

복합균주를 접종하여 제조한 메주의 발효 중 품질 특성 변화

신동선 · 박혜영* · 박지영* · 심은영* · 김홍식** · †최혜선*

농촌진흥청 국립식량과학원 증부작물부 전문연구원,
*농촌진흥청 국립식량과학원 증부작물부 농업연구사, **농촌진흥청 국립식량과학원 증부작물부 농업연구관

Change of Quality Characteristics of *Meju* during Fermentation with Multiple Starters

Dong Sun Shin, Hye-young Park*, Ji Young Park*, Eun-yeong Sim* Hong-Sik Kim** and †Hye Sun Choi*

Post-Doctor, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16429, Korea

*Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16429, Korea

**Senior Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16429, Korea

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the quality properties of *Meju* prepared by inoculating two strains of *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2, and *Aspergillus oryzae* PS03. The three soybean varieties that include Daewonkong, Daechan, and Saedanbaek were used in this experiment. The fermentation temperature during the *Meju* aging varied at 20°C, 30°C, and 40°C, respectively. The physicochemical analysis of the soybeans, showed that the cured protein and fat contents were 34.83~43.49% and 12.91~18.90%, respectively. The pH and total acidity were 6.47~6.93 and 0.11~1.22%, respectively. The change in appearance of the *Meju* was that the yellow-green mold was well formed on seven days at fermentation temperature of 20°C and 30°C, but at 40°C, there was minimal mold formation and cracking of the surface. The amino nitrogen content was highest on the Daechan *Meju* at 621.83 mg% for seven days. The amylase increased as the fermentation period increased in all samples, and the protease increased rapidly until the first day of the fermentation, and then gradually increased thereafter. The total number of bacteria increased or decreased as the fermentation proceeded to 6.66~10.07 log CFU/g. The mold counts increased with increasing fermentation period in the range of 6.38~8.79 log CFU/g.

Key words: *Meju*, fermentation, quality, starters

서 론

우리나라의 메주(*Meju*, Korean style soybean koji)는 된장, 간장 및 고추장 등 장류의 원료로 이용되는 전통 콩 발효식품이며, 메주의 품질에 따라 장류의 품질을 결정짓는 중요한 원료 소재이다(Shin 등 2018). 메주의 원료인 콩은 영양적 측면에서 질병예방과 치료분야까지 그 소비시장이 다양해지고 있어 산업체 및 소비자들의 관심이 높아지고 있다(Zheng 등 2011; Jung 등 2016). 최근 국내 장류 판매량은 통계청 자료에 의하면 2015년 1조 53억원, 2016년 1조 56억원으로 증가하다가 2017년에는 990억원으로 감소하였으며, 2018년에는 1조

45억원으로 다시 증가하는 등 다변화 추세이다(Cho 등 2016). 이에 따라 산업체에서는 다양한 소비계층이 선호하고 장류의 안전성까지 고려한 제품개발이 이루어지고 있으며, 콩 육종 연구부서에서도 품질이 우수한 장류용으로 콩 품종을 개발하려고 지속적인 연구가 이루어지고 있다(Shin DH 2008; Kim 등 2017; Gholamhoseini 등 2018).

전통장류 제조 시 자연발효 메주는 발효과정 중 공기로부터 착생하는 유익한 곰팡이(*Aspergillus* 속, *Mucor* 속, *Rhizopus* 속)가 메주 표면에 증식하고 메주 내부에는 고초균을 포함하는 *Bacillus* 속 세균이 증식하면서 단백질 분해효소를 생성하는 등 메주의 주도적인 발효가 이루어지면서 맛과 향미를 생

† Corresponding author: Hye Sun Choi, Researcher, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 16429, Korea. Tel: +82-31-695-0623, Fax: +82-31-695-0609, E-mail: choih9587@korea.kr

성한다(Yoo & Kim 1998). 하지만, 이러한 과정에서 발암물질인 aflatoxin 같은 독소생성 곰팡이나 식중독균(*B. cereus*) 오염도 일어날 수 있어 전통 장류의 미생물 안전성에 대한 중요한 문제로 인식되고 있다(Choi 등 2009; Kim 등 2010). 이러한 메주의 자연발효 문제점을 해결하기 위해서 유해균 증식 억제능력이 우수한 *Aspergillus* 속이나 *Bacillus* 속을 인위적으로 접종하여 잡균 오염을 줄이는 방법 등이 시도되고 있다(Chang & Chang 2007; Kim 등 2010; Cho 등 2016). 최근 메주에 관한 국외 연구로는 메주의 메타유전체 특성, 메주의 미생물 특성과 안전성, 메주의 발효대사산물 특성(Li 등 2017; Shukla 등 2018; Xie 등 2019) 등이 보고되고 있으며, 국내 연구는 주로 메주의 미생물 균주 특성 및 유용 미생물 분리(Yun 등 2012; Hong 등 2013; Jung 등 2014; Lee 등 2016), 메주의 미생물 안전성(Kim 등 2010), 메주의 품질특성(Lee 등 2013; Jeon 등 2017) 등이 보고되었고, 중균을 이용하여 제조한 메주의 특성(Lee 등 2014; Cho 등 2016)을 통해 가능성을 조사한 연구도 일부 보고되었지만, 미생물 안전 및 산업체의 품질 표준화를 위해 더 많은 연구가 필요하다.

