

Quality Characteristics of *Doenjang Meju* Fermented with *Aspergillus* Species and *Bacillus subtilis* during Fermentation

Jong-Wook Kim¹, Hong-Soo Doo¹, Tae-Ho Kwon¹, Yong-Suk Kim² and Dong-Hwa Shin^{3*}

¹Jeonju Biomaterials Institute, Jeonju 561-360, Korea

²Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

³Dong-Hwa Shin Food Institute, Jeonju 561-825, Korea

*Aspergillus*속과 *Bacillus subtilis*를 이용한 된장메주 발효 중 품질 특성

김종욱¹ · 두홍수¹ · 권태호¹ · 김용석² · 신동화^{3*}

¹(재)전주생물소재연구소, ²전북대학교 식품공학과, ³신동화 식품연구소

Abstract

To industrialize *meju*, four kinds of *meju* (Korean-style soybean *koji*) were made with humidity-controlled fermentation for 12 days at 28°C after they were inoculated with selected strains such as *Aspergillus oryzae* (AO *meju*), *Aspergillus sojae* (AS *meju*), combined *Aspergillus sojae* and *Bacillus subtilis* (ASBS *meju*), and combined *Aspergillus oryzae* and *Bacillus subtilis* (AOBS *meju*) as starter microorganisms. The changes in the quality characteristics in the four kinds of *meju* were investigated during fermentation. Their enzyme activities were compared with those of the traditional *meju* that is made in Sunchang Folk Village according to the traditional method. In the *meju* that were inoculated with selective strains, the aerobic bacteria counts and mold counts exceeded 8 log cfu/g and 6 log cfu/g respectively, which were the highest fermentation values after 2 days. The aerobic bacteria counts were maintained from 2-day to the 12-day fermentation. The mold counts tended to decreased gradually after the 2-day fermentation. The amino-type nitrogen contents reached 430.5-577.5 mg%, which were the highest values after 2-day fermentation. The neutral protease activities of these *mejus* had the highest levels in the following order: traditional *meju*, 1,258.0±38.8; AS *meju*, 1,238.3±38.6; AO *meju*, 1,204.1±24.1; ASBS *meju*, 1,040.6±10.6; and AOBS *meju*, 1,033.5±11.2 unit/g. The acidic protease activities of these *meju* had the highest levels in the following order: AO *meju*, 1,030.1±19.1, traditional *meju*, 1,007.7±30.5; AS *meju*, 990.9±25.0; AOBS *meju*, 910.9±15.3; and ASBS *meju*, 888.2±15.7 unit/g.

Key words : *meju*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus. sojae*, *Bacillus subtilis*, Protease

서론

전통된장은 예로부터 계승되어 온 우리나라의 대표적인 발효식품으로서, 곡류를 주식으로 하는 우리민족에게 곡류 단백질에서 부족 되기 쉬운 필수아미노산 및 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양적 우수성을 지닌다(1). 또한, 전통된장은 항암, 항돌연변이, 면역증강, 항고혈압, 항산화, 혈전분해 등 여러 기능성이 있다고 알려져 있다(2-7).

그러나, 전통된장의 우수한 기능성에도 불구하고, 전통

된장에 사용되는 전통메주는 수많은 미생물이 자연적으로 착생하게 되어 메주 발효과정에서 이들 미생물의 대사 작용에 의해 메주의 품질특성이 좌우된다. 따라서 제조장소 및 제조시기에 따라 전통메주의 품질이 균일하지 못한 문제점이 지적되고 있다(8).

메주에 관한 연구로는 전통메주의 품질특성에 관한 연구(9-12), 전통메주 발효 중 성분변화에 관한 연구(13,14), 전통메주 발효 미생물에 관한 연구(15-19), 전통메주 유래균의 효소특성에 관한 연구(20,21), 메주 제조공정에 관한 연구(22-28), 메주원료에 따른 품질특성에 관한 연구(29-32), 종균을 이용한 메주발효 특성에 관한 연구(33-38) 등이 있다.

