pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 33. No. 3, 279~286 (2020)
https://doi.org/10.9799/ksfan.2020.33.3.279

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

*Aspergillus*속 균주를 이용한 콩 발효물의 이화학적 특성

신동선 · 최인덕* · 이석기* · 박지영* · 김남걸* · 정광호** · 박장환** · †최혜선*
농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 전문연구원, *농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구사,
**농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 농업연구관

Physicochemical Characteristics of Fermented Soybean Products with *Aspergillus* Strain

Dong Sun Shin, In Duck Choi*, Seuk Ki Lee*, Ji Young Park*, Nam Geol Kim*,
Kwang-Ho Jeong**, Chang Hwan Park** and †Hye Sun Choi*

Post-Doctor, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea
**Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea*
***Senior Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea*

Abstract

In this study, the properties of the substances fermented soybean producted by manufacturing with several *Aspergillus* strains were investigated. The five soybean cultivar that includes miso, jinpung, pyeongwon, cheonga and chamol were used in this experiment. The pH and total acidity were 6.30~6.66%, and 0.27~0.48%, respectively with differences depending on the samples. The color values for L value, a, and b value were 60.28~69.80, 0.64~3.68, and 11.48~31.21, respectively. The amylase activities, protease activities, and amino-type nitrogen of the jinpung samples were the highest among all cultivars. The mold counts the fermented soybean products by cultivars were 6.18~9.14 log CFU/g, and miso was the highest. Free amino acid and organic acid contents were highest in the jinpung and showed different composition depending on each sample. A total of 18 volatile aroma-compounds, including two acids, four alcohols, four ketones, three phenols, one furan, three pyrazines, and one miscellaneous compounds. In conclusion, it is expected that manufacturing *A. oligze* inoculation fermented soybean products using jinpung cultivar will improve quality.

Key words: soybean, cultivars, *Aspergillus*, fermented soybean products

서 론

콩은 식물성 단백질 공급원으로서 영양학적 가치가 높아 질병예방은 물론 치료분야까지 그 이용도가 확대되면서 소비자들의 관심이 더욱 높아지고 있고 있는 추세이다(Yang & Kim 2013; Jung 등 2016). 이러한 소비자의 요구를 충족시키기 위해 최근 산업체에서는 고품질, 간편성, 다양성 및 안전성을 고려한 신제품 개발이 이루어지고 있으며, 콩 육종 부서에서도 용도별 품종을 개발하려는 연구가 시도되고 있다(Kim 등 2017). 콩의 발효과정은 미생물이 효소작용에 의해 분해되면서 생리활성물질을 증가 또는 생성시키는 것으로 isoflavone, polypeptide, polyglutamate, amide 및 peptone 등이 있다(Kim 등 2011). 이러한 생리활성물질은 신경보호, 항돌연변이성, 항암성, 항산화성 및 혈전용해 등에 효과가 있고, 소화 흡수율을 높이기도 하는 것으로 알려져 있다(Cho 등 2000; Shon 등 2001; Joo & Park 2010; Han 등 2015).

콩 발효제품으로는 우리나라의 경우 장류가 대표적으로 발효제로 쓰이는 메주에 따라 품질에도 영향을 미친다. 전통방법으로 제조할 경우, 원료 콩, 국균 및 제조환경 등에 따라 다르고, 자연유래 수십 종의 곰팡이와 세균들이 복합적으로 작용하여 표준화 또는 산업화 등의 어려움이 발생한다. 이것을 보완하기 위해 일반적으로 메주 제조 시 관여 미생

† Corresponding author: Hye Sun Choi, Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea. Tel: +82-31-695-0623, Fax: +82-31-695-0609, E-mail: choihs9587@korea.kr

물인 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 발효에 사용하며, 경우에 따라 *Bacillus*를 이용하는 연구가 수행되어 왔다(Chang & Chang 2007; Lee 등 2016).

최근 콩 발효에 관한 연구는 주로 기능성 생리활성(Sasithorn 등 2017; Cao 등 2019)이 보고되었고, *Aspergillus*을 이용한 기 보고 연구로는 개량메주의 품질 개선(Lee 등 2016), 콩 발효물의 품질변화(Shin 등 2019), 단백질 분해효소를 이용한 메주특성(Gil 등 2017), 미생물학적 특성(Lee 등 2014; Park & Yu 2016), 메주의 향과 관능적 특성(Shin 등 2015; Park 등 2017) 등 연구가 보고되고 있지만, 장류 및 콩 발효물의 적합한 균주 및 품종에 대한 발효특성을 비교 분석하여 품질 향상에 영향을 줄 수 있는 연구가 더 필요하다.

