^a	435.9±19.5 ^a	445.1±14.1 ^a	440.3±10.5 ^a	439.6±17.3 ^a	425.3±14.8 ^a
Leucine	90.1±7.4	271.9±5.2 ^a	274.3±2.0 ^a	321.9±10.6 ^b	264.0±18.9 ^a	276.6±2.1 ^c	256.0±2.9 ^a	268.9±1.0 ^b	254.0±5.9 ^a	269.0±8.5 ^b	269.5±2.2 ^b	264.9±5.2 ^b	247.0±5.5 ^a
Methionine	59.4±6.7	133.5±11.2 ^a	131.3±9.2 ^a	143.8±7.9 ^a	136.4±9.9 ^a	145.1±13.2 ^a	135.9±13.3 ^a	144.1±11.0 ^a	140.1±14.7 ^a	145.5±10.1 ^a	141.0±13.8 ^a	145.3±13.1 ^a	141.2±11.2 ^a
Phenylalanine	87.9±3.2	209.6±6.5 ^a	212.9±5.2 ^a	247.0±15.2 ^b	224.6±1.2 ^a	207.4±5.1 ^a	198.3±3.1 ^a	241.2±8.8 ^b	235.6±14.6 ^b	245.4±6.9 ^a	240.0±5.5 ^a	242.7±3.3 ^a	245.8±29.4 ^a
Proline	89.8±14.6	176.8±9.2 ^a	178.4±3.4 ^a	206.1±6.5 ^c	190.1±1.8 ^b	185.8±9.6 ^b	174.2±2.7 ^a	196.3±4.3 ^b	191.4±4.5 ^b	185.4±5.6 ^{ab}	181.1±5.6 ^a	193.0±5.2 ^b	187.0±3.0 ^{ab}
Serine	7.6±2.2	74.6±0.8 ^b	78.5±1.9 ^c	84.2±2.9 ^d	63.4±0.7 ^a	48.3±2.1 ^a	50.2±1.7 ^{ab}	51.1±2.4 ^{ab}	52.5±1.6 ^b	31.9±4.2 ^a	31.0±5.9 ^a	32.6±3.8 ^a	32.5±1.8 ^a
Threonine	7.5±2.5	51.7±0.9 ^a	56.1±0.8 ^b	66.4±1.5 ^d	59.2±1.4 ^c	48.1±1.0 ^a	47.4±1.1 ^a	58.5±0.7 ^b	57.7±0.3 ^b	53.8±1.0 ^b	53.8±1.4 ^b	52.2±1.2 ^b	49.6±0.8 ^a
Tyrosine	38.7±9.7	138.2±1.8 ^b	132.5±3.8 ^a	132.0±0.3 ^a	135.4±1.1 ^{ab}	134.9±0.9 ^c	129.1±1.4 ^b	122.3±1.6 ^a	122.7±0.8 ^a	122.9±3.6 ^b	118.6±2.2 ^a	117.4±0.3 ^a	117.2±0.9 ^a
Valine	84.3±6.2	261.8±10.7 ^a	256.2±0.9 ^a	311.3±8.9 ^b	251.5±6.1 ^a	285.1±22.1 ^b	251.2±11.0 ^a	259.0±12.8 ^{ab}	252.1±10.2 ^a	262.8±13.4 ^a	253.5±11.1 ^a	265.4±12.2 ^a	248.8±3.9 ^a
GABA	116.6±73.9	17.3±1.2 ^a	26.7±1.2 ^b	94.3±2.5 ^c	14.7±1.2 ^a	15.0±1.7 ^a	28.0±1.0 ^c	13.3±0.6 ^a	19.7±0.6 ^b	10.7±0.6 ^a	10.7±0.6 ^a	10.0±0.6 ^a	10.3±0.6 ^{ab}
Total	1,089.5	2,559.8	2,529.6	2,872.2	2,391.1	2,495.8	2,302.7	2,326.6	2,282.1	2,235.2	2,201.9	2,239.6	2,162.5

¹⁾See Fig. 2.