재래식 전통메주는 대두를 수세, 침지(실온, 12시간), 증자(4시간), 분쇄(절구나 맷돌이용)후 주로, 벽돌형태(8 x 12

*Corresponding author. E-mail : dhshin@jbnu.ac.kr
Phone : 82-63-241-9361, Fax : 82-63-650-5429

x 20 cm)로 메주를 성형하여 1차 발효(겉말림 과정 : 안방에 벚짚을 깔고 그 위에서 일주일 정도 발효), 2차 발효(자연 발효 과정 : 메주덩어리를 벚짚으로 묶어 서까래에 매달아 30일 정도 말리면서 자연발효)시켜 제조한다. 이 때, 콩 자체, 벚짚, 공기 중의 곰팡이, 효모, 세균 등의 미생물이 자연적으로 접종되어 발육하게 된다(28). 전통메주의 표면에는 유용 곰팡이인 *Mucor*속, *Rhizopus*속 및 *Aspergillus*속이 주류를 이루고 메주내부는 *Bacillus*속 세균이 주도적인 발효를 행하여 전통 장류의 독특한 맛과 향을 나타내는 것으로 알려져 있다(11). 자연균의 서식을 위하여 장시일 동안 매달아 둘 때는 메주의 건조를 막기 위해 메주의 형태를 크게 하여 왔으나, 저 농도의 산소가 국균의 효소 생성에 제한요인으로 작용한다는 연구 결과와 관련하여, 유용균주를 접종하여 온도와 습도를 조절할 수 있는 경우에는 메주의 형태를 가급적 적게 하고 표면적을 넓게 하여 산소공급을 원활히 할 필요가 있다(33,39).

한편, 개량식 된장에 사용되는 코오지는 크게 전분질 코오지와 콩 코오지로 대별된다. 전분질 코오지를 제조하기 위해 주로 사용되는 종균은 *A. oryzae*, *A. sojae* 등이며, 일부 공장에서는 제품에 전통된장의 풍미를 주기 위해 *B. subtilis*(생육최적온도: 28~40°C)를 증자대두에 접종, 배양한 콩 코오지를 전분질 코오지와 병용하여 된장을 제조하고 있다(28,40). 국균 포자의 최적 발아조건은 30~35°C 상대습도 85~97%이고, 증식적온은 30~35°C로 알려져 있다. 국균 효소 생산의 최적온도는 효소의 종류에 따라 다른데 protease는 25~30°C, amylase는 30~35°C로서, 이 보다 고온에서는 산 생성균이 증식하여 코오지의 품질 열화를 초래할 수 있다(41).

본 연구에서는 메주의 산업화를 위해 개선된 메주 형태에 종균으로서는 *A. oryzae*와 *A. sojae* 그리고 *B. subtilis*를 병용하고, 습도조절과 함께 28°C에서 12일간 발효하면서 미생물수, 효소 활성도, pH, 수분, 수용성 질소와 아미노태 질소 함량 등과 같은 메주의 품질특성 변화를 조사하고, 이들 종균별로 제조한 메주와 순창 고추장 민속마을(문옥레가)에서 입수한 된장용 전통메주의 효소 활성도를 비교하였다.

재료 및 방법

재료 및 종균

메주콩(태광)은 2006년 순창산, 중국 제조용 멥쌀(일미)은 2006년 부안산을 사용하였다. 전통메주는 순창 고추장 민속마을(문옥레가)에서 제조한 된장용 전통 메주를 현지에서 2007년 1월 20일경 입수하여 사용하였다. 중국제조는 하경발효연구소에서 분양받은 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae*를 사용하여 쌀 중국을 제조하여 사용하였고, *Bacillus*

*subtilis*는 개량식 된장 제조업체에서 입수하여 사용하였다.

메주 제조

원료 대두(태광)를 실온에서 15시간 침지시킨 후 소쿠리에 담아 1시간 동안 물을 빼고 Pilot NK증자기를 이용하여 121°C에서 40분간 증자하고, 30°C로 방냉 후 16 x 11 x 1.5 cm의 직육면체로 표면적이 넓은 메주를 성형하였다. 처리구별로 메주성형 전에 *A. oryzae* 중국 포자현탁액, *A. sojae* 중국 포자현탁액, 그리고 *B. subtilis* 배양액을 분무 접종한 후 메주를 성형하고, 성형된 메주 표면에 다시 *A. oryzae*와 *A. sojae* 중국의 포자 현탁액을 처리구별로 분무 접종하였다. 접종비율은 증자대두 무게의 1%로 *A. oryzae*와 *A. sojae*는 증자방냉대두에 0.5%, 메주성형 후 메주표면에 0.5%를 각각 분무 접종하였고, *B. subtilis*는 증자방냉대두에 1%를 접종하였다. *A. oryzae* 포자현탁액, *A. sojae* 포자현탁액, 그리고 *B. subtilis* 배양액의 생균수는 각각 7.2, 7.7, 8.4 log CFU/mL이었다. 이렇게 하여 AO메주(*A. oryzae*를 접종한 메주), AOB메주(*A. oryzae*와 *B. subtilis*를 접종한 메주), AS메주(*A. sojae*를 접종한 메주) ASBS메주(*A. sojae*와 *B. subtilis*를 접종한 메주)를 만들어 28°C에서 12일간 발효시켰다. 상대습도 85%는 *A. oryzae*와 *A. sojae*의 발아와 균사의 생육이 종료되고 다시 포자가 형성되어 메주표면을 덮을 때인 접종 배양 48시간째 까지 유지하고 이후에는 가습기가동을 중지하였다.