본 연구에서는 산업체에서 적합한 콩 품종 선발과 제품개발을 위한 기초자료로 제시하고자 전통장류 유래 *Aspergillus* 속 균주 이용 콩 발효물을 제조하였으며, 제조된 콩 발효물의 amylase, protease의 효소활성을 측정하고, 아미노산 등의 분해산물과 유기산, 향기성분 등 발효 생성물질들의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 사용균주 및 재료

본 실험에 사용된 균주는 전통 장류 유래 곰팡이 균주인 *Aspergillus oryzae* PS03 균주(한국농업미생물자원센터, Korean Agricultural Culture Collection, KACC)를 분양 받아 실험에 사용하였다. 실험균주는 20% 수분을 함유한 PDA(Difco Co., USA) 배지에서 7일간 배양하여 형성된 포자를 사용하였다. 원료 콩은 국립식량과학원 밀양소재에서 2017년 재배 및 수확한 것을 제공받았으며, 미소(Miso), 진풍(Jinpung), 평원(Pyeongwon), 청아(Cheonga), 참올(Chamol)등 5가지 품종을 사용하였다. *A. oryzae* 이용 콩 발효물은 Lee 등 (2014)의 방법을 참고로 하여 제조하였다. 먼저, 콩 300 g를 각각 수세하여 22±2℃의 물에 15시간 동안 침지하여 건져낸 후 30분 물 빼기를 하였다. 이것을 고압증기멸균기(BF-60AC autoclave, Biofree CO. LTD, Seoul, Korea)를 사용하여 121℃에서 30분간 증자하였다. 무균상태에서 증자 콩은 40℃로 식힌 다음 희석된 *A. oryzae*(1×10^7 spore/g)를 각각 1% (v/w)씩 접종하여 혼합하였다. 이를 멸균된 상자(스티로폼, 21×27×14 cm)에 넣어 온도가 25℃이고 습도가 70%인 발효실에서 24시간 발효시켜 곰팡이를 이용한 콩 발효물을 제조하였다.

2. 곰팡이 이용 콩 발효물의 이화학적 성분 및 색도 측정

콩 발효물의 이화학적으로 pH와 총산도를 측정하였다. pH는 시료를 10배 희석한 후 pH meter(Metrohm 691, Metrohm, Herisau, Switzerland)로 측정하였고, 총산도는 10 mL 시료에 0.1 N NaOH 용액을 넣은 다음 pH가 8.3이 될 때까지 NaOH의 소비 mL를 측정하여 젖산함량(%, w/w)으로 하였다. 색도 측정은 색차계(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 사용하여 일시료를 일정하게 하여 Hunter's color value인 L값, a값 및 b값을 측정하였다. 이때 사용한 표준 백색판(standardplate)의 L값은 99.02, a값은 −0.05, b값은 −0.06이었다.

3. 곰팡이 이용 콩 발효물의 효소활성과 질소성분, 미생물 측정

콩 발효물의 추출물 제조는 일정량의 시료에 증류수를 넣고 homogenizer(HG-15A, Daihan Scientific Co., Ltd., Wonju, Korea)로 균질화하였다. 이후 진탕배양기(WiseCube WIS-RL010, Daihan Scientific Co., Ltd.)에서 1시간 동안 교반(150 rpm)한 다음 10분간 원심분리(10,000×g, 4℃)한 상층액을 시료 추출물로 하였다.

곰팡이 이용 콩 발효물의 효소활성은 α-amylase와 protease를 Von W(1993), Lee 등(2014)의 방법에 준하여 측정하였다. α-Amylase는 시료 추출액 1 mL에 1% soluble starch (0.02 M phosphate buffer, pH 7.0)를 3 mL 첨가하여 반응(40℃, 10 mim)시켰다. 이후 1 M HCl 10 mL를 넣어 반응을 중지시켰다. 여기에 10 mL 요오드 용액(0.005% I_2+0.05% KI)을 넣고 발색시킨 다음 660 nm에서 분광광도계(T80+ UVNIS Spectrophotometer, PG, Instruments, Alma Park, UK)를 이용하여 측정하였다. 이때, 조효소액 1 mL가 1분 동안 starch 0.1 mg을 분해하는 양을 1 unit로 계산하였다. Protease는 1 mL 시료 추출액과 0.6% casein 용액(0.2 M phosphate buffer, pH 7.0)을 반응(37℃, 10 mim)시킨 후 0.44 M trichloroacetic acid 5 mL를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 이후 실온에서 30분간 방치한 후 여과(No.2, Whatman, Buckinghamshire, UK)한 후 여액 2 mL에 5 mL 0.55 M Na_2CO_3 용액를 혼합하였다. 이후 Folin reagent 용액(4배 희석)을 1 mL 넣어 30분 동안 반응시킨 후 660 nm에서 측정하였다. 표준품(tyrosine)를 이용하여 분석한 후 검량선을 작성하였으며, 1 unit은 1분 동안 tyrosine 1 μg을 유리시키는 효소의 양으로 하였다.

아미노태 질소 함량은 Formol 적정법으로 Choi 등(2007)의 방법을 참고하여 측정하였다. 5 mL 시료 추출액에 10 mL 중성 formalin 용액과 10 mL 증류수를 넣은 다음 0.5% phenolphthalein 용액 2~3방울 첨가한 후 0.1 N NaOH를 첨가하여 미홍색이 될 때까지의 적정량을 측정하였고, 공시험도 동일한 방법으로 적정한 후 아미노태질소 함량을 산출하

였다.

곰팡이 수 측정은 RYM 건조필름을 사용하여 3M사의 사용설명서와 Kim 등(2004)의 방법을 참고하여 측정하였다. 멸균생리식염수(0.9% NaCl)를 이용하여 10진 희석법으로 희석한 시료를 RYM 건조필름에 접종한 후 배양기(25℃, 3 day)에서 배양시킨 후 나타난 colony를 계수하였다. 이때, 다양한 색상과 가장자리 부분이 명확하게 구분되지 않는 것은 곰팡이 균으로 계수하여 log CFU/g으로 표시하였다.