²⁾Different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

Table 2. The organic acid content of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract

Organic acid (mg/L)	Before fermentation	After fermentation (day 20)											
		Salinity 8%				Salinity 10%				Salinity 12%			
		S8 ¹⁾	L	E	B	S8	L	E	B	S8	L	E	B
Oxalic acid	0.18±0.02	0.15±0.13 ^(a2)	0.07±0.12 ^a	0.22±0.04 ^a	0.06±0.11 ^a	0.23±0.21 ^a	0.10±0.16 ^a	0.26±0.03 ^a	0.15±0.13 ^a	0.31±0.08 ^a	0.33±0.10 ^a	0.23±0.03 ^a	0.25±0.04 ^a
Citric acid	2.29±0.88	0.97±0.03 ^a	0.99±0.04 ^a	1.22±0.04 ^b	1.62±0.07 ^c	2.80±0.06 ^c	2.45±0.08 ^b	2.01±0.04 ^a	1.92±0.03 ^a	3.01±0.03 ^d	2.67±0.02 ^d	2.80±0.04 ^c	2.73±0.01 ^b
Malic acid	3.18±0.85	3.87±0.13 ^a	4.01±0.19 ^a	3.96±0.18 ^a	4.06±0.35 ^a	3.37±0.18 ^a	3.36±0.31 ^a	3.17±0.15 ^a	3.27±0.10 ^a	3.16±0.06 ^b	2.94±0.06 ^a	3.05±0.12 ^{ab}	2.98±0.07 ^a
Lactic acid	37.5±11.1	48.1±0.27 ^d	46.4±0.46 ^c	41.0±0.28 ^b	38.1±0.62 ^a	45.4±0.75 ^d	40.1±0.61 ^c	28.3±0.57 ^a	29.8±0.52 ^b	24.6±0.21 ^c	22.1±0.13 ^a	22.9±0.44 ^b	22.1±0.47 ^a
Pyroglutamic acid	1.88±0.78	2.21±0.03 ^a	2.26±0.14 ^a	2.72±0.09 ^b	2.34±0.15 ^a	2.16±0.07 ^a	2.04±0.14 ^a	2.10±0.07 ^a	2.10±0.07 ^a	2.00±0.83 ^c	1.81±0.38 ^a	1.97±0.12 ^{bc}	1.83±0.04 ^{ab}
Total	45.05	55.28	53.70	49.16	46.20	53.94	48.05	35.86	37.24	33.1	29.82	30.99	29.87

¹⁾See Fig. 2.

²⁾Different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

아미노산의 조성뿐 아니라 함량이 달라진다(30). *B. methylo-trophicus* S8을 이용하여 제조한 저염 된장(염도 8%, 10%)의 경우 같은 염도에서 다른 균주를 이용하여 제조한 된장보다 구수한 맛에 관여하는 glutamic acid 함량이 유의적으로 높았다.

유기산 함량

균주를 달리하여 제조한 황칠발효된장의 발효 전후 유기산의 함량은 Table 2에 나타내었다. 본 연구에서 제조한 된장의 유기산은 lactic acid가 22.1~48.1 mg/L로 총유기산 중 가장 많은 함량을 차지하고 있었으며, 뒤이어 malic acid, citric acid, pyroglutamic acid, oxalic acid 순으로 함량을 보였다. Oh 등(31)은 재래식 된장의 유기산 함량을 측정된 결과 lactic acid가 가장 높은 함량을 보이고 그다음으로 acetic acid, citric acid, oxalic acid 순으로 높은 함량을 보인다고 하였으며, Lee 등(32)은 꾸지뽕 열매 발효물을 첨가한 된장의 유기산 함량 측정 결과 lactic acid 함량이 많은 부분을 차지하고 있고 citric acid, acetic acid, succinic acid 순으로 함유하고 있다고 보고하였다. Lactic acid의 경우 검출된 유기산 중 가장 높은 함량을 보인 본 연구 결과와 유사하였으며 이는 된장에 생육하는 내염성 젖산균의 작용에 의해 생성된 것으로 생각한다(28). 그러나 검출된 유기산 종류가 다르며 다른 유기산의 함량 분포양상은 기존 연구 결과와 차이가 있었는데 된장 담금방법, 원료배합비, 이들 장류에 존재하는 미생물의 다양성, 숙성방법, 메주 제조나 국 제조 시에 사용된 균주에 따라 담금 후 된장 중의 microflora의 분포가 다르기 때문으로 판단된다(33).

황칠발효된장의 염도별 총유기산 함량은 염도 8% 된장이 46.2~55.3 mg/L, 10% 된장은 35.9~54.0 mg/L, 12% 된장은 29.8~33.1 mg/L로 염도가 낮을수록 높은 경향성을 보였다. 이는 염도가 낮을수록 미생물의 생육이 상대적으로 높아져 이에 따라 유기산의 함량이 높은 것으로, 발효 중 미생물의 활발한 대사 작용으로 인한 결과로 생각된다. *B. methylo-trophicus* S8을 이용한 황칠발효된장에서 염도와 관계없이 lactic acid의 경우 다른 균주에 비하여 유의적으로 높은 함량을 보였으며 총유기산 함량 또한 높은 경향성을 나타내었

는데, 이는 활발한 발효가 진행되었기 때문으로 생각한다.