미생물수 측정

미생물수는 메주 시료 10 g을 멸균 생리식염수를 이용하여 10진 희석법 의해 10단계로 희석한 다음 희석액 1 mL를 Petrifilm™ (3M, St Paul, MN, USA)에 접종하여 측정하였다. 세균수(aerobic plate counts)의 측정은 Petrifilm™ aerobic count (3M, St Paul, MN, USA)를 이용하여 37°C에서 24~48시간, yeast and mold count는 Petrifilm™ yeast and mold count (3M, St Paul, MN, USA)를 이용하여 30°C에서 24~48시간 배양하여 계수하였다(10,42).

효소활성 측정

메주 시료 10 g에 증류수를 가하여 200 mL로 정용한 다음 30°C에서 4시간 진탕 추출하여 4°C에서 2시간 방치한 다음 12,000×g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상정액을 조효소액으로 사용하였다(43). α-Amylase 활성은 1% 전분 용액을 조효소액으로 40°C에서 30분간 반응시킨 후 요오드 용액(0.05% Iodine, 0.5% KI)에 의한 반응 전후의 흡광도 차이로 측정하였으며, 시료 1 g이 1분 동안 대조구의 흡광도 값을 1% 감소시키는 값을 1 단위로 하였다(44). β-Amylase 활성은 DNS법에 의하여 측정하였으며, 시료 1 g이 1분 동안 생성한 maltose 1 mg을 1 단위로 하였다(45). protease 활성은 산성(pH 3.0)과 중성(pH 7.0)으로 나누어 각각의

조건에서 조효소액을 0.6% casein 완충용액에 30분간 반응시킨 후 생성되는 tyrosine의 μg 수로 나타내었다(46).

pH, 적정산도, 수분함량 분석

pH는 메주시료 10 g에 증류수 40 mL를 가하여 균질화한 후 pH meter (Orion model SA520, Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA)를 이용하여 측정하였고(47), 적정산도는 메주시료 10 g에 증류수 40 mL를 가하여 균질화한 후 0.1 N NaOH을 가하여 pH 8.3이 될 때까지 적정한 후, 적정에 소비되는 0.1 N NaOH 용액의 mL수로 비교하였다(48). 시료의 수분함량은 105°C 상압 가열건조법으로 측정하였다(49).

수용성질소 및 아미노태 질소 분석

수용성 질소는 Sung 등(50)의 방법에 의하여 시료를 10 배 희석하여 진탕 추출하고 여과한 여액을 Micro-Kjeldahl법(49)으로 분석하였다. 아미노태 질소는 Formol 적정법(51)으로 측정하였다. 즉, 시료 5 g을 비커에 취하고 증류수 25 mL를 가하고 1시간 동안 교반하여 충분히 용해한 다음 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 pH 8.4로 하였다. 여기에 20 mL의 중성 formalin을 가하고 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 되도록 중화 적정하였다. 별도로 증류수에 대한 바탕시험을 실시하여 다음 식에 따라 아미노태 질소 함량을 구했다.

아미노태 질소(%) =

$$\frac{(\text{시료 적정량} - \text{대조구 적정량}) \times 1.4 \times \text{농도계수} \times 100}{\text{시료량}(g)}$$

통계처리

SAS-PC프로그램에 의한 분산분석 및 Duncan's 다중검정에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 유의적 차이를 검증하여 표시하였다(52).