4. 곰팡이 이용 콩 발효물의 아미노산 분석

콩 발효물의 유리아미노산 분석은 동결건조 시료 0.2 g에 에탄올 5 mL를 첨가하여 1시간 동안 균질화 하였다. 이를 원심분리(10,000×g, 10 min, Hanil; ULTRA 4.0, Seoul, South Korea)한 후 얻은 상층액을 감압농축기(rotary evaporator, EYELA A-3S, RikakikaiCo., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였다. 이를 0.02 N HCl 20 mL에 녹여 10배 희석한 다음 0.22 μm membrane filter(Merck Millipore, Darmstadt, Germany)로 여과하였으며, 이를 아미노산 자동분석기(HITACH L-8900, Post-reaction type)에 주입하여 분석하였다(Lee 등 2014).

5. 곰팡이 이용 콩 발효물의 유기산 분석

곰팡이 이용 콩 발효물의 유기산은 동결건조 시료 1 g에 증류수 10 mL를 첨가한 후 1시간 동안 초음파(Sonicatior, BKUP-600N, Biokonvision)처리하여 0.2 μm membrane filter (Merck Millipore)로 여과한 다음 시험용액으로 하였다. 유기산 분석을 위하여 HLB Sep-pak C_{18} cartridge(Waters Co., USA)에 통과시킨 다음 HPLC(Dionex Ultimate 3000, pump, autosampler, USA)를 이용하였다. 분석조건으로 column은 Aminex 87H(300 mm×6.5 mm, Waters Co., USA)이었고, mobile phase는 0.01N sulfuric acid를 사용하였다. Flow rate는 0.5 mL/min으로 하였으며, injection volume은 10 μL로 하여 UV detector(Shodex RI-101, RefractoMAX520, Japan)를 이용하여 검출하였다. 표준품은 lactic acid, fumaric acid, citric acid, acetic acid, succinic acid 및 malic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하였다(Lee 등 2014).

6. 곰팡이 이용 콩 발효물의 향기성분 분석

콩 발효물의 향기성분은 GC(TRACE1310, Thermo, USA)/MS(TSQ8000, Thermo, USA)를 사용하여 분석되었다(Park 등 2017). 분석에 사용된 column은 DB-WAX column(Agilent 60 m×0.25 mm, 필름 두께 0.5 μm)으로 오븐 온도를 50℃에서 240℃로 서서히 올렸다. Injector의 온도는 240℃로 하였고, 질량 선택적 검출기 계면온도는 250℃로 하였다. 향기성분의 포집은 SPME(solid phase micro extraction) 방법을 사용하였고, fiber는 carboxen/polydimethylsiloxane fiber(CAR/PDMS, 75 mL, Supelco, Bellefonte, PA, USA)가 코팅된 것을 이용하였다. 향을 포집 후 injector에 5분간 정치한 다음 NIST library(Mass spectral program, version 4.5, USA)를 함께 이용하였다. 휘발성 화합물은 GC/MS로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275 data base로 library search한 다음 결과를 이용하여 동정하였다.

7. 통계처리

실험결과 data는 SPSS 시스템(Statistical Pack-age for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) soft-ware package (version 12.0)를 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 평균값은 one-way analysis of variance(ANOVA)로 비교 분석하였으며, Duncan's multiple range test에 의하여 $p<0.05$ 유의수준에서 평균 간의 다중비교를 실시하여 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 곰팡이 이용 콩 발효물의 이화학적 성분 및 색도의 변화

곰팡이 이용 콩 발효물의 이화학적으로 pH, 총산도 및 색도를 측정한 결과를 Table 1에 나타내었다. pH는 6.30~6.66% 수준으로 콩 품종간의 유의적인 차이를 보였으며, 평원 품종으로 제조한 콩 발효물이 pH 6.66으로 가장 높았다. Gil 등(2017)의 보고에 따르면 *A. oryzae* SCF-6으로 제조한 콩알메주의 발효초기 pH는 6.40이었으나, 발효 45시간 후 pH는 7.40으로 본 연구의 결과보다 높았다. 총산도는 진풍 발효물이 0.48%로 가장 높았고, 그 외 품종 발효물은 0.27~0.46 범위로 나타났다. 이러한 결과에서 pH와 총산도는 콩 품종별 발효물의 발효정도가 다르기 때문이며, 발효과정 중 단백질이 아미노산으로 분해되면서 생성되는 암모니아 정도에 따라 pH와 총산도가 달라진 것으로 사료된다(Ann YG 2011; Shin 등 2019).

