

3단 발효에 의한 메주 제조방법

김익조 · 이정옥 · 박미화 · 손동화¹ · 하영래 · 류충호*

경상대학교 응용생명과학부, ¹한국식품개발원

Preparation Method of *meju* by Three Step Fermentation

Ig-Jo Kim, Jeong-Ok Lee, Mi-Hwa Park, Dong-Hwa Shon¹,
Yeong-Lae Ha and Chung-Ho Ryu*

Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

¹Korea Food Research Institute

This study was investigated for the preparation method of *meju* by three step fermentation. The steamed soybeans were fermented with nisin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFO12007 to inhibit the growth of odor-producing *Bacilli* and promote of normal fermentation of *meju*. The lactic-fermented soybeans were further fermented with *Aspergillus oryzae* and *Bacillus subtilis*. The produced *meju* by this method showed 54% moisture content and pH 7.0, respectively. The three step fermented *meju* was soaked in 20% (w/v) brine at 25°C for 90 days. After 30 days, the contents of total free amino acids revealed 4,015 mg% which were higher 3~5 times than controls. Among the detected free amino acids, the contents of glutamic acid and leucine showed 925 mg% and 380 mg%, respectively. Therefore, the new method of producing *meju* would be an excellent alternative to improve the quality of soybean fermented food, such as *doenjang* and *kanjang*.

Keywords: *meju*, nisin, three step fermentation

서 론

최근 식물성 콩 단백질의 건강증진 효과 등에 관한 기능성 연구가 활발히 진행되고 있고 서구인들조차 콩의 유용성에 상당한 관심을 집중하고 있는 실정이다. 자연계의 콩 단백질의 분해와 동시에 효소를 축적하여 생성된 메주를 이용하는 전통발효식품인 장류에는 간장, 된장, 찜장 등이 있다⁽¹⁾. 장류는 옛부터 전통적 방법에 의하여 각 가정에서 제조하여 왔으나, 국민소득증가, 생활수준의 향상에 따른 주거양식의 변화 및 가사시간 단축을 목적으로 한 생활의 간소화 등으로 품질과 제조방법 개선에 대한 연구가 활발히 이루어져 왔다^(2,3). 또한 전통적 방법으로 발효시킨 메주를 사용하여 제조된 장류는 조리 시 발생하는 심한 암모니아취로 인해 외국인뿐만 아니라 우리 나라의 일부 기성세대도 기피하고 있는 실정이다. 메주 제조 시 발생하는 암모니아취는 고초균에 의한 생리대사 결과 콩의 질소성분이 분해되어 생성된 휘발성 가스로서 부패

취에 가깝다⁽⁴⁾. 또한 메주 제조 시 공기 중 잡균이 번식하면 위생상의 문제(독소를 생성하는 진균류) 뿐만 아니라 protease, amylase의 효소역가 감소 등 품질저하의 요인이 되므로 이러한 단점을 개선하기 위해 김 등⁽⁵⁾은 제조된 메주에 감마선을 조사하여 잡균을 사멸시킴으로서 저장기간을 연장시킬 수 있다고 보고하였고, 이 등⁽⁶⁾은 자연발효에 의존하지 않고 증자시킨 콩에 국균을 접종하고 걸보리와 옥수수를 첨가하여 재래식 메주 제조방법의 개선을 시도한 바 있다.

본 연구에서는 증자 콩에 증식하여 부패취를 유발하는 오염균인 야생 고초균의 생육을 억제하고 정상발효를 유도하기 위해 젖산, 과산화수소 이외에도 항균성 peptide인 bacteriocin을 생성하는 유산균으로 1단 발효시킨 후 장류용 황국균을 접종하여 2단 발효시켜 다시 고초균으로 3단 발효시킴으로써 황국균과 고초균의 protease, peptidase를 효과적으로 사용하여 아미노산 생성량이 많고 독특한 향과 맛이 어우러진 고품질의 기호성 높은 메주를 제조하였다.