결과 및 고찰

미생물수의 변화

종균별 메주의 발효기간 중, 호기성 세균수 변화는 Fig. 1과 같다. 종균별 메주의 발효 초기 균수는 6.48~6.69 log cfu/g 범위로, 발효 2일에 호기성 세균수는 AO메주 8.91±0.03, AOBS 메주 8.71±0.08, AS메주 8.29±0.20, ASBS 메주 8.91±0.02 log cfu/g로 증가한 후 발효 12일 까지 뚜렷한 증가를 보이지 않았다. 종균별로 발효시킨 모든 메주에서 발효 2일에 호기성 세균수는 8 log cfu/g 이상을 나타내었다. 순창지역 된장용 메주 발효 중 호기성 세균수가 발효 초기 1.29×10^7 cfu/g, 발효 20일 2.4×10^8 cfu/g, 발효 60일에

4.07×10^6 cfu/g이라는 Yoo 등(10)의 연구 결과와 비교해 볼 때, 본 실험의 발효 2일 세균수가 8 log cfu/g 이상을 나타내어, 종균접종에 의해 메주 발효기간을 단축할 수 있을 것으로 판단된다.

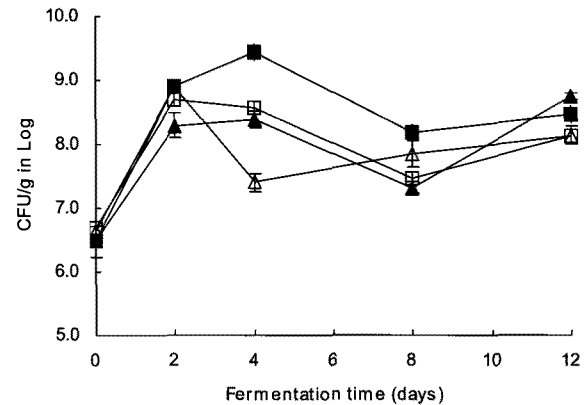


Fig. 1. Changes in aerobic bacteria count of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

■ : AO meju which fermented with *A. oryzae*, □ : AOBS meju which fermented with *A. oryzae* and *B. subtilis*, ▲ : AS meju which fermented with *A. sojae*, △ : ASBS meju which fermented with *A. sojae*, and *B. subtilis*. Error bars represent standard deviation (n=3).

종균별 메주의 발효기간 중, 효모와 곰팡이수 변화는 Fig. 2와 같다. 종균별 메주의 발효 초기 효모와 곰팡이수는 5.0~5.71 log cfu/g 범위로, 발효 2일에 AO메주 6.85±0.03, AOBS메주 6.85±0.12, AS메주 7.40±0.11, ASBS메주 6.04±0.06 log cfu/g로 증가하였다. 발효 2일 이후에 서서히 감소하여 발효 12일에 6.09~6.69 log cfu/g 범위를 나타내, 종균에 관계없이 효모와 곰팡이수의 감소 경향을 보였다. ASBS메주에서 효모와 곰팡이수의 증식속도가 다른 종류의 메주에서 보다 느리게 나타나는 점에 비추어 *B. subtilis*가 *A. sojae*의 생육을 저해하는 것으로 판단된다(41). 한편, 재래식 된장용 전통메주에 있어서 효모와 곰팡이수는 발효 초기 1.23×10^3 cfu/g에서 발효 20일에 6.17×10^5 cfu/g로 증가하여 발효가 끝나는 60일까지 10^5 cfu/g을 유지하였다는 Yoo 등(10)의 결과와 비교해 볼 때, 종균별로 접종하여 발효시킨 메주의 효모와 곰팡이수가 재래식 된장용 전통메주보다 약 1 log cfu/g 정도 높았다.

Amylase 활성의 변화

종균별 메주의 발효 기간 중, α -amylase 활성도 변화는 Fig. 3과 같다. 발효 2일에 α -amylase 활성도는 48.1~50.3 unit/g 범위로 최대치에 도달한 후 감소하여 발효 4일 이후부터는 완만한 감소 경향을 보이며 발효 12일에 38.6~44.2 unit/g 범위를 나타내었다. Yoo 등(10)은 순창 지역의 재래식 된장메주의 α -amylase 활성도가 15~37 unit/g이었고, 전통 고추장용 메주는 α -amylase 활성이 480.3 unit/g, β

-amylase활성이 11.3 unit/g이었다고 보고한 바 있다. 본 실험에 사용된 종균별 메주의 α -amylase 활성도는 Yoo 등(10)의 재래식 전통 된장용 메주와 유사하였으며, 이는 대두에 전분질이 거의 없다는 사실과 연관 지어 생각해 볼 수 있다 (53).