본 연구에서는 장류의 발효제로 쓰이는 메주의 미생물 안전성과 산업체의 품질관리를 위한 기초자료로 제공하고자 고초균인 *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2와 곰팡이균인 *Aspergillus oryzae* PS03 2종의 균주를 복합균주로 접종하여 메주를 제조하였으며, 발효속성 중 발효조건에 따른 품질변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 복합균주 접종 및 메주 제조

본 실험에 사용된 복합균주는 단백질 분해능이 우수한 전통 장류 유래 *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2 균주와 *Aspergillus oryzae* PS03 균주로서 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection(KACC), Jeonju, Korean)에서 분양 받아 사용하였다(Lee 등 2014). *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2 균주는 LB broth(Difco, Sparks, MD, USA)에 37°C에서 18시간 배양된 배양액(OD: 0.5, 10^8 CFU/g)을 사용하였으며, *Aspergillus oryzae* PS03 균주는 PDA(Difco Co., USA) 배지에 접종하여 25°C에서 계대 배양하여 얻은 균을 포자수 1×10^7 spore/g로 희석하여 사용하였다. 사용된 콩 품종은 대원콩(Daewonkong), 대찬(Daechan), 새단백(Saedanbaek)으로 2018년 국립식량과학원(경남 밀양소재)에서 수확한 것을 제공받았으며 메주 제조는 Cho 등(2016) 방법을 참고로 제조하였다. 즉, 각각의 콩을 수세 및 수침(상온, 23±2°C, 15 hr)한 다음 30분 동안 물 빼기를 하였다. 이를 스팀보일러(Kyungchang Machine, Kyunggi Kwangjoo, Korea)를 이용하기 압력이 적당히 올라가면 알루미늄 찜기(steamer)에 수침된 콩을 넣어 김이 오르기 시작하

면 3시간 30분 동안 증자하였다(230°C, 0.3 MPa). 이후 불을 끄고 30분 동안 뜸들이기 한 다음 증자된 콩을 꺼내어 내부의 온도가 40°C 이하가 되도록 냉각하였다. 여기에 배양된 복합균주를 대두 중량비로 각각 1%(v/w)씩 접종한 후 골고루 섞이도록 혼합하였다. 이후 콩을 파쇄하여 메주 한 개당 약 500 g의 크기(6 cm×12 cm×5 cm)로 하여 성형한 후 사각메주를 제조하였다. 이를 길 말린 후 발효실의 온도를 20°C, 30°C 및 40°C로 달리하여 메주를 10일 동안 발효시키면서 3일 간격으로 채취한 시료를 분석용으로 하였다.

2. 원료콩의 성분 특성

원료콩의 성분특성은 Shin 등(2019)의 방법을 참고로 하였다. 수분 함량은 적외선수분측정기(AND MX-50 moisture analyzer, Tokyo, Japan)을 이용하였으며, 조단백질 함량은 Micro-Kjeldahl방법으로 분해기(Tecator Digestor auto, Foss, Laurel, MD, USA)와 자동 단백질분석기(2300 Kjeltac Analyzer Unit, Foss Tecator, Laurel, MD, USA)로 분석하였으며, 질소계수는 6.25로 하였다. 조지방 함량은 Soxhlet(Soxtec™ 2050 Analyzer Unit, Foss Tecator, Hoganas, Sweden)를 이용하여 diethyl ether로 추출한 다음 정량하였으며, 조회분 함량은 전기회화로(DS-84E, Dasol Scientific Co., Ltd, Hwaseong, Korea)를 이용한 직접회화법으로 분석하였다. 탄수화물 값은 100 중량부에서 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분을 뺀 값을 표시하였다(Woo 등 2018).

3. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 pH 및 산도 변화

복합균주를 접종한 메주의 숙성 중 품종 및 발효온도에 따른 pH 및 산도는 AOAC(2000) 방법으로 측정하였다. pH는 10 g 시료에 90 mL(w/w) 증류수를 첨가하여 균질화한 다음 원심분리(10,000×g, 10 mim)하여 얻어진 상등액을 pH meter (Metrohm 691, Metrohm, Herisau, Switzerland)로 측정하였다. 산도는 10 g 시료에 90 mL(w/w) 증류수를 첨가하여 균질하였고, 원심분리(10,000×g, 10 mim)한 후 상등액 10 mL에 0.1 N NaOH를 첨가하면서 pH가 8.3을 종말점으로 하여 소비된 NaOH의 mL를 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복 측정하여 평균값과 표준편차로 나타내었다.

4. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 아미노태질소 함량 변화

복합균주를 접종한 메주의 숙성 중 품종 및 발효온도에 따른 아미노태질소(amino nitrogen, NH₂-N) 함량은 Lee 등(2014) 방법을 참고하여 formol 적정법으로 측정하였다. 시료액 5 mL에 증성용액 formalin 10 mL와 증류수 10 mL를 넣어 잘 혼합한 다음 0.5% phenolphthalein 용액 2-3방울 첨가하여 잘 섞이도록 하였다. 여기에 0.1 N NaOH를 넣어 미홍색이 될 때

까지의 적정량을 이용하여 아미노태질소 함량을 산출하였다.

5. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 효소활성 변화

복합균주를 접종한 메주의 숙성 중 품종 및 발효온도에 따른 효소활성으로 α -amylase와 protease를 측정하였다. α -amylase 활성은 1% 0.02 M phosphate buffer, pH 7.0인 가용성 전분 3 mL에 시료액 1 mL를 첨가하여 40°C에서 10분간 반응시킨 후 10 mL의 1 M HCl을 첨가한 후 반응을 중지시켰다. 이 중에 1 mL를 취한 다음 10 mL 요오드화 용액(0.005% I_2 +0.05% KI)을 첨가한 후 분광광도계(T80+ UVNIS Spectrophotometer, PG, Instruments, Alma Park, UK)에서 흡광도(660 nm)를 측정하였다. 공시험은 10 mL의 1 M HCl을 넣어 반응 중지 후 시료액을 넣어 반응 및 발색시킨 다음 측정하였다. 측정값은 조효소액 1 mL가 1분 동안 전분 0.1 mg을 분해한 양을 1 unit으로 하여 계산하였다(Von W 1993). Protease 활성은 0.2 M phosphate buffer에 0.6% casein을 용해하여 pH를 7.0으로 보정한 다음 이를 기질용액으로 하였다. 5 mL 기질용액에 1 mL 시료액을 넣어 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 5 mL의 0.44 M TCA(trichloroacetic acid) 용액을 첨가하였다. 이를 실온에서 30분 동안 방치한 다음 여과(No.2, Whatman, Buckinghamshire, UK)하여, 여과액 2 mL에 0.55 M Na_2CO_3 용액 5 mL와 희석된 Folin reagent 용액을 1 mL 첨가하여 실온에서 30분 동안 방치하였다. 이후 분광광도계(T80+ UVNIS Spectrophotometer, PG, Instruments, Alma Park, UK)에서 흡광도(660 nm)를 측정하였다. Tyrosine을 표준물질로 하여 표준곡선을 작성하였으며, 1분 동안 tyrosine 1 μ g을 생성하는 능력을 1 unit으로 나타내었다(Lee 등 2014).

6. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 미생물의 변화

복합균주를 접종한 메주의 숙성 중 품종 및 발효온도에 따른 미생물의 변화로 총균수 및 곰팡이 수를 측정하였다. 메주 시료는 0.9% NaCl 용액으로 10진 희석법에 의해 단계적으로 희석하였다. 총균수는 PCA(plate count agar)에 도말하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 생성된 colony 수를 계수하여 log CFU/g으로 나타내었다(Difco Laboratories 1984; Shin 등 2018). 곰팡이수 측정은 PYM 건조필름을 이용하여 3M사의 사용설명서와 Shin 등(2018)의 방법을 참조하여 측정하였다. 희석한 시료를 PYM 건조필름에 접종한 후 25°C의 배양기에서 3일 동안 배양한 후 다양한 색상과 가장자리 부분이 명확히 구분되지 않는 것을 곰팡이 균으로 계수하여 log CFU/g으로 표시하였다.

7. 통계처리

SPSS통계 package program(version 12.0, SPSS, Chicago, IL,

USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 산출하고 평균값은 one-way analysis of variance(ANOVA)로 비교하였다. Duncan's multiple range test하여 5%($p<0.05$) 유의수준에서 평균값으로 다중비교를 실시하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 원료콩의 성분 특성 및 메주의 숙성 중 외형 변화

본 실험에서 메주의 원료로 사용된 3가지 콩 품종에 따른 수분 함량, 조단백질, 조지방 및 조회분 등의 성분을 분석한 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 품종별로 유의적인 차이를 나타내었다. 수분 함량은 6.53~8.79% 수준이었으며, 조단백질 함량은 새단백이 43.49%로 가장 높았고 대원콩과 대찬이 각각 34.83% 및 36.17%로 나타났다. 조지방 함량은 12.91~18.90% 범위로 조단백질 함량이 가장 많았던 새단백이 가장 낮은 수준이었다. 조회분 함량은 5.47~6.73%이었으며, 탄수화물은 27.30~31.78%로 나타났다. Medic 등(2014)의 보고에서 콩의 단백질 함량은 약 40~41%라고 하였으나 본 실험 결과에서 대원콩과 대찬은 조금 낮았고 새단백은 더 높았다. 또한, Kim 등(2014)과 Shin 등(2019)의 보고에서 새단백은 다른 콩에 비해 높은 단백질 함량과 낮은 지방 함량을 나타내었다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다. 복합균주를 접종하여 제조한 메주의 숙성 중 주요 외형의 변화는 Fig. 1과 같았다. Fig. 1에서 보듯이 발효 4일과 발효 7일의 메주 시료를 반으로 잘라 내부를 관찰한 결과 품종 및 발효온도에 따라 다른 양상을 보였다. 즉, 발효 4일된 메주의 외형 변화는 발효온도 20°C와 30°C에서 대원콩 메주와 대찬 메주의 경우 곰팡이가 조금 형성되었으나 발효 7일된 메주에서는 황록색의 곰팡이가 잘 형성되어 다량 관찰되었다. 하지만, 발효온도 40°C에서는 발효온도 20°C와 30°C에서 숙성

Table 1. Composition of moisture, protein, lipid, ash, carbohydrate and Meju yield of 3 soybean cultivars

General component (%)	Cultivar ¹⁾		
	DWK	DC	SDB
Crude moisture	8.79±0.07 ^{a2)}	7.73±0.11 ^b	6.53±0.03 ^c
Crude protein	34.83±0.14 ^c	36.17±0.14 ^b	43.49±0.08 ^a
Crude lipid	18.90±0.04 ^a	18.38±0.06 ^b	12.91±0.01 ^c
Crude ash	5.70±0.02 ^b	5.47±0.05 ^c	6.73±0.02 ^a
Carbohydrate	31.78±0.33 ^a	31.33±0.32 ^b	27.30±0.37 ^c

¹⁾ DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: L. Daechan, SDB: L. Saedanbaek.