재료 및 방법

사용균주

Bacteriocin생산 유산균주는 IFO에서 분양받은 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFO12007과 경상대학교 식품공학과에 보관중인 *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC7962, ATCC11454를 사

*Corresponding author : Chung-Ho Ryu, Division of Applied Chemistry & Food Science and Technology, Gyeongsang National University, 900 Gazwadong, Jinju, Gyeongsangnam-do 660-701, Korea
Tel: 82-55-751-5482
Fax: 82-55-753-4630
E-mail: ryu@nongae.gsnu.ac.kr

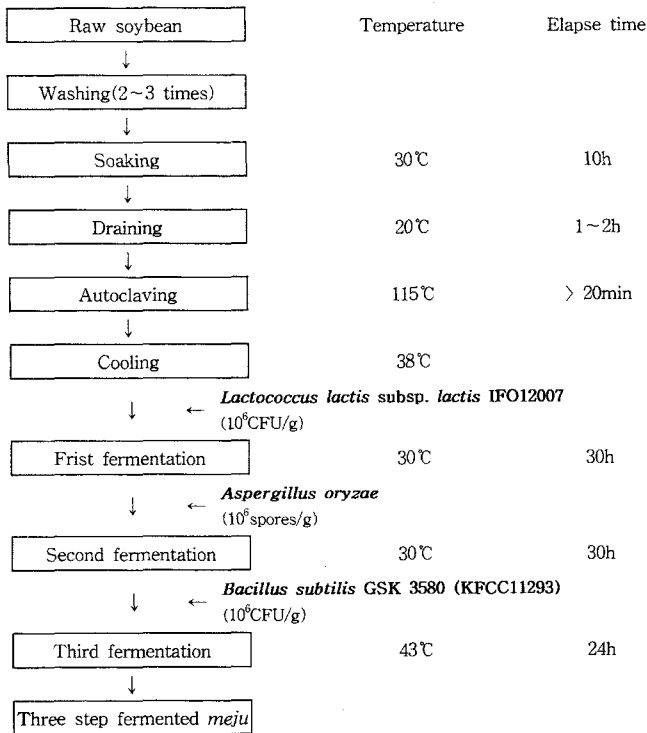


Fig. 1. Flow diagram for three step fermented meju production.

용하였으며 보존 및 계대배양은 M17-G(M17에 1% glucose 첨가: Scharlau, European Union)배지를 사용하여 30℃에서 배양하였다. 실험된 모든 유산균은 증자대두에서 잘 생육하였으나 생육 중의 pH 변화가 완만한 *L. lactis* subsp. *lactis* IFO12007을 이하 실험에 사용하였다⁽⁷⁾. *Aspergillus oryzae*는 충무발효화학연구소에서 장류용 황국균 포자를 구입하여 사용하였으며 고초균은 본 연구실에서 분리한 단백질분해능이 뛰어난 균주인 *Bacillus subtilis* GSK 3580(KFCC11293)를

37℃에서 TSA(BBL, USA)배지에 계대배양하여 사용하였다.

콩알메주의 제조

콩알 메주의 제조방법은 Fig. 1에 간략히 도식화하였다. 우선 콩을 수돗물로 2회 세척한 후 콩의 무게가 2.2배가 될 때까지 수침하여 1시간 이상 물빼기한 후 115℃에서 가압증자하여 충분히 냉각된 콩에 전배양한 bacteriocin생산 유산균(*L. lactis* subsp. *lactis* IFO12007)을 대두 1g당 10⁶ CFU되도록 접종하여 30℃에서 24시간 동안 유산발효(1단 발효)하였다. 1단 발효시킨 콩에 황국균(*Asp. oryzae*)을 10⁶ spore/대두g 되게 접종하고 콩의 표면에 균사가 완전히 덮일 때까지 30℃에서 국균발효(2단 발효)하였다. 2단 발효 종료 후 고초균(*B. subtilis* GSK 3580)을 대두 1g당 10⁶ CFU되게 접종한 후 43℃에서 배양(3단 발효)하였다. 증자대두에 고초균과 황국균으로 각각 발효시킨 메주를 제조하여 대조구로서 사용하였다.

pH와 수분

메주 발효과정 중 pH는 시료 5g을 경시적으로 채취하여 증류수 45 mL로 희석하여 pH meter(420A, Orion Co., USA)로 측정하였고 수분 함량은 적외선 수분측정기(FD-600, Kett, Japan)로 측정하였다.