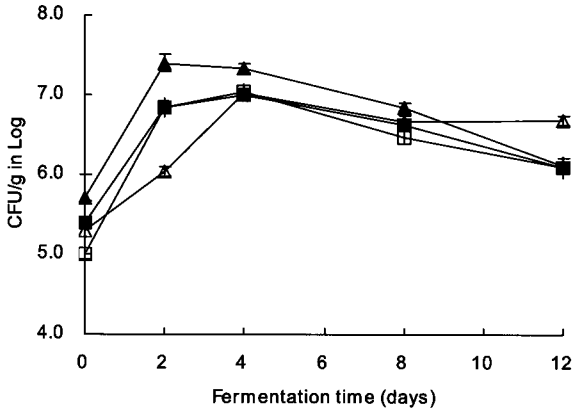


Fig. 2. Changes in yeast and mold count of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

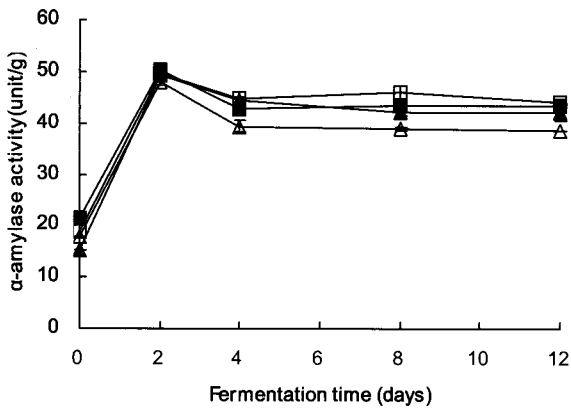


Fig. 3. Changes in α -amylase activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on wet weight.

종균별 메주의 발효기간 중, β -amylase 활성도 변화는 Fig. 4와 같다. 발효초기 0.05~0.17 unit/g 범위로, 발효 4일까지 미약한 증감을 반복하다가 발효 8일에 0.93~1.45 unit/g을 나타내고 12일에 약간 감소하는 경향을 나타내었다. Yoo 등(10)은 전통 된장메주의 β -amylase 활성도는 0~0.55 unit/g으로 미미한 정도라고 보고한 바 있다. 또한, 고추장용 메주(11.3 unit/g)와 비교 시 본 연구의 된장용 메주의 β -amylase활성도 증감은 미미한 수준으로 큰 의미를 갖지 못하는 것으로 판단된다.

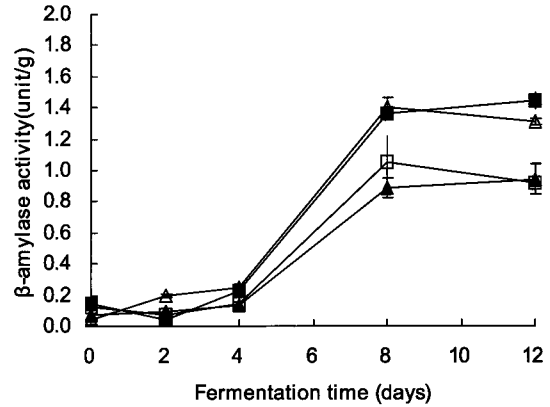


Fig. 4. Changes in β -amylase activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on wet weight.

Protease 활성의 변화

종균별 메주(wet basis)의 발효기간 중, 중성 protease 활성도 변화는 Fig. 5와 같다. 모든 메주에서 중성 protease 활성도는 경시적인 증가 경향을 나타내었다. 발효초기 5.0~6.3 unit/g 범위에서, 발효 2일 396.9~445.0 unit/g, 발효 4일 496.9~590.0 unit/g, 발효 8일 811.3~919.4 unit/g, 발효 12일 815.6~990.0 unit/g로 증가하였다. dry basis로 환산한 종균별 메주의 중성 protease 활성도 변화는 Fig. 6에 나타난 바와 같다. 발효 초기 13.1~16.6 unit/g 범위에서, 발효 2일 865.1~1,060.5 unit/g 범위로 급증, 발효 4일 825.1~1,068.8 unit/g로 정체, 발효 8일 1,080.6~1,296.4 unit/g로 증가, 발효 12일 1,033.5~1,238.3 unit/g 범위로 감소하여 증감을 반복하였다. 메주별로 보면, *B. subtilis*를 혼합 접종하여 발효시킨 AOBS, ASBS메주가 *A. oryzae* 또는 *A. sojae*만을 접종하여 발효시킨 AO, AS메주에 비해 활성도가 낮은 경향을 나타