아미노태 질소

황칠 발효액을 첨가한 된장의 아미노태 질소 함량의 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 된장 제조 직후 아미노태 질소 함량은 161 mg%였으나 발효 후 모든 샘플에서 증가하였다. 염도별로 비교하면 염도 8% 된장이 대체로 가장 높은 아미노태 질소 함량을, 염도 12% 된장이 가장 낮은 값을 나타내었다. 이는 Cho 등(34)의 연구에서 마늘을 첨가한 저염 된장을 제조하였을 때 식염 농도가 낮을수록 아미노태 질소 함량이 높다는 보고와 염도별로 제조한 된장을 다양한 방법으로 연구한 논문들과도 일치하는 결과를 보였다(26,27,35,36). 염도가 낮은 된장이 높은 아미노태 질소의 함량을 보이는 이유는 활발한 발효(Fig. 1 & 2, Table 1)가 진행되기 때문으로 생각한다. 특히 아미노태 질소 함량은 *S. bayanus*를 이용한 염도 8% 황칠발효된장에서 가장 높은 함량(700 mg%)을, 염도 12% 황칠발효된장에서 가장 낮은 함량(413 mg%)을 보여 *S. bayanus*를 이용하여 제조한 된장이 염도에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

일반적으로 된장 제조 시 단백질 분해효소의 작용으로 콩은 펩타이드나 아미노산으로 분해되어 발효가 진행될수록 아미노태 질소의 함량이 증가하는데(37), 이는 된장의 품질을 결정할 수 있는 지표로 일반적으로 함량이 높은 장류가 품질에서도 긍정적 평가를 받고 있다(38). 된장의 아미노태 질소 함량의 규격은 식품공전상 160 mg% 이상이었으며, 2013년 개정된 전통식품규격(National Agricultural Production Quality Management Service)에는 300 mg% 이상으로 규정되어 있어(28), 본 연구의 황칠 발효액을 첨가하여 제조한 20일 숙성 된장은 413.4~700.7 mg%로 규격에 적합한 것으로 보인다. 된장 제조 시에 사용된 균주는 단백질 분해효소 활성에 영향을 준다(23,26). 본 연구에서 사용한 *B. methylo-trophicus* S8의 경우 비교적 높은 수치의 아미노태 질소 함량을 보였으며 이는 유리아미노산의 결과와 부합한다. 하지만 단백질이 아미노산으로 분해되는 과정에서 과도한 분해가 진행될 시 암모니아성 질소의 증가로 바람직하지 않은 풍미가 형성될 가능성도 있다(34). 아미노태 질

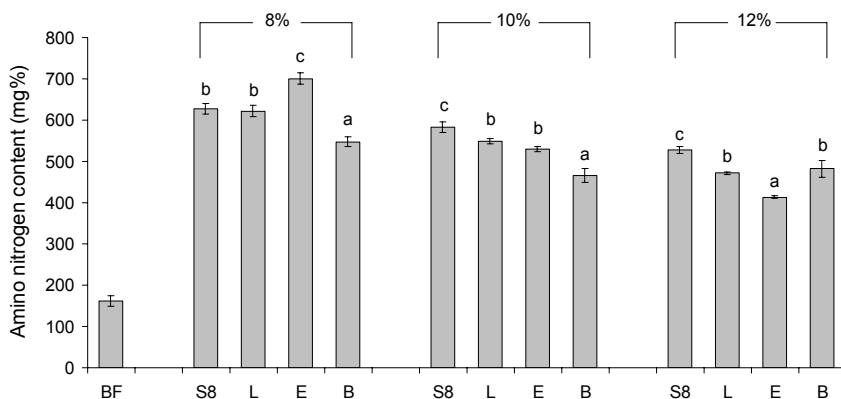


Fig. 4. Amino nitrogen content of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract. Different letters (a-c) above the bars indicate significant differences ($P<0.05$) based on the Duncan's multiple range test. Samples are the same as in Fig. 2.

소는 발효식품의 숙성도와 보존기간 품질의 지표가 되는 성분으로 이에 따라 발효식품의 품질이 평가되고 있으나, 된장 및 전통식품의 유통기한과 관련된 품질기준에 대한 기준은 주관적이며 객관적인 지표로 설정되기에 어려움이 있다.