색도의 경우, L값은 청아 발효물이 69.80으로 가장 높았고 진풍과 평원 발효물이 각각 60.32 및 60.28로 가장 낮았다. a값은 참올 발효물이 3.68, 평원 발효물이 3.41 순으로 높았으며, 진풍 발효물이 0.64로 낮게 나타났다. b값은 11.48~ 31.21 수준으로 나타났다. 콩 발효제품의 색도는 콩의 아미노산과 당에 의해 생성된 멜라노이딘이며, 이는 관능적 기호에 영향을 미치는 중요한 품질지표로 알려져 있다(Kim 등 2011). 실험군의 외관을 살펴본 결과(자료 미제시), 콩 발효물의 *A. oryzae*의 균사는 24시간 발효 후 품종별로 포자의 색이 약간 다르게 형성하였는데, 미소와 진풍 발효물의 경우는 옅은 황록색이었고, 그 외 품종은 황록색의 포

Table 1. The physicochemical components and color value of fermented soybean products by cultivars

Cultivar	pH	Total acidity (%)	Chromaticity		
			L-value	a-value	b-value
Miso	6.42±0.02[c1)]	0.46±0.11[a]	67.69±0.19[b]	0.91±0.13[d]	31.21±0.27[a]
Jinpung	6.30±0.03[d]	0.48±0.00[a]	60.32±0.09[d]	0.64±0.13[e]	25.98±0.47[b]
Pyeongwon	6.66±0.03[a]	0.34±0.01[b]	60.28±0.68[de]	3.41±0.19[b]	21.29±0.23[c]
Cheonga	6.44±0.01[c]	0.27±0.01[c]	69.80±0.02[a]	1.72±0.01[c]	11.48±0.02[e]
Chamol	6.59±0.01[b]	0.44±0.01[a]	62.39±0.18[c]	3.68±0.09[a]	20.57±0.12[d]

All values are mean±S.D. (n=3).
[1)] Any means in the same column followed by the small letter ([a-e]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

자가 잘 형성되어 Table 1의 색도의 결과와 비슷하였다. 따라서 발효물의 색은 콩 품종의 종류 및 균의 생장에 따라 색의 차이가 다르게 나타난 것으로 사료된다.

2. 곰팡이 이용 콩 발효물의 효소활성과 질소성분, 미생물의 변화

Table 2에서 보는 바와 같이 콩 발효물의 효소활성, 질소, 미생물의 변화는 실험군에 따라 큰 차이를 보였다. 효소활성으로 α-amylase와 protease을 측정한 결과, 각 발효물의 α-amylase 활성은 14.00~55.25 unit/g 범위를 나타내었으며, 진풍 발효물이 가장 높았다. α-Amylase는 단맛에 영향을 주는 품질인자로 알려져 있으며, 기 보고된 Shin 등(2019)의 연구에서 콩 발효물의 α-amylase 활성은 25.85~61.52 unit/g 이었다고 한 것과 비슷하였다. 또한, Kim 등(2011)은 발효과정에서 amylase 활성이 높으면 당 이용율이 높으며, amylase 활성이 낮으면 당 이용율이 낮다는 보고가 있어 본 실험결과에서 청아 발효물이 당이 이용하는 비율이 낮을 것으로 예측되었다. Protease 활성은 맛을 결정짓는 중요한 요소로 아미노산과 polypeptide 등을 생성하여 소화율을 높인다(Jung 등 2016). Protease 활성은 진풍 발효물이 552.51 unit/g으로 가장 높았으며, 청아 발효물이 204.182 unit/g으로 가장 낮았다. 기 보고된 연구에서 protease 활성이 Lee 등 (2016)은 콩 발효 후 사용되는 균주 및 제조조건에 따라, Shin 등(2019)은 콩 품종에 따라 다르게 나타났다는 보고가 있어 본 실험 결과에서 각 발효물의 차이는 콩 품종 및 제조환경이 영향을 준 것으로 사료된다.

아미노태질소 함량은 단백질의 분해정도를 알 수 있는 중요한 품질지표로 사용되고 있으며, 각 발효물에 따라 차이가 있었다(Table 2). 품종별 발효물의 아미노태질소 함량은 525.41~794.66 mg% 범위로 단백질 분해 효소인 protease와 비슷한 경향으로 나타났다. 이러한 결과는 발효과정에서 미생물이 생산하는 효소작용이 각각 다르기 때문인 것으로 사료된다. Kim 등(1998)은 *Aspergillus*속 균류들을 이용한 콩알메주의 아미노태질소 함량은 178~309 mg%이라고 보고한 것과 비교하면 더 높았고, Shin 등(2019)이 보고한 연구에서 *Aspergillus* 이용 콩 발효물의 아미노태질소 함량은 641~791 mg%이라고 하여 비슷한 수준이었다. 콩 발효물의 미생물로 곰팡이수를 측정한 결과, Table 2에서 보듯이 품종에 따라 유의적인 차이를 나타내었으며, 각 발효물에 따라 6.18~9.14 log CFU/g 범위 수준으로 나타났다. 기 보고에 의하면 전통 재래식 메주의 곰팡이수가 6.0 log CFU/g이었다는 결과보다 본 실험 결과에서 더 많이 나타났다(Yoo & Kim 1998).

Table 2. The enzymatic activity and mold of fermented soybean products by cultivars

Cultivar	Enzymatic activity (unit/g)		Amino nitrogen (mg%)	Mold (log CFU/g)
	α-Amylase	Protease		
Miso	40.53±0.11[c2)]	410.56±3.27[b]	749.19±0.81[b]	9.14±0.01[a]
Jinpung	55.25±1.10[a]	552.51±3.14[a]	794.66±2.82[a]	8.95±0.02[b]
Pyeongwon	38.73±0.46[d]	306.32±4.80[d]	694.15±4.85[d]	7.84±0.05[c]
Cheonga	14.00±0.55[e]	204.18±5.52[e]	525.41±1.54[e]	6.18±0.03[e]
Chamol	54.55±1.12[b]	370.75±0.91[c]	716.94±1.46[c]	7.68±0.03[d]