²⁾ Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

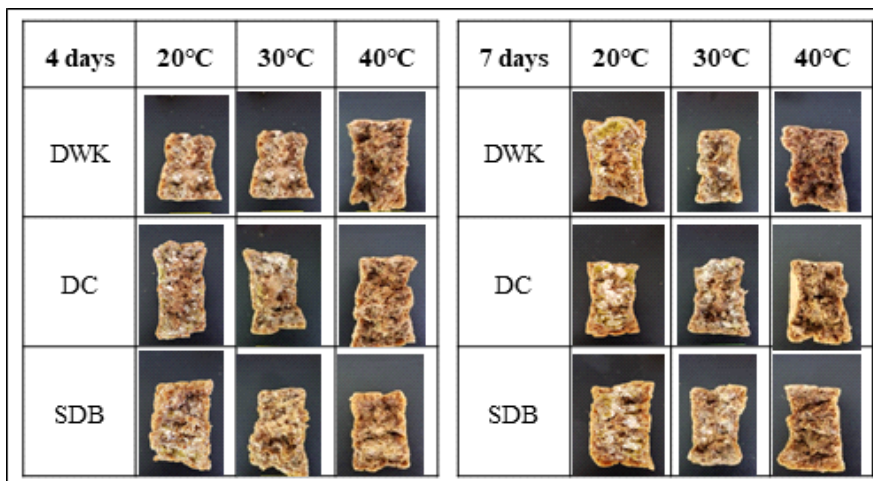


Fig. 1. Major images of Meju samples during fermentation with multiple starters. DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: L. Daechan, SDB: L. Saedanbaek.

한 메주보다 곰팡이 형성이 적었으며 표면의 갈라짐도 확인할 수 있었다. 품종별로는 새단백 메주의 경우 대원콩 메주와 대찬 메주에 비해 적은 양의 흰색 곰팡이가 형성되었다. Kim 등(1998)은 *A. oryzae* 곰팡이를 이용한 발효물의 곰팡이 색은 발효 초기 흰색이었다가 점점 황록색으로 변화면서 활성도가 높아진다고 하였다. 따라서 메주의 숙성 중 외형 변화는 품종 및 발효온도에 따라 미생물의 활성정도가 다르게 나타난 것으로 사료된다.

2. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 pH 및 산도 변화

품종 및 발효온도에 따라 제조한 메주를 10일 동안 발효숙성하면서 3일 간격으로 시료를 채취하여 pH 및 산도를 측정 한 결과는 Table 2에 나타내었다. pH와 산도는 발효가 진행되면서 *Aspergillus* 속 및 *Bacillus* 속 등의 균주에 의해 생성되는 암모니아 정도에 따라 달라진다(Yoo & Kim 1998). pH를 측정한 결과 발효온도 20°C에서는 대원콩 메주(pH 6.50~6.68), 대찬 메주(pH 6.44~6.67), 새단백 메주(pH 6.51~6.65)로 나타났고, 발효온도 30°C에서는 대원콩 메주(pH 6.56~6.85), 대찬 메주(pH 6.54~6.93), 새단백 메주(pH 6.55~7.31) 수준 이었으며, 발효온도 40°C에서는 대원콩 메주(pH 6.75~7.14), 대찬 메주(pH 6.67~7.02), 새단백 메주(pH 6.75~7.09) 범위로 발효온도가 높아질수록 pH는 높게 나타났다. 이것은 발효온도가 낮을수록 메주의 수분증발 및 표면의 갈라짐이 지연됨에 따라 메주 내부에 혐기적 조건이 형성되고 *Bacillus* 속 균주가 더 성장하면서 pH가 저하된 것으로 보인다(Kim 등 1998). 메주의 산도의 변화는 발효 초기 모든 시료에서 낮은 수준이었다가 발효숙성 기간이 증가함에 따라 증가하였는데, 발효온도가 낮은 20°C의 경우 증가의 폭이 크게 나타났다. Cho

등(2016)은 메주의 pH와 산도는 주로 자라는 균주에 따라 달라진다고 하였으며, Yoo & Kim(1998)은 지역별로 수집한 전통식 메주의 pH와 산도를 측정 한 결과 시료간의 차이가 크게 나타났다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과에서 메주의 pH와 TA가 다르게 나타난 것은 유용균주, 품종 및 발효온도 등의 발효조건에 따른 발효정도가 다르기 때문으로 사료된다(Shin 등 2018).

3. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 아미노태질소 함량 변화

아미노태질소 함량은 메주 콩 단백질의 분해율을 나타내는 품질지표로서 아미노태질소 함량이 증가하는 것은 protease 작용으로 단백질성 질소가 감소하기 때문이다(Lee 등 2014). Fig. 2에서 보듯이 복합균주 접종 메주의 숙성 중 아미노태질소 함량은 발효기간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 발효온도 20°C에서는 발효 10일까지 모든 메주 시료에서 증가하였으며(219.70~578.23 mg%), 발효온도 30°C에서 대원콩 메주는 발효 4일(55.83 mg%), 대찬 메주는 발효 7일(621.83 mg%), 새단백 메주는 10일(567.62 mg%)에 아미노태질소 함량이 가장 높았다. 발효온도 40°C에서는 발효초기에서 발효 1일까지 급속히 증가하다가 발효 4일 이후로는 완만하게 증가 또는 감소하였다(218.30~494.47 mg%). Cho 등(2016)의 연구에서 세균 및 곰팡이를 복합균주로 접종하여 메주를 제조하였을 때 발효초기에 아미노태질소 함량이 약 100.00 mg% 정도였다고 보고한 것과 본 실험의 결과와 비교해 보면 다소 높은 수준을 나타내었다. 또한, 아미노태질소 함량의 차이는 균주, 발효온도, 발효기간 등의 발효조건에 따라 관여하는 효소작용 조건이 다르기 때문에 나타나지만(Shin 등 2019), 본 실험에서는 모든 메주 시료에 복합균주를

Table 2. Changes in pH and TA of *Meju* during fermentation with multiple starters