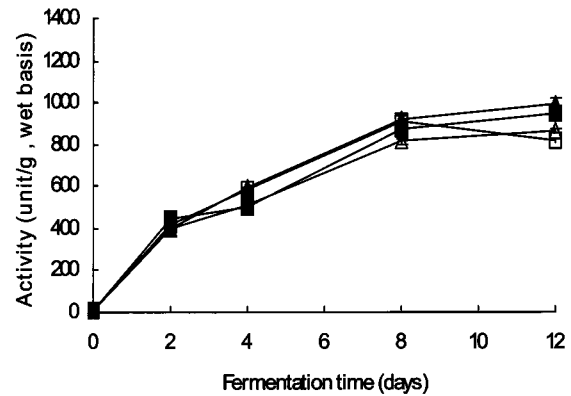


Fig. 5. Changes in neutral protease activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on wet weight.

내었다. 이는 *B. subtilis*가 *A. oryzae* 또는 *A. sojae*의 생육을 억제하기 때문인 것으로 판단된다(41). 발효기간 중 ASBS 메주의 중성 protease 활성도가 다른 메주에 비해 낮은 경향을 나타내었다.

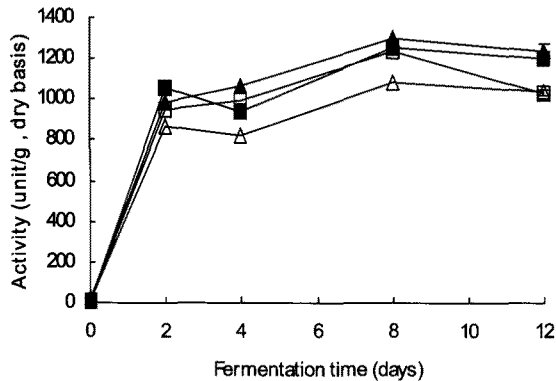


Fig. 6. Changes in neutral protease activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on dry weight.

종균별 메주(wet basis)의 발효기간 중, 산성 protease 활성 변화는 Fig. 7과 같다. 모든 메주에서 산성 protease 활성도는 경시적인 증가 경향을 나타냈다. 발효초기 2.8~3.9 범위에서, 발효 2일 352.8~401.7, 발효 4일 430.6~526.1, 발효 8일 706.1~784.4, 발효 12일에 718.9~811.1 unit/g로 증가하였다. Dry basis로 환산한 산성 protease 활성 변화는 Fig. 8에 나타난 바와 같이 발효 초기 7.4~10.3 unit/g 범위에서, 발효 2일 788.4~957.3 unit/g로 급격히 증가하였고, 발효 4일 이후 증감을 반복하였다. 메주별로 보면, 발효 2일 급증(AO메주 957.3 > AOBS메주 867.6 > AS메주 859.9 > ASBS메주 788.4 unit/g), 발효 4일 감소, 발효 8일 증가, 발효 12일 감소(AO메주 1030.1 > AOBS메주 910.9 > AS메주 990.9 > ASBS메주 888.2 unit/g)로 증감을 반복하였다. 발효기간 중 ASBS메주의 산성 protease 활성도가 다른 메주에 비해 낮은 경향을 나타내었다.

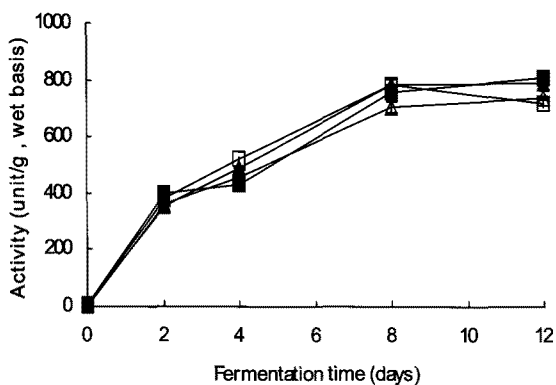


Fig. 7. Changes in acidic protease activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on wet weight.

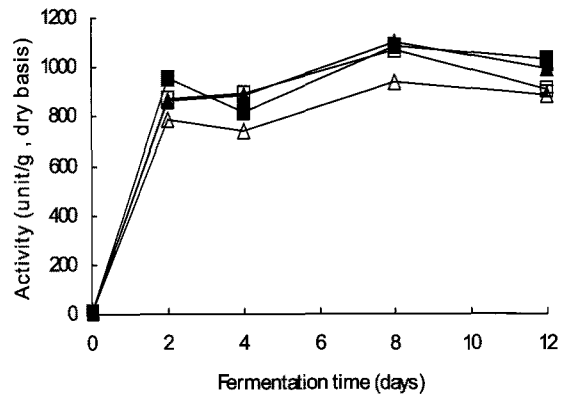


Fig. 8. Changes in acidic protease activity of meju fermented with different starters during fermentation at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3). Basis on dry weight.