유리 아미노산

건조시킨 메주와 20%(w/v) 염수를 1:3의 비율로 혼합하여 25℃에서 90일간 유리아미노산을 용출시켰다. 용출한 액 50 mL에 에틸 알콜을 150 mL 가하여 균질화한 후 여과하였다. 이 여액을 감압농축하여 diethyl ether로 탈지시키고 3차 증류수를 첨가하여 50 mL로 정용하여 엑스분으로 하였다. 유리 아미노산은 엑스분을 10 mL 취하여 감압농축하고 lithium citrate buffer(pH 2.2)로써 10 mL로 정용하여 아미노산 자동 분석기(amino acid analyzer S433, Sykam, Germany)로 분석 정량하였다.

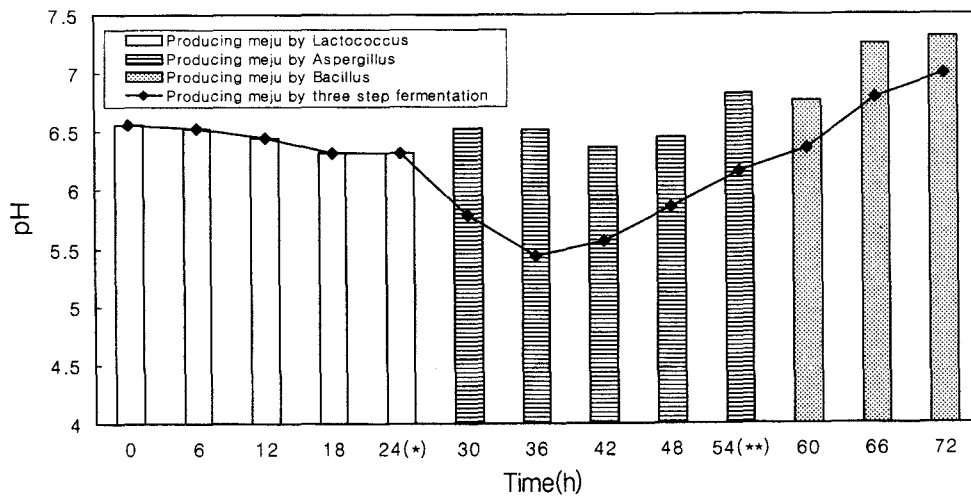


Fig. 2. Change of pH in three step meju fermentation.

*: *Aspergillus oryzae* was inoculated at one step fermented soybean.

** : *Bacillus subtilis* was inoculated at two step fermented soybean.

Table 1. Free amino acid contents of different type meju in soaking at 25°C for 30days (mg%)

	<i>Aspergillus oryzae</i> ¹⁾	<i>Bacillus subtilis</i> ²⁾	Three step fermented meju
Aspartic acid	45	5	255
Threonine	55	10	70
Serine	50	10	140
Glutamic acid	250	155	925
Proline	60	20	285
Glycine	15	20	170
Alanine	75	75	335
Valine	60	60	325
Methionine	35	35	90
Isoleucine	55	55	300
Leucine	155	70	380
Tyrosine	90	70	35
Phenylalanine	105	95	250
Lysine	105	50	320
Histidine	40	10	135
Arginine	275	5	0
Total	1,470	745	4,015

¹⁾*Asp. oryzae* control: The steamed soybean were fermented by *Asp. oryzae*, only.

²⁾*B. subtilis* control: The steamed soybean were fermented by *B. subtilis*, only.