All values are mean±S.D. (n=3).
[1)] Any means in the same column followed by the small letter ([a-e]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

3. 곰팡이 이용 콩 발효물의 아미노산 분석

곰팡이를 이용한 콩 발효물의 유리아미노산 함량에 대한 분석 결과는 Table 3과 같았다. 총 유리아미노산과 필수아미노산 함량은 진풍, 평원, 참올, 미소 및 청아 발효물 순으로 나타났다. 이는 앞서 결과에서 protease의 활성(Table 2)과도 비슷한 경향이었다. 유리 아미노산 함량 중 glutamic acid가 가장 많이 검출되었고, lysine, alanine, arginine, aspartic acid 및 serine 등이 높게 나타났으며, 함황아미노산은 청아 발효물에서 가장 높았다. 아미노산 중 맛에 관여하는 주요 프로파일은 감칠맛의 경우 glutamic acid와 aspartic acid로 평원이 가장 높았고, 그 다음으로 진풍이 높게 나타났다. 쓴맛(valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine)과 단맛(alanine, glycine, lysine)은 진풍이 가장 높았고, 청아가 가장 낮은 아미노산 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 Gil 등(2017)의 연구에서 콩 발효물의 유리아미노산 중 glutamic acid가 가장 많았고, 품종에 따라 함량의 차이를 보였다는 보고와 유사하였다. 또한, Rozan 등(2000)은 콩 발효과정에서 단백질이 분해되어 생성된 유리아미노산은 독특한 맛과 향을 갖는다고 보고하였다. 이에 따라 콩 발효물의 유리아미노산 함량은 제품의 맛과 향 등 품질에 중요한 요소이며, 생리활성 성분에도 영향을 줄 것으로 사료된다(Shin 등 2019).

4. 곰팡이 이용 콩 발효물의 유기산 분석

곰팡이 이용 콩 발효물의 유기산 함량을 분석한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같았다. 유기산은 lactic acid, fumaric acid, citric acid 및 acetic acid 4종의 유기산이 검출되었으며, 총 유기산 함량은 진풍이 가장 높게 나타났다. 유기산 중 citric acid 함량이 가장 높았고, 그 다음으로 fumaric acid, acetic acid 순으로 높았으며, lactic acid는 상대적으로 낮게 검출되었다. 본 실험에서 검출된 총 유기산 함량은 Oh

Table 3. Free amino acid contents of fermented soybean products by cultivars from *Aspergillus* spp.

(Unit: mg/100 g, dry basis)

Composition	Cultivars				
	Miso	Jinpung	Pyeongwon	Cheonga	Chamol
Asp	19.62±0.64$^{C1)d2)}$	26.86±1.56^{Ae}	25.45±2.14^{Ad}	24.63±1.26^{Ad}	21.12±0.45^{Be}
Thr	13.63±0.37^{Ce}	26.22±0.12^{Ae}	20.56±0.14^{Be}	6.36±0.56^{Dg}	18.71±0.62^{Bf}
Ser	20.03±0.08^{Dd}	38.64±2.37^{A}	23.98±1.23^{Cd}	13.51±0.28^{E}	29.35±1.43^{Bd}
Glu	112.38±2.78^{Da}	154.88±4.24^{Ba}	163.47±4.13^{Aa}	127.19±2.09^{Ca}	127.65±4.18^{Ca}
Pro	7.56±0.14^{Cg}	16.97±0.25^{Af}	11.65±0.42^{Bf}	3.80±0.35^{Dh}	10.85±0.58^{Bg}
Gly	7.49±0.05^{Cg}	13.66±0.63^{Ag}	8.16±0.17^{Bg}	3.17±0.32^{Dh}	8.46±0.52^{Bh}
Ala	43.56±2.54^{Cb}	71.44±3.64^{Ac}	50.20±2.51^{Bc}	21.56±0.87^{De}	50.00±3.27^{Bc}
Cys	0.63±0.02^{Cj}	0.79±0.01^{Cj}	0.62±0.01^{Cj}	14.60±0.49^{Af}	1.86±0.49^{Bj}
Val	3.88±0.08^{Ch}	7.61±0.25^{Ah}	5.44±0.21^{Bh}	1.89±0.06^{Di}	5.03±0.16^{Bi}
Met	0.49±0.01^{Cj}	2.08±0.03^{Ai}	1.02±0.02^{Ai}	0.77±0.02^{Bi}	0.75±0.01^{Bj}
Ile	1.21±0.02^{Bi}	3.02±0.14^{Ai}	0.98±0.10^{Ci}	ND$^{3)}$	1.23±0.06^{Bj}
Leu	2.11±0.14^{Ch}	9.32±0.17^{Ah}	4.61±0.34^{Bh}	0.67±0.01^{Di}	4.32±0.16^{Bi}
Tyr	3.64±0.32^{Dh}	14.12±0.63^{Ag}	11.79±0.56^{Bf}	3.99±0.04^{Dh}	9.53±0.30^{Cg}
Phe	0.27±0.02^{Cj}	4.14±0.16^{A}	2.55±0.05^{Bi}	ND	2.52±0.05^{Bj}
His	9.93±0.25^{Df}	24.67±2.41^{Ce}	24.28±0.45^{Cd}	30.15±5.17^{Bb}	64.79±2.37^{Ab}
Lys	40.46±1.13^{Cc}	101.34±6.23^{Ab}	85.89±7.67^{Bb}	13.97±0.65^{Df}	15.56±0.18^{D}
Arg	20.57±2.54^{Dd}	62.72±3.67^{Ad}	51.30±4.27^{Bc}	27.57±2.34^{Cc}	50.83±4.05^{Bc}
EAA$^{4)}$	73.08	178.40	145.33	43.81	112.91
TAA$^{5)}$	307.46	578.48	491.95	293.83	422.56

1) Any means in the same row followed by the capital letter ($^{A-D}$) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
2) Any means in the same column followed by the small letter ($^{a-j}$) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
3) ND: Not detected.
4) Essential amino acid (Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+His+Lys).
5) Total amino acid.