Fermentation temp. (°C)	Cultivar ¹⁾	Fermentation time (days)					
		0	1	4	7	10	
pH	20	DWK	6.50±0.02 ^{C3)a4)}	6.52±0.02 ^{Cb}	6.62±0.01 ^{Bb}	6.64±0.03 ^{Ba}	6.68±0.01 ^{Aa}
		DC	6.47±0.01 ^{Cb}	6.48±0.00 ^{Cc}	6.67±0.02 ^{Aa}	6.44±0.20 ^{Cc}	6.60±0.02 ^{Bb}
		SDB	6.51±0.02 ^{Ca}	6.56±0.00 ^{Ba}	6.65±0.02 ^{Aa}	6.55±0.30 ^{Bb}	6.65±0.01 ^{Aa}
	30	DWK	6.57±0.01 ^{Cb}	6.56±0.01 ^{Cb}	6.80±0.09 ^{Bc}	6.84±0.02 ^{Ab}	6.85±0.01 ^{Ab}
		DC	6.59±0.01 ^{Cb}	6.60±0.00 ^{Ca}	6.93±0.02 ^{Ab}	6.54±0.40 ^{Dc}	6.80±0.02 ^{Bb}
		SDB	6.66±0.01 ^{Ca}	6.55±0.03 ^{Db}	7.31±0.11 ^{Aa}	6.91±0.06 ^{Ba}	6.90±0.01 ^{Ba}
	40	DWK	6.75±0.04 ^{Ca}	6.76±0.04 ^{Ca}	7.11±0.0 ^{Aa}	7.14±0.03 ^{Aa}	7.02±0.07 ^{Ba}
		DC	6.67±0.01 ^{Cb}	6.68±0.01 ^{Cb}	7.00±0.00 ^{Ab}	7.02±0.01 ^{Ab}	6.94±0.06 ^{Bb}
		SDB	6.75±0.01 ^{Da}	6.75±0.00 ^{Da}	7.09±0.01 ^{Aa}	6.93±0.03 ^{Bc}	6.88±0.01 ^{Cc}
TA ²⁾ (%)	20	DWK	0.11±0.01 ^{Eb}	0.60±0.02 ^{Da}	0.81±0.02 ^{Ca}	0.98±0.02 ^{Aa}	0.94±0.02 ^{Bc}
		DC	0.15±0.00 ^{Ea}	0.52±0.02 ^{Db}	0.68±0.01 ^{Cb}	0.88±0.02 ^{Bb}	1.22±0.02 ^{Aa}
		SDB	0.16±0.01 ^{Ea}	0.58±0.01 ^{Da}	0.66±0.00 ^{Cb}	0.89±0.01 ^{Bb}	1.13±0.04 ^{Ab}
	30	DWK	0.12±0.01 ^D	0.70±0.01 ^{Ca}	0.82±0.02 ^{Ba}	0.83±0.01 ^{Bb}	0.96±0.02 ^{Ab}
		DC	0.11±0.00 ^D	0.60±0.02 ^{Cb}	0.59±0.01 ^{Cb}	0.90±0.01 ^{Ba}	1.04±0.02 ^{Aa}
		SDB	0.14±0.01 ^E	0.69±0.01 ^{Ca}	0.45±0.00 ^{Dc}	0.78±0.01 ^{Bc}	0.88±0.00 ^{Ac}
	40	DWK	0.46±0.04 ^C	0.69±0.02 ^B	0.75±0.01 ^{Aa}	0.70±0.02 ^B	0.76±0.01 ^{Ab}
		DC	0.46±0.04 ^C	0.69±0.01 ^B	0.67±0.02 ^{Bb}	0.70±0.01 ^B	0.80±0.01 ^{Aa}
		SDB	0.48±0.02 ^C	0.70±0.02 ^B	0.67±0.01 ^{Bb}	0.68±0.01 ^B	0.83±0.00 ^{Aa}

1) DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: *L. Daechan*, SDB: *L. Saedanbaek*.

2) TA: Titrable acidity.

3) Any means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

4) Any means in the same row followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

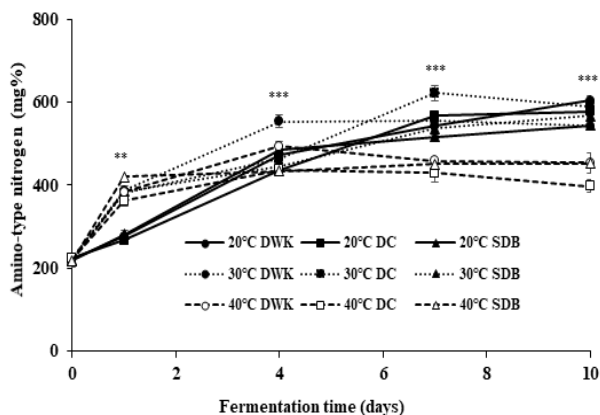


Fig. 2. Changes in the amino-type nitrogen contents of *Meju* samples during fermentation with multiple starters. DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: *L. Daechan*, SDB: *L. Saedanbaek*. Error bars represent standard deviations ($n=3$). Means in row with different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test. ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

접종하였기 때문에 발효조건 중 발효온도로 인하여 아미노 태질소 함량에도 영향을 줄 것으로 사료된다.

4. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 효소활성 변화

복합균주 접종 메주의 숙성 중 α -amylase와 protease의 효소 활성을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Amylase는 당분의 감미성분 등이 품질에 관여하기 때문에 중요한 전분 가수분해로 알려져 있다(Zheng 등 2011). 메주의 α -amylase 효소활성은 Fig. 3a에서 보듯이 발효온도 20°C 및 40°C의 경우 모든 메주 시료에서 발효기간이 증가할수록 증가하였으며 발효온도 40°C에서 그 증가의 폭이 큰 것으로 나타났다. 발효온도 30°C에서는 각각 발효초기 22.80~23.63 U/g에서 발효 4일에 지속적으로 증가하여 45.51~54.05 U/g로 가장 높았으며 발효 10일에는 31.45~38.30 U/g로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 기 보고된 Kim 등(1998)의 연구에서 *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus* 속을 종균으로 하여 제조한 메주의 α -amylase 활성보다 다소 높은 결과를 나타내었다. Protease 효소활성을 측정한 결과 Fig. 3b에서 보는 바와 같이 모든 메주

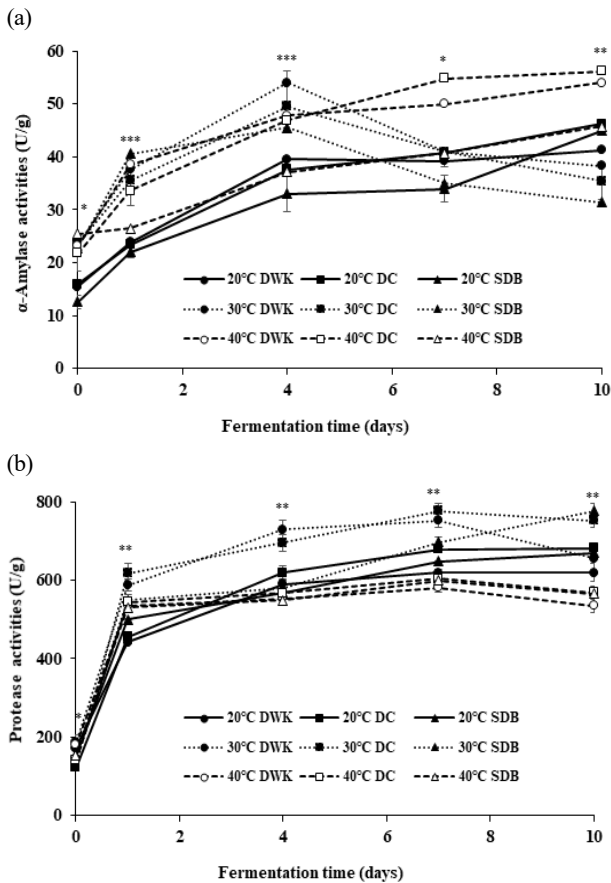


Fig. 3. Changes in the enzymatic activity of Meju samples during fermentation with multiple starters. (a) α -amylase activity, (b) protease activity. DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: L. Daechan, SDB: L. Saedanbaek. Error bars represent standard deviations (n=3). Means in row with different letters are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

시료에서 발효초기에서 발효 1일까지는 급격히 증가하다가 그 이후로는 완만하게 증가하는 경향을 보였다. Protease는 콩 발효숙성 중 미생물에 의해 polypeptide와 아미노산 등을 생성하여 영양 및 소화율을 높이고 맛을 결정짓는 중요한 역할을 한다(Lee 등 2014). 특히, 발효온도 30°C에서 protease 효소활성이 가장 높았으며, 품종별로는 대원콩 메주, 대찬 메주 및 새단백 메주가 각각 발효 4일(728.75 U/g), 발효 7일(777.08 U/g) 및 발효 10일(776.25 U/g)에 가장 높은 함량을 나타내어 품종별 차이를 보였다. 이는 앞서 Fig. 2의 아미노태질소 함량의 결과에서와 비슷한 결과였다. Lee 등(2014)의 보고에서 발효 환경조건에 따라 protease 활성이 다르다고 보고 하였는데, 본 실험에서도 메주 제조 시 콩 품종, 균주, 발효온도 등의 발효조건이 다르기 때문으로 보인다. 특히, 메

주 제조 시 복합균주에서 요구되는 효소특성이 각각 다르게 나타나므로 복합균주의 선발 및 조합도 신중히 고려되어야 할 것이다.

5. 복합균주 접종 메주의 숙성 중 미생물의 변화

메주 숙성 중 미생물의 변화로 총균수와 곰팡이수를 측정 한 결과는 Table 3에 나타내었다. 총균수의 변화는 발효초기 모든 메주 시료에서 6.66~7.16 log CFU/g이었으며 발효숙성이 진행됨에 따라 발효 10일에는 9.06~10.07 log CFU/g으로 발효기간이 증가할수록 다소 증가하거나 감소하였다. 발효 온도 20°C의 발효 4일에는 10.11~10.19 log CFU/g으로 총균수가 가장 높았다. Choi 등(2007)은 메주의 발효기간에 따라 총균수는 발효기간이 증가함에 따라 증가하였다는 결과와 유사하였다. 곰팡이수는 메주 시료별로 6.38~8.79 log CFU/g 범위로 발효기간이 증가할수록 증가 또는 감소하였다. 발효온도 20°C에서는 발효 7일(8.40~8.79 log CFU/g), 발효온도 30°C에서는 발효 4일(7.56~8.08 log CFU/g), 발효온도 40°C에서는 발효 1일(5.56~5.74 log CFU/g)에 곰팡이수가 가장 높게 나타나 발효온도별로 차이를 보였다. Yoo & Kim(1998)은 재래식 메주의 곰팡이수는 6.00 log CFU/g이었다고 보고한 것과 비교해 보면 본 연구에서 복합균주를 접종하여 제조한 메주가 곰팡이수가 다소 많은 편이었다.