결과 및 고찰

pH와 수분 측정

기존의 메주 발효에 관여하는 황국균과 고초균만으로 단 일발효시켜 제조한 대조구와 이들균과 유산균을 병용하여 3단 발효법으로 제조한 메주의 경시적인 pH 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 발효 초기에 유산균이 생육했음에도 불구하고 발효 24시간 후의 pH는 6.32였다. 2단 발효에 황국균이 생육하면서 pH가 점차 감소하여 2단 발효 12시간(발효 36시간) 후 최소값인 pH 5.44를 나타내다가 점차 증가하였다. 2단 발효가 끝났을 때의 pH는 유산 발효 즉 1단 발효의 종료시보다 0.2정도 감소하였으나 고초균을 접종하여 3단 발효시키면서 pH가 차츰 증가하여 pH 7.0정도를 유지하였다. 유와 김⁶⁾은 전국에서 123종의 전통메주를 수집하여 pH는 조사한 결과 내부가 7.0±0.8, 외부가 6.9±0.5라고 보고한 바 있으나 김 등⁹⁾은 *Bacillus*속 세균 4종을 이용한 콩알메주의 pH는 발효초기 6.36~6.57에서 상승하여 발효후기에 7.98~8.68이라고 본 실험 결과와는 상이한 결과를 보고하였는데, 이는 발효균, 발효 조건 등 다양한 차이에 기인된 것이라 사료된다. 2단 발효과정에서 대조구인 황국균으로 발효시킨 메주보다 약간 낮은 pH를 보이지만 3단 발효과정 중 pH가 상승하여 발효 종료 후의 메주 pH는 대조구와 비교하여 큰 차이가 없었다. 수분 함량은 2단 발효 초기에는 54.7%에서 후기에는 53.3%로 약간 감소하였고 3단 발효 종료 후에는 54.0%까지 다시 증가하는데 이 결과는 *Bacillus*속으로 발효시키면 표면의 점성물질이 수분증발을 완화시키기 때문으로 추측된다.

유리 아미노산

메주를 20%(w/v) 염수에 담금한 후 25°C에서 30일간 저장하여 용출된 유리아미노산의 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 총 유리아미노산의 함량은 3단 발효를 행한 구가 4,015 mg%로 고초균 메주구 745 mg%와 황국균 메주구 1,470 mg%에 비해 각각 5.4, 2.7배로 매우 높게 나타났다. 3단 발효법으로 제조한 메주에서 유리된 감칠 맛을 내는 aspartic acid의 함량은 225 mg%로 황국균 메주구에 비해서는 5.7배, 고초균 메주구에 비해서는 약 51배 높았으며 glutamic acid 역시 황국균 메주구보다는 3.7배, 고초균 메주구보다는 약 6배 많게 검출되었다. 또한 단맛 성분인 alanine, lysine, glycine도 다른 구에 비해 월등히 높은 함량을 나타내어 3단 발효 메주의 우수성이 입증되었다.

박 등¹⁰⁾이 벧짚에서 분리 동정한 *B. subtilis* S-16, *B. subtilis* K-27의 두 균주를 증자대두에 접종하여 37°C에서 72시간 동안 발효시킨 청국장 메주 중에서 glutamic acid, leucine, lysine 및 phenylalanine 등의 함량이 높았고, 서 등¹¹⁾은 *B. subtilis*를 이용하여 제조한 청국장 메주 중에는 glutamic acid, leucine, isoleucine 및 alanine의 함량이 특히 많았다고 보고하였다. 또 김 등¹²⁾은 *B. subtilis*를 42°C에서 24시간 동안 발효시켜 제조한 청국장 메주 중에는 glutamic acid와 phenylalanine의 함량이 많다고 보고한 바 있다.

연구자에 따라서 다소 상이한 결과가 보고되었는데 이는 메주 발효 시 가장 중요한 요인인 발효균이 상이하기 때문에 발생된 결과로 추정되며, 기존의 보고와 본 실험의 결과를 비교하여 볼 때 glutamic acid는 공통적으로 많은 함량을 나타내었다.