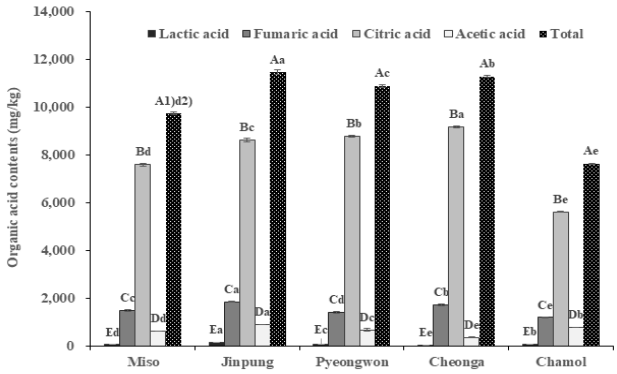

Fig. 1. Organic acid contents of fermented soybean products by cultivars. [1)] Any means in the same row followed by the capital letter ([A-D]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05). 2) Any means in the same column followed by the small letter ([a-j]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p< 0.05).

등(2003)의 연구에서 원료 콩에 많이 함유되었던 citric acid는 *Bacillus* sp. 이용 청국장의 발효에서 미생물의 에너지원으로 이용되어 감소되었고, lactic acid와 acetic acid는 증가되는 것으로 보고한 것과 본 실험의 *Aspergillus* 이용 콩 발효물의 유기산 결과와는 다른 양상이었다. 따라서 콩 발효에 의한 유기산 함량의 차이는 사용되는 균주, 발효조건, 콩 품종 등에 따라 달라질 수 있을 것으로 사료된다.

5. 곰팡이 이용 콩 발효물의 향기성분 분석

곰팡이 이용 콩 발효물의 향기성분은 SPME를 이용하여 GC/MS로 정량한 결과, 주요 성분으로 총 18종의 물질이 검출되었다(Table 4). Acid 2종(acetic acid, propanoic acid), alcohol 4종(3-octanol, benzeneethanol, benzyl alcohol, oxirane), ketone 4종(acetoin, maltol, acetophenone, 2-nonanone), phenol 3종(phenol, 2-methoxy-4-vinylphenol, butyl hydroxy toluenel), furan 1종(2,3-dihydro-benzofuran), pyrazine 3종(2,5-dimethyl-

Table 4. Volatile compound of fermented soybean products according to cultivars

Possible compound	Relative peak area (%)				
	Miso	Jinpung	Pyeongwon	Cheonga	Chamol
Acids					
Acetic acid	2.81±0.05[B1)f2)]	2.16±0.16[Cf]	5.64±0.34[Ac]	3.65±0.37[Bf]	4.86±0.03[Ae]
Propanoic acid	ND[3)]	ND	0.18±0.00[Ag]	0.75±0.01[Ai]	0.64±0.02[Ai]
Alcohols					
3-Octanol	1.28±0.02[B]	3.05±0.02[Ae]	1.15±0.01[Bf]	1.19±0.01[Bh]	1.44±0.02[Bh]
Benzeneethanol	36.88±1.24[Aa]	36.84±1.08[Aa]	19.99±1.05[Cb]	11.96±0.67[Dd]	29.95±2.52[Ba]
Benzyl alcohol	0.29±0.01[B]	0.83±0.02[Ag]	1.30±0.03[Af]	0.84±0.01[Ai]	1.36±0.03[Ah]
Oxirane	1.12±0.03[Bh]	0.89±0.04[Bg]	1.96±0.07[Ae]	1.40±0.02[Ah]	1.59±0.02[Ag]
Ketones					
Acetoin	0.12±0.02[Cj]	1.85±0.06[Af]	0.19±0.03[Cg]	0.94±0.02[Bi]	0.35±0.01[Ci]
Maltol	5.14±0.10[Cd]	7.88±0.14[Bc]	5.21±0.08[Cc]	17.36±0.21[Ac]	4.16±0.24[De]
2-Nonanone	0.17±0.04[Aj]	0.09±0.00[Ah]	0.36±0.00[Ag]	0.34±0.01[Aj]	0.14±0.00[Ai]
Acetophenone	7.05±0.16[Dc]	7.17±0.18[Dc]	18.84±0.07[Bb]	20.65±1.06[Aa]	15.51±1.14[Cb]
Phenols					
Phenol	0.71±0.02[Ai]	0.55±0.02[Ag]	ND	1.04±0.05[Ah]	ND
Butyl hydroxy toluene	0.96±0.04[Dh]	3.08±0.00[Ce]	1.54±0.02[Df]	7.77±0.14[Ad]	4.95±0.16[Be]
2-Methoxy-4-vinylphenol	2.95±0.06[Df]	4.35±0.38[Cd]	6.01±0.07[Bc]	2.32±0.03[Df]	10.03±1.06[Ad]
Furan					
2,3-Dihydro-benzofuran	4.44±0.76[Be]	4.34±0.27[Bd]	5.68±0.42[Ac]	4.03±0.10[Be]	3.58±0.08[Bf]
Pyrazines					
2,5-Dimethyl-pyrazine	1.62±0.27[Dg]	1.48±0.07[Df]	2.57±0.03[Ce]	4.45±0.67[Ae]	3.77±0.47[Bf]
2,6-Dimethyl-pyrazine	0.71±0.04[Bi]	0.17±0.00[Ah]	3.27±0.24[Ad]	0.72±0.03[Bi]	1.01±0.36[Bh]
Trimethyl-pyrazine	1.18±0.02[Bg]	0.97±0.02[Bg]	1.30±0.05[Bf]	1.96±0.08[Ag]	2.10±0.10[Ag]
Miscellaneous					
Styrene	32.56±1.23[Ab]	24.31±1.47[Bb]	24.81±2.05[Ba]	18.63±0.36[Cb]	14.57±0.54[Dc]