관능적 특성

황칠 발효액을 첨가한 된장의 기호도에 관한 관능평가를 실시하여 염도별로 비교한 결과는 Fig. 5와 같다. 먼저 된장의 색에 대한 기호도에서는 균주별, 염도별 유의적인 차이를

보이지 않았지만, 색 외의 항목인 향, 맛, 전체적인 기호도는 모든 샘플에서 염도 12%의 된장이 높게 평가되었으며, 이는 패널들이 기존에 섭취하던 일반적인 된장의 염 농도에 익숙하기 때문으로 생각한다.

같은 염도에서 균주 간의 차이를 살펴보면 전반적으로 *L. plantarum*을 이용하여 제조한 황칠 된장이 모든 기호도 항목에서 낮게 평가되었으며, 상대적으로 *B. methylotrophicus* S8 균주와 *S. bayanus*를 이용하여 제조한 황칠 된장이 기호도가 높게 평가되었다. 분리균주 *B. methylotrophicus* S8을 이용하여 제조한 된장은 향에 대한 기호도는 비교적 낮았지만, 염도 8% 된장에서는 전체적 기호도가 가장 높아 황칠 발효액을 첨가한 저염 된장 제조를 위한 스타터로서 활용 가능성이 있을 것으로 생각한다.

요 약

황칠 추출물에 미생물 균주를 달리 접종하여 제조한 황칠 발효액을 스타터로 첨가하여 제조한 된장의 발효 및 품질 특성을 조사하였다. 황칠 발효액 접종 시 총균수가 log 8 CFU/mL 이상으로 스타터로서 적용 가능성을 확인하였고, 발효 후에는 염도 8%, 10%의 경우 황칠 발효액을 첨가하여 제조한 된장의 총균수가 황칠 발효액을 첨가하지 않은 된장보다 낮았다. pH의 경우 염도 8%, 10% 된장이 12% 된장에 비하여 낮은 pH 값을 보였으며, 이와 반대로 산도는 12% 된장이 낮았다. 총유리아미노산 함량은 발효 후 2,162.5~2,872.2 mg/L로 발효 전보다 함량이 증가하였고 염도가 낮아질수록 총 유리아미노산 함량은 높았으며, *Bacillus methylotrophicus* S8을 이용하여 제조한 저염 된장(염도 8%, 10%)의 경우 같은 염도에서 다른 균주를 이용한 된장보다 glutamic acid 함량이 유의적으로 높았다. 황칠 발효액을 첨가하여 제조한 20일 숙성한 된장의 아미노태 질소는 413.4~700.7 mg%로 염도가 낮을수록 높았으며, 특히 *B. methylotrophicus* S8을 이용하여 제조한 된장에서 높은 함량을 보였다. 관능평가 결과 *B. methylotrophicus* S8과 *Saccharomyces bayanus*를 접종하여 제조한 된장에서 좋은 평가를 보였으며 8% 염도의 된장에서 *B. methylotrophicus* S8의 전체적 기호도가 가장 높게 평가되었다.

REFERENCES

1. Shin AG, Lee YK, Jung YK, Kim SD. 2008. Quality and storage characteristics of low salted onion and five cereals-*doenjang*. *Korean J Food Preserv* 15: 174-184.
2. Yang SH, Choi MR, Kim JK, Chung YG. 1992. Optimization of the taste components composition in traditional Korean soybean paste. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 449-453.
3. Lim SY, Rhee SH, Park KY. 2004. Inhibitory effect of methanol extract of doenjang on growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 936-940.
4. Choi SY, Cheigh MJ, Lee JJ, Kim HJ, Hong SS, Chung