또한 용출시간을 90일로 연장시킴에 따라 총 유리아미노산 함량은 황국균 대조구, 고초균 대조구, 3단 발효구에서 각각 4,040 mg%, 2,668 mg%, 4,875 mg%로 나타났고 3단 메주구를 30일간 용출시켰을 때와 대조구 메주를 90일간 용출시켰을 때의 총 유리아미노산 함량을 비교하면 3단 발효구의 총 유리아미노산 함량에 미치지 못하거나 유사한 정도로 나타났다(결과 생략). 이로 미루어 3단 발효 메주구를 이용하여 된장, 간장 등의 장류를 제조하면 용출되는 유리아미노산의 함량을 비교할 때 발효기간을 1/3로 단축시킬 수 있는 이 점이 있어 산업적인 이용가치가 높은 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 증자 콩에 증식하여 부패취를 유발하는 오염균인 야생고초균의 생육을 억제하고 정상발효를 유도하기 위해 젖산, 과산화수소 등과 항균성 물질인 bacteriocin을 생성하는 유산균으로 1단 발효를 실시한 후 장류용 황국균을 접종하여 2단 발효 후 다시 고초균으로 3단 발효시켜 황국균과 고초균의 protease, peptidase를 효과적으로 사용함으로써 단백질 분해율이 높아 아미노산 생성량이 많은 기호성 높은 고품질의 메주를 제조하였다.

3단 발효법으로 제조된 메주의 수분함량과 pH를 측정된 결과 각각 54.0 %와 pH 7.0였고 제조된 메주를 30일간 20% 염수로 용출하여 총 유리 아미노산함량을 비교한 결과 3단

발효법으로 제조된 메주구가 대조구에 비해 약 3~5배 높게 나타났다. 특히 장류의 맛을 좌우하는 감칠 맛 성분인 glutamic acid와 aspartic acid의 함량은 대조구에 비해 매우 높아 메주를 원료로 제조하는 장류의 품질을 향상시킬 수 있으며 유리아미노산이 용출되는 시간이 대조구보다 짧아 장류 제조시 발효기간을 1/3정도로 단축시킬 수 있다.

문 헌

1. Lee, C.Y. Korean soy seasonings and culture. Food Sci. Ind. 22: 3-7 (1989)
2. Park, C.K. and Hwang, I.K. Consumption pattern of Korean traditional soy sauce and consumer sensory evaluation. J. Korean Agric. Chem. Soc. 11: 521-526 (1995)
3. Kim, J.K. and Kim, C.S. The taste components of ordinary Korean soy sauce. J. Korean Agric. Chem. Soc. 23: 89-105 (1980)
4. Ji, W.D., Lee, E.J. and Kim, J.K. Volatile flavor compounds of soybean pastes manufactured with traditional *meju* and improved *meju*. J. Korean Agric. Chem. Soc. 35: 248-253 (1992)
5. Kim, D.H., Lee, K.H., Yook, H.S., Kim, J.H., Shin, M.G. and Byun, M.W. Quality characteristics of gamma irradiated grain shape improved *meju*. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 640-645 (2000)
6. Lee, J.M., Kim, Y.S., Hong, Y.M. and Yu, J.H. Studies on the substitution of raw material for soy sauce (III). Korean J. Food Sci. Technol. 4: 182-186 (1972)
7. Lee, J.O. and Ryu, C.H. Preparation of low salt *doenjang* using by nisin-producing lactic acid bacteria. J. Korean Soc. Food Sci. Nur. 31: 75-80 (2002)
8. Yoo, J.Y. and Kim, H.G. Characteristics of traditional *meju* of nation-wide collection. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 259-267 (1998)
9. Kim, D.H., Lim, D.W., Bai, S. and Chun, S.B. Fermentation characteristics of whole soybean *meju* model system inoculated with 4 *Bacillus* strains. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1006-1015 (1997)
10. Park, K.I. Studies on the N-compounds during *chungkook-jang meju* fermentation (I). J. Korean Agric. Chem. Soc. 15: 93-109 (1972)
11. Suh, J.S., Lee, S.G. and Ryu, M.K. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkook-jang* processing (II). Korean J. Food Sci. Technol. 14: 309-314 (1982)
12. Kim, K.J., Ryu, M.K. and Kim, S.S. *chungkook-jang koji* fermentation with rice straw. Korean J. Food Sci. Technol. 14: 301-308 (1982)

(2002년 6월 7일 접수)