[1)] Any means in the same row followed by the capital letter ([A-D]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
[2)] Any means in the same column followed by the small letter ([a-j]) are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).
[3)] ND: Not detected.

pyrazine, 2,6-dimethyl-pyrazine, trimethyl-pyrazine), miscellaneous 1종(styrene)이었다. 각 발효물의 휘발성 향기성분 중 benzeneethanol(미소, 진풍, 참올)과 styrene(평원, 청아)이 가장 많이 검출되었다. Kim 등(1998)은 *A. oryzae*으로 제조한 콩알메주의 향기성분을 분석한 결과, ethanol, 1-propanol, acetic acid, 1-butanol 등이 주요 성분으로 검출되었다고 보고하여 본 실험 결과와는 상이하였다. 또한, 불쾌취로 알려진 acid는 평원이 5.8% 정도로 가장 높은 함량을 보였고, 진풍이 2.2%로 가장 낮았다. 기 보고된 연구에서 청국장의 향기성분 중 acid는 발효 후반으로 갈수록 증가하였다고 보고하였다(Park 등 2017). Pyrazine 화합물은 아미노산과 당이 반응하여 생성되는 것으로 식품의 향에 영향을 주는 중요한 갈변 향기물질로 알려져 있다(Ito 등 1989). 본 실험의 pyrazine 화합물은 진풍과 미소가 다른 발효물에 비해 약 2~2.5배 정도 낮은 함량을 나타내었으며, pyrazine류 중 콩 발효물의 자극취로 보고된(Park 등 2011) tetramethy-pyrazine은 검출되지 않았다. 이러한 콩 발효물의 휘발성 화합물의 조성 및 함량의 차이는 품종, 균주 및 발효조건, 분석방법에 따라 다를 것으로 추측되기 때문에 향미 특성에 대한 구체적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

요약 및 결론

본 연구에서는 콩 5품종을 *Aspergillus*속 균주를 이용하여 발효물을 제조하여 생성된 물질들의 특성을 조사하였다. 콩 발효물의 pH는 6.30~6.66%, 총산도는 0.27~0.48% 범위로 각 발효물에 따라 차이를 보였다. 색도를 측정한 결과, L값은 평원 발효물이 60.28로 가장 높았으며, a값 및 b값은 각각 0.64~3.68과 11.48~31.21 수준이었다. 효소활성, 질소성분, 미생물을 측정한 결과 각 발효물에 따라 차이가 있었다. α-Amylase 및 protease 활성, 질소성분은 진풍 발효물이 가장 높았으며, 미생물의 곰팡이 수는 6.18~9.14 log CFU/g 범위 수준으로 나타났으며, 미소 발효물이 가장 높았다. 유리아미노산과 유기산 함량은 진풍 발효물이 높았으며, 각 발효물에 따라 다른 구성비를 보여 주었다. 아미노산은 Glu, Lys, Ala, Arg 및 Asp 등이 높았고, 유기산은 citric acid와 fumaric acid 등이 높게 나타났다. 콩 발효물의 향기성분을 분석한 결과, acid 2종, alcohol 4종, ketone 4종, phenol 3종, furan 1종, pyrazine 3종, miscellaneous 1종 등 18종이 검출되었는데, 이 중 benzeneethanol과 styrene의 함량이 가장 많았다. 이상의 결과를 종합해보면, 발효특성이 우수한 진풍 품종을 이용하여 *A. oryzae* 접종 발효물을 제조한다면 품질 향상에 도움이 될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 AGENDA 연구사업(과제번호: PJ01350803)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

References

Ann YG. 2011. Changes in components and peptides during fermentation of *cheonggookjang*. *Korean J Food Nutr* 24:124-131

Cao ZH, Green-Johnson, JM, Buckley ND, Lin QY. 2019. Bioactivity of soy-based fermented foods: A review. *Biotechnol Adv* 37:223-238

Chang M, Chang HC. 2007. Characteristics of bacterial-koji and doenjang (soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJI. *Korean J Microbiol Biotechnol* 35:325-333