Amylase 활성도 비교

종균별로 제조한 메주와 순창 고추장 민속마을(문옥례가)에서 입수한 된장용 전통메주의 효소 활성도를 비교하였다. amylase 활성도는 Fig. 9와 같다. α-Amylase 활성도는 AO메주 46.0±2.5, AOBS메주 45.8±0.3, AS메주 47.0±1.2, ASBS메주 45.6±4.1, 전통메주 35.9±2.2 unit/g 순으로 전통메주의 α-amylase 활성도가 낮았다(p<0.05). β-amylase 활성도는 AO메주 2.07±0.06, ASBS메주 1.94±0.26, AS메주 1.73±0.08, AOBS메주 1.06±0.01, 전통메주 0.8±0.01 unit/g 순으로 전통메주의 β-amylase 활성도가 낮았다(p<0.05).

전반적으로 amylase 활성도는 미미한 수준으로 이는 콩의 전분질 함량이 1%미만으로 거의 없기 때문인 것으로 생각된다(52). 한편, 순창 전통된장 메주(wet basis)의 α-amylase 활성도는 15~37 unit/g, β-amylase 활성도는 0~0.55 unit/g로 보고된 바 있다(10).

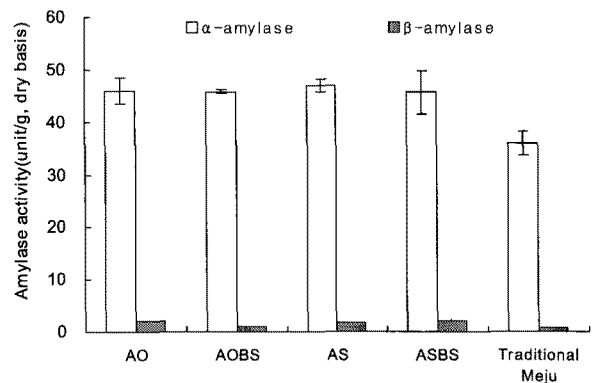


Fig. 9. Comparison of amylase activities in meju fermented with different starters at 28°C for 12 days.

AO: meju fermented with *A. oryzae*, AOBS: meju fermented with *A. oryzae* and *B. subtilis*, AS: meju fermented with *A. sojae*, ASBS: meju fermented with *A. sojae* and *B. subtilis*, Traditional Meju: meju fermented with natural microorganisms at Sunchang folk village according to traditional method. Error bars represent standard deviation (n=3). Basis on dry weight.

Protease 활성도 비교

종군별로 제조한 메주와 순창 고추장 민속마을(문옥례가)에서 입수한 된장용 전통메주의 Protease 활성도를 Fig. 10에 나타내었다. 메주 종류별로 중성 protease 활성도는 전통메주 1,258.0±38.8, AS메주 1,238.3±38.6, AO메주 1,204.1±24.1, ASBS메주 1,040.6±10.6, AOBS메주 1033.5±11.2 unit/g순으로 나타났다. 중성 protease는 된장의 숙성초기에 단백질 용해율에 영향을 끼친다고 알려져 있다.(41)

산성 protease 활성도는 AO메주 1,030.1±19.1, 전통메주 1,007.7±30.5, AS메주 990.9±25.0, AOBS메주 910.9±15.3, ASBS메주 888.2±15.7 unit/g순으로 나타났다. Yoo 등(10)에 의하면, 순창 전통 된장메주(wet basis)의 산성 protease 활성도가 발효 30일경에 397 unit/g이었고 그 후 서서히 증가하여 발효말기에 547 unit/g(메주의 총고형분 68.41%)이라고 보고한 바 있다. 본 실험에 사용된 순창 민속마을(문옥례가)에서 입수한 전통된장메주(wet basis)의 산성 protease 활성도는 598.3 unit/g(메주의 총고형분 59.37%)로 비교적 높은 활성을 나타내었다.