요약 및 결론

본 연구에서는 복합균주로 접종하여 제조한 메주의 발효 숙성 중 발효온도를 20°C, 30°C 및 40°C로 달리하여 발효기간에 따른 품질변화를 조사하였다. 원료콩의 조단백질 함량은 34.83~43.49%, 조지방 함량은 12.91~18.90%, 조회분 함량은 5.47~6.73% 범위로 품종별로 차이를 나타내었다. 메주의 숙성 중 외형의 변화는 발효온도 20°C와 30°C에서 발효 7일에 황록색의 곰팡이가 잘 형성되었으나 발효온도 40°C에서는 곰팡이 형성이 적었고 표면의 갈라짐도 있었다. pH는 pH 6.47~6.93, 산도는 0.11~1.22 범위로 발효온도 및 기간이 증가함에 따라 증가하는 경향이 있었다. 아미노태질소 함량은 발효기간이 증가함에 따라 증가하였으며 발효온도 30°C에서 대원콩 메주는 발효 4일(55.83 mg%), 대찬 메주는 발효 7일(621.83 mg%), 새단백 메주는 10일(567.62 mg%)에 가장 높았다. 효소활성을 측정한 결과 α -amylase는 모든 시료에서 발효기간이 증가할수록 증가하였으며 protease는 발효초기에서 발효 1일까지는 급격히 증가하다가 그 이후로는 완만하게 증가하는 경향을 보였다. 총균수는 발효초기 6.66~7.16 log CFU/g이었으며 발효숙성이 진행됨에 따라 발효 10일에는

Table 3. Changes in total aerobies and molds of *Meju* during fermentation with multiple starters

Fermentation temp. (°C)	Cultivar ¹⁾	Fermentation time (days)					
		0	1	4	7	10	
Total aerobies (log CFU/g)	20	DWK	7.16±0.10 ^{D2)a3)}	9.59±0.10 ^{Cc}	10.19±0.01 ^{Aa}	10.09±0.03 ^{Ba}	10.04±0.01 ^{Bb}
		DC	6.86±0.01 ^{Cb}	9.74±0.00 ^{Bb}	10.11±0.02 ^{Ab}	10.08±0.20 ^{Aa}	10.10±0.02 ^{Aa}
		SDB	6.99±0.02 ^{Db}	9.72±0.00 ^{Ca}	10.18±0.02 ^{Aa}	10.02±0.30 ^{Bb}	10.06±0.01 ^{Bb}
	30	DWK	6.66±0.10 ^{Ec}	7.82±0.10 ^{Db}	10.05±0.05 ^{Bb}	10.18±0.08 ^{Aa}	9.43±0.05 ^{Cb}
		DC	6.82±0.09 ^{Eb}	7.52±0.16 ^{Dc}	10.11±0.02 ^{Aa}	9.98±0.40 ^{Bb}	9.06±0.02 ^{Bc}
		SDB	6.93±0.01 ^{Ea}	7.95±0.03 ^{Da}	9.91±0.11 ^{Cc}	10.02±0.06 ^{Ab}	9.96±0.01 ^{Ba}
	40	DWK	7.16±0.06 ^{Da}	9.97±0.21 ^{Cc}	10.11±0.10 ^{Aa}	10.12±0.07 ^{Aa}	10.07±0.21 ^{Ba}
		DC	6.86±0.18 ^{Dc}	10.18±0.05 ^{Aa}	9.96±0.05 ^{Cb}	10.04±0.06 ^{Bb}	10.06±0.17 ^{Ba}
		SDB	6.99±0.45 ^{Cb}	10.02±0.17 ^{Ab}	9.85±0.08 ^{Bc}	9.88±0.10 ^{Bc}	10.02±0.06 ^{Ab}
Molds (log CFU/g)	20	DWK	6.56±0.10 ^{Eb}	6.89±0.05 ^{Da}	7.42±0.07 ^{Cc}	8.72±0.04 ^{Ab}	8.42±0.09 ^{Bb}
		DC	6.67±0.08 ^{Ea}	6.87±0.08 ^{Da}	7.86±0.03 ^{Cb}	8.79±0.06 ^{Aa}	8.56±0.12 ^{Ba}
		SDB	6.38±0.11 ^{Ec}	6.47±0.14 ^{Db}	8.05±0.04 ^{Ba}	8.40±0.07 ^{Ac}	7.94±0.21 ^{Cc}
	30	DWK	6.56±0.08 ^{Db}	7.65±0.08 ^{Ba}	8.08±0.10 ^{Aa}	7.65±0.10 ^{Bb}	7.37±0.07 ^{Cb}
		DC	6.67±0.09 ^{Ea}	7.47±0.16 ^{Db}	7.93±0.08 ^{Bb}	8.19±0.09 ^{Aa}	7.56±0.15 ^{Ca}
		SDB	6.68±0.01 ^{Da}	7.06±0.03 ^{Cc}	7.56±0.17 ^{Ac}	7.34±0.07 ^{Bc}	6.43±0.08 ^{Ec}
	40	DWK	6.56±0.10 ^{Ab}	5.56±0.08 ^{Bb}	4.49±0.14 ^{Da}	4.48±0.15 ^{Db}	4.99±0.24 ^{Ca}
		DC	6.67±0.08 ^{Aa}	5.74±0.06 ^{Ba}	4.48±0.16 ^{Da}	4.56±0.03 ^{Ca}	4.42±0.05 ^{Db}
		SDB	6.38±0.11 ^{Ac}	5.59±0.02 ^{Bb}	4.43±0.10 ^{Ca}	4.04±0.07 ^{Ec}	4.26±0.10 ^{Dc}

¹⁾ DWK: *Glycine max* L. Daewonkong, DC: L. Daechan, SDB: L. Saedanback.

²⁾ Any means in the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

³⁾ Any means in the same row followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

9.06~10.07 log CFU/g으로 증가하거나 감소하였다. 곰팡이수는 6.38~8.79 log CFU/g 범위로 발효기간이 증가할수록 증가하였다. 이상의 결과로 메주 제조 시 발효조건은 온도 20°C~30°C에서 7일까지 발효한 것이 적당할 것으로 보인다. 따라서, 복합균주로 접종하여 메주를 제조한다면 미생물학적으로 안정하고 표준화된 장류제품 생산이 가능 할 것이다.