Cho YJ, Cha WS, Chun SS, Choi UK, Bok SK, Kim MU. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during *chunggugjang* fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43:247-252

Choi HS, Joo SJ, Song IG, Min KB, Kim KS, Yoon HS. 2007. Quality characteristic of hwangki (*Astragalus membranaceus*) *chungkukjang* during fermentation. *Korean J Food Preserv* 14:356-363

Gil NY, Choi BY, Park SY, Cho YS, Kim SY. 2017. Physicochemical properties of *Doenjang* using grain type *Meju* fermented by *Aspergillus oryzae* and protease. *Korean J Food Preserv* 24:697-706

Han KH, Kim DH, Song KY, Lee SW, Han SH. 2015. The effects of methanol extract from *Cheonggukjang* in T98G cells and early stage of focal ischemia rodent models. *Korean J Food Nutr* 28:965-972

Ito T, Sugawara E, Mitanogara T, Sakuri Y, Odagiri S. 1989. Effect of amino acid as nitrogen sources on microbiological formation of pyrazines. *Nippon Shokuhim Kogyo Gakkaishi* 36:762-764

Joo EY, Park CS. 2010. Antioxidative and fibrinolytic activity of extracts from soybean and *Chungkukjang* (fermented soybeans) prepared from a black soybean cultivar. *Korean J Food Preserv* 17:874-880

Jung TD, Shin GH, Kim JM, Oh JW, Choi SI, Lee JH, Lee SJ, Heo IY, Park SJ, Kim HT, Kang BK, Lee OH. 2016. Assessment of validation method for bioactive

contents of fermented soybean extracts by bioconversion and their antioxidant activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:680-689

Kim DH, Kim SH, Choi NS, Bai S, Chun SB. 1998. Biochemical characteristics of whole soybean cereals fermented with *Aspergillus* strains. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 26:551-557

Kim H, Shin JY, Lee AR, Hwang JH, Kwang WY. 2017. Physiological activity of the fermented small black soybean (*Rhynchosia volubilis*) with a solid state culture of the bearded tooth mushroom (*Hericium erinaceum*) mycelia. *Korean J Food Nutr* 30:1348-1358

Kim KS, Bae EK, Ha SD, Park YS, Mok CK, Hong KP, Kim SP, Park J. 2004. Evaluation of dry rehydratable film method for enumeration of microorganisms in Korean traditional foods. *J Food Hyg Saf* 19:209-216

Kim YS, Kim MC, Kwon SW, Kim SJ, Park IC, Ka JO, Weon HY. 2011. Analyses of bacterial communities in meju, a Korean traditional fermented soybean bricks, by cultivation-based and pyrosequencing methods. *J Microbiol* 49:340-348

Lee JY, Shim JM, Yao Z, Liu X, Lee KW, Kim HJ, Ham KS, Kim JH. 2016. Antimicrobial activity of *Bacillus amyloliquefaciens* EMD17 isolated from *Cheonggukjang* and potential use as a starter for fermented soy foods. *Food Sci Biotechnol* 25:525-532

Lee SY, Eom JS, Choi HS. 2014. Quality characteristics of fermented soybean products by *Bacillus* sp. isolated from traditional soybean paste. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:756-762

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

Park HS, Yu JH. 2016. Velvet regulators in *Aspergillus* spp. *Microbiol Biotechnol Lett* 44:409-419

Park JH, Han CK, Choi SH, Lee BH, Lee HJ, Kim SS. 2011. Development of odor-reduced Korean traditional *cheonggukjang* added with job's tears. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:259-266

Park MK, Choi HS, Kim YS, Cho IH. 2017. Change in profiles of volatile compounds from two types of *Fagopyrum esculentum* (buckwheat) *soksungjang* during fermentation. *Food Sci Biotechnol* 26:871-882

Rozan P, Kuo YH, Lambein F. 2000. Free amino acids present in commercially available seedlings sold for human consumption. A potential hazard for consumers. *J Agric Food Chem* 48:716-723

Sasithorn S, Bhagavathi SS, Periyanaina K, Sartjin P, Chaiyavat C. 2017. Lactic acid bacteria mediated fermented soybean as a potent nutraceutical candidate. *Asian Pac J Trop Biomed* 7:930-936

Shin BK, Kang S, Han JI, Park S. 2015. Quality and sensory characteristics of fermented milk adding black carrot extracts fermented with *Aspergillus oryzae*. *J Korean Soc Food Cult* 30:370-376

Shin DS, Choi ID, Lee SK, Park JY, Kim NG, Jeong KH, Park CH, Choi HS. 2019. Quality change of fermented soybean products by *Aspergillus* spp. from soybean cultivar. *Food Eng Prog* 23:258-264

Shon MY, Seo KI, Park SK, Cho YS, Sung NJ. 2001. Some biological activities and isoflavone content of *Chungkugjang* prepared with black beans and *Bacillus* strains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:662-667

Von W. 1993. Worthington Enzyme Manual: Enzymes and Related Biochemicals. pp.36-44, 349-350. Worthington Biochemical Corp

Yang EI, Kim YS. 2013. Physiological properties of viscous substance from *Cheonggukjang*. *J Agric Life Sci* 44:10-14

Yoo JY, Kim HG. 1998. Characteristics of traditional mejus of nation-wide collection. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:259-267

Received 29 April, 2020
Revised 07 May, 2020
Accepted 26 May, 2020