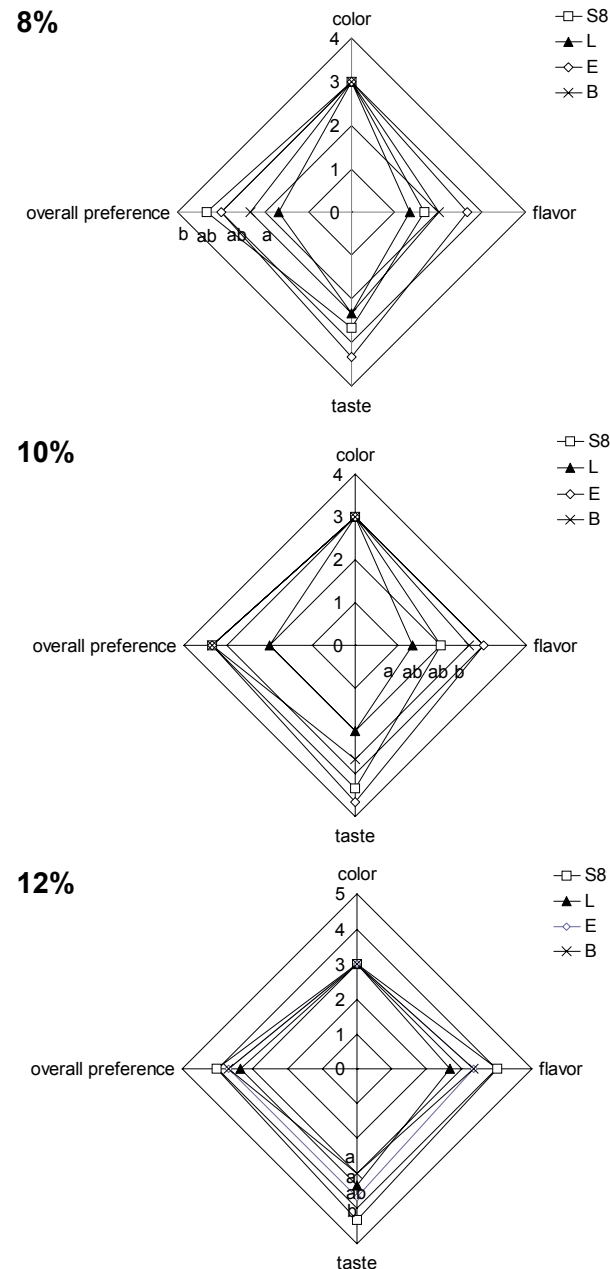


Fig. 5. Sensory evaluation of Doenjang prepared with fermented Hwangchil (*Dendropanax morbifera*) extract. Different letters (a,b) indicate significant differences ($P < 0.05$) based on the Duncan's multiple range test. Samples are the same as in Fig. 2.