감사의 글

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

References

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. rev 2, Ch. 32. p.7-10. Association of Official Analytical Communities
- 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 MJ, Shim JM, Lee JY, Lee KW, Yao Z, Liu X, Kim JH. 2016. Properties of *Meju* fermented with multiple starters. *Microbiol Biotechnol Lett* 44:109-116
- Choi KS, Lee HJ, Kwon DJ. 2009. Physicochemical and microbiological properties of Korean traditional *Meju*. *Korean J Food Preserv* 16:217-222
- Choi UK, Kim MH, Lee NH, Jeong YS, Hwang YH. 2007. Changes in quality characteristics of *Meju* made with germinated soybean during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 39:304-308
- Difco Laboratories. 1984. Difco Manual. 19th ed. p.679(PCA), 689(PDA). Difco Laboratories
- Gholamhoseini M, Ebrahimian E, Habibzadeh F, Ataei R, Dezfulizadeh MS. 2018. Interactions of shading conditions and irrigation regimes on photosynthetic traits and seed yield of soybean (*Glycine max* L.). *Legume Res* 41:230-238
- Hong SB, Kim DH, Kim SH, Bang N, Kwon SW. 2013. Identification of black *Aspergillus* strains isolated from *Meju*.

- Korean J Mycol* 41:132-135
- Jeon JH, Lee SM, Cho RK. 2017. Feasibility of near-infrared spectroscopic observation for traditional fermented soybean production. *Korean J Food Preserv* 24:145-152
- Jung JY, Lee SH, Jeon CO. 2014. Microbial community dynamics during fermentation of doenjang-meju, traditional Korean fermented soybean. *Int J Food Microbiol* 185:112-120
- 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 HT, Ko JM, Baek IY, Jeon MK, Han WY, Park KY, Lee BW, Lee YH, Jung CS, Oh KW, Ha TJ, Moon JK, Yun HT, Lee JH, Choi JK, Jung JH, Lee SS, Jang YJ, Son CK, Kang DS. 2014. Soybean cultivar for tofu, 'Saedanbaek' with disease resistance and high protein content. *Korean J Breed Sci* 46:295-301
- Kim MY, Kim M, Hwang JH, Kim SH, Jeong YJ. 2017. Comparison of quality characteristics of *Doenjang* reduced of sodium content. *Korean J Food Preserv* 24:771-777
- Kim YS, Yun SH, Jeong DY, Hahn KS, Uhm TB. 2010. Isolation of *Bacillus licheniformis* producing antimicrobial agents against *Bacillus cereus* and its properties. *Korean J Microbiol* 46:270-277
- Lee GR, Ko YJ, Kim EJ, Kim IH, Shim KH, Kim YG, Ryu CH. 2013. Quality characteristic of wheat *Doenjang* according to mixing ratio of *Meju*. *Korean J Food Preserv* 20:191-198
- 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 its potential 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
- Li Z, Rui J, Li X, Li J, Dong L, Huang Q, Huang C, Wang Z, Lu Li, Xuan P, Tang Y, Chen F. 2017. Bacterial community succession and metabolite changes during Dou-banjiang-Meju fermentation, a Chinese traditional fermented broad bean (*Vicia faba* L.) paste. *Food Chem* 218:534-542
- Medic J, Atkinson, Hurburgh CR. 2014. Current knowledge in soybean composition. *J Am Oil Chem Soc* 91:363-384
- Shin DH. 2008. Globalization of Korean fermented soybean products. *Food Ind Nutr* 11:19-24
- Shin DS, Choi ID, Lee SK, Park JY, Kim NG, Park CH, Choi HS. 2019. Properties of amino acid and volatile flavor compounds of fermented soybean products by soybean cultivar. *Korean J Food Nutr* 32:434-441
- Shin DS, Han SI, Choi ID, Lee SK, Park JY, Kim NG, Choi HS. 2018. Physicochemical characteristics and microbiological distribution of Korean traditional *Meju* of various region. *Korean J Food Nutr* 31:712-719
- Shukla S, Lee JS, Bajpai VK, Nile SH, Huh YS, Han YK, Kim M. 2018. Detection of biogenic amines and microbial safety assessment of novel *Meju* fermented with addition of *Nelumbo nucifera*, *Ginkgo biloba*, and *Allium stivum*. *Food Chem Toxicol* 119:231-236
- Von W. 1993. Worthington Enzyme Manual: Enzymes and Related Biochemicals. pp.36-44, 349-340. Worthington Biochemical
- Woo KS, Lee JH, Lee BW, Lee YY, Lee BK, Kim HJ. 2018. Effect of germination and roasting treatment on the quality characteristics and antioxidant properties of black soybean flours. *Food Eng Prog* 22:75-84
- Xie M, Wu J, An F, Yue X, Tao D, Wu R, Lee Y. 2019. An integrated metagenomic/metaproteomic investigation of microbiota in *Dajiang-Meju*, a traditional fermented soybean product in Northeast China. *Food Res Int* 115:414-424
- Yoo JY, Kim HG. 1998. Characteristics of traditional mejus of nation-wide collection. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:259-267
- Yun HJ, Lee YJ, Yeo SH, Choi HS, Park HY, Park HD, Baek SY. 2012. The isolation and culture characterization of a lipolytic enzyme producing strain from *Meju*. *Korean J Microbiol Biotechnol* 40:98-103
- Zheng YF, Jeong JK, Choi HS, Park KY. 2011. Increased quality characteristics and physiological effects of *Chunggukjang* fermented with *Bacillus subtilis*-SKm. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:1694-1699