- KS, Lee BK. 1999. Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste (*doenjang*) on the various tumor cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 458-463.
5. Lee JH, Kim MH, Im SS, Kim SH, Kim GE. 1994. Antioxidative materials in domestic Meju and Doenjang: 3. Separation of hydrophilic brown pigment and their antioxidant activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23: 604-613.
 6. Lee BK, Jang YS, Yi SY, Chung KS, Choi SY. 1997. Immunomodulators extracted from Korean-style fermented soybean paste and their function: 1. Isolation of B cell mitogen from Korean-style fermented soybean paste. *Korean J Immunol* 19: 559-569.
 7. Lee IK, Kim JG. 2002. Effects of dietary supplementation of Korean soybean paste (Doen-jang) on the lipid metabolism in rats fed a high fat and/or a high cholesterol diet. *J Korean Public Health Assoc* 28: 282-305.
 8. Kim JH, Yoo JS, Lee CH, Kim SY, Lee SK. 2006. Quality properties of soybean pastes made from Meju with mold producing protease isolated from traditional Meju. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 7-14.
 9. Kim JR, Kim YK, Kim DH. 2013. Effects of anti-microbial materials on storages of low salted *doenjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1864-1871.
 10. Bang HY, Park MH, Kim GH. 2004. Quality characteristics of *Kochujang* prepared with *Paecilomyces japonica* from silkworm. *Korean J Food Sci Technol* 36: 44-49.
 11. Son DY. 2008. Characterization of soybean paste *Doenjang* with added Ulmi cortex. *Korean J Food Preserv* 15: 518-523.
 12. Min SH. 2006. Quality characteristics of doenjang containing *Astragalus membranaceus* water extracts. *Korean J Food Cook Sci* 22: 514-520.
 13. Kwon OJ, Kim M, Kim TW, Kim DG, Son DH, Lee SH. 2011. Effect of rice fermented using *Poria cocos* (a wood-decay fungus) mycelium on fermentation of *doenjang* (soybean paste). *Korean J Food Preserv* 18: 18-25.
 14. Yoo SM. 2004. Quality characteristics of doenjang prepared using selective starters. *PhD Dissertation*. Chonbuk National University, Jeonbuk, Korea.
 15. Yoo SK, Kang SM, Noh YS. 2000. Quality properties on soy bean pastes made with microorganisms isolated from traditional soy bean pastes. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1266-1270.
 16. Hong JS, Park JR, Jeon JR, Cha MH, Kim J, Kim JH. 2004. Quality characteristics and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of Doenjang prepared with *Bacillus subtilis* SS103. *J East Asian Soc Dietary Life* 14: 363-369.
 17. Jeong JK. 2012. Improvement of quality and probiotic effect of meju and doenjang prepared with mixed starter cultures. *PhD Dissertation*. Department of Food and Nutrition, Pusan National University, Busan, Korea.
 18. Kim HR, Chung HJ. 2000. Chemical characteristics of the leaves and the seeds of Korea *Dendropanax* (*Dendropanax moribifera* Lev.). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 63-66.
 19. Kim HR. 1997. Chemical composition and antimicrobial activities in the leaves of *Dendropanax moribifera* Lev. *MS Thesis*. Chonnam National University, Gwangju, Korea.
 20. Hyun TK, Kim M, Lee H, Kim Y, Kim E, Kim JS. 2013. Evaluation of anti-oxidant and anti-cancer properties of *Dendropanax moribifera* Léveillé. *Food Chem* 141: 1947-1955.
 21. Lee SH, Lee HS, Park YS, Hwang B, Kim JH, Lee HY. 2002. Screening of immune activation activities in the leaves of *Dendropanax morivifera* Lev. *Korean J Med Crop Sci* 10: 109-115.
 22. AOAC. 1990. *AOAC official method of analysis*. 15th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
 23. Mok C, Song K, Lee JY, Park YS, Lim S. 2005. Changes in microorganisms and enzyme activity of low salt soybean paste (*Doenjang*) during fermentation. *Food Eng Prog* 9: 112-117.
 24. Lim SI, Kwak EJ, Choi C. 2004. Isolation of the white pellicle-forming strain from *gochujang*, growth inhibition and its effect on quality of *gochujang*. *Food Sci Biotechnol* 13: 75-79.
 25. Jeon SB, Ryu MS, Kim YS, Jo SW, Jeong DY, Uhm TB. 2013. Isolation and identification of *Bacillus* strains with antagonistic properties against film-forming yeasts overgrown in low salted soybean pastes. *Kor J Microbiol* 49: 286-291.
 26. Lee JY, Mok C. 2010. Changes in physicochemical properties of low salt soybean paste (*Doenjang*) during fermentation. *Food Eng Prog* 14: 153-158.
 27. Park BJ, Jang KS, Kim DH, Yook HS, Byun MW. 2002. Changes of microbiological and physicochemical characteristics of *Doenjang* prepared with low salt content and gamma irradiation. *Korean J Food Sci Technol* 34: 79-84.
 28. Kim BM, Kim YS. 2014. Fermentation characteristics of low-salted *Doenjang* (soybean paste) added with *Dioscorea opposita* Thunb. powder. *J Agric Life Sci* 45: 1-7.
 29. An HS, Bae JS, Lee TS. 1987. Comparison of free amino acids, sugars, and organic acids in soy bean paste prepared with various organisms. *J Korean Agric Chem Soc* 30: 345-350.
 30. Jung SW, Kwon DJ, Koo MS, Kim YS. 1994. Quality characteristics and acceptance for Doenjang prepared with rice. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 37: 266-271.
 31. Oh GS, Kang KJ, Hong YP, An YS, Lee HM. 2003. Distribution of organic acids in traditional and modified fermented foods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1177-1185.
 32. Lee ES, Jo SW, Yim EJ, Kim YS, Park HS, Kim MK, Cho SH. 2014. Fermentation characteristics of mulberry (*Cudrania tricuspidata*) fruits produced using microbes isolated from traditional fermented food, and development of fermented soybean food. *Korean J Food Preserv* 21: 866-877.
 33. Jeong JH, Kim JS, Lee SD, Choi SH, Oh MJ. 1998. Studies on the contents of free amino acids, organic acids and isoflavones in commercial soybean paste. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 10-15.
 34. Cho KM, Kang JR, Kim GM, Kang MJ, Hwang CE, Jeong YS, Kim JH, Shin JH. 2014. Quality characteristics of low salted garlic Doenjang during fermentation. *Korean J Food Preserv* 21: 627-635.
 35. Lee S, Kim DH. 2012. Changes in physicochemical properties of low-salt *doenjang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 44: 592-599.
 36. Lim SI, Song SM. 2010. Fermentation properties of low-salted *doenjang* supplemented with licorice, mustard, and chitosan. *Korean J Food Sci Technol* 42: 323-328.
 37. 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.
 38. Kim JG. 2004. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste – Amino nitrogen, amino acids, and color –. *J Fd Hyg Safety* 19: 31-37.