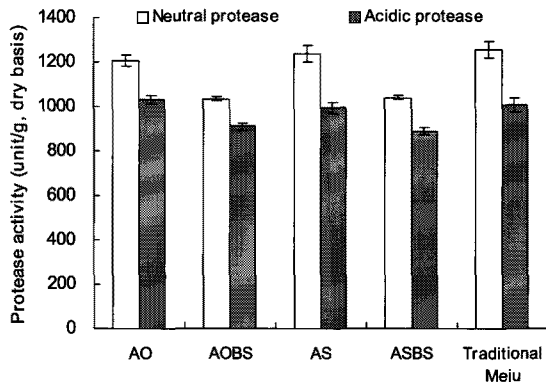


Fig. 10. Comparison of protease activities in meju fermented with different starters at 28°C for 12 days.

All abbreviations refer to Fig. 9. Error bars represent standard deviation (n=3). Basis on dry weight.

pH 변화

종군별 메주의 발효기간 중 pH 변화는 Fig. 11과 같다. 발효 초기 pH는 6.68~6.74 범위에서 발효 2일에 5.96~6.42로 감소후, 발효 4일에 6.34 ~ 6.51범위로 증가, 발효 12일째 까지 모든 메주의 pH가 서서히 감소하여 6.08~6.34 범위를 나타내었다.

발효 2일의 pH는 AO메주 6.01±0.04, AOBS메주 5.96±0.06, AS메주 6.36±0.01, ASBS메주 6.42±0.03으로 AO계열의 메주가 AS계열의 메주보다 pH 감소폭이 크게 나타났다. 본 실험결과는 Kim 등(34)의 *Bacillus*속 균주를 이용한 콩알메주의 발효 45시간째 pH 7.98~8.68의 범위보다 낮았는데 이는 protease 활성이 높은 *Bacillus* 속 균을 이용하여 단백질 분해속도가 빨라 단백질의 분해물 및 암모

니아성 질소화합물의 생성과 축적으로 pH 상승이 일어난 것으로 사료된다(54). 또한 종군별 메주 시료의 pH 차이는 미생물이 당을 이용하여 유기산을 생성하고, 효소가수분해에 의한 펩타이드, 아미노산, 유리지방산 등의 증가 차이로 수소이온농도가 증가하는 정도가 다르기 때문인 것으로 사료된다(41). 한편, 전국적으로 수집한 전통메주의 pH가 메주내부 4.96~8.15, 외부 5.56~7.63이고, 순창지역 된장용 전통메주 발효 중 초기 pH는 6.29, 발효 말기인 60일째 pH는 5.88로 보고된 바 있다(10).

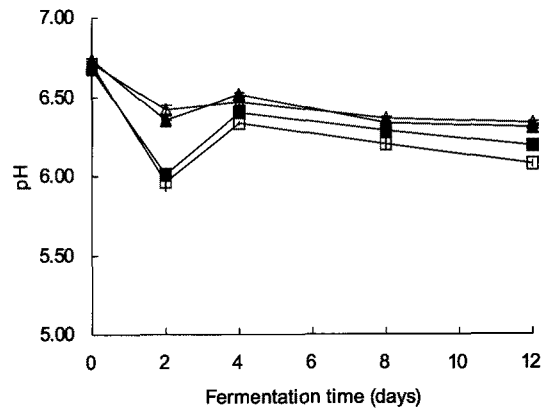


Fig. 11. Changes in pH of meju fermented with different starters at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

적정산도 변화

종군별 메주의 발효기간 중 적정산도 변화는 Fig. 12와 같다. 발효초기 적정산도는 5.1~5.5 범위에서, 발효 2일에 AO메주 16.8±0.6, AOBS메주 16.9±1.56, AS메주 12.2±0.2, ASBS메주 12.2±0.2로 증가한 후 발효 4일까지 뚜렷한 증가를 보이지 않다가, 발효 8일째까지 증가한 후, 균주를 접종한 메주 종류별로 적정산도의 증감경향이 다르지만, 발효 12일에 21.8~27.3 범위를 나타냈다. AO계열 메주가 AS계열 메주보다 적정산도가 높은 경향을 보였다. Yoo 등(10)은 순창지역 메주 발효 중 된장용 메주의 산도는 발효초기에 0.08%, 발효말기인 발효 60일에 0.23%라고 보고한 바, 본 실험의 발효 12일째 적정산도를 젖산으로 환산한 산도는 0.20~0.25%로 유사한 결과를 나타내었다.

수분 함량의 변화

종군별 메주의 발효기간 중 수분함량 변화는 Fig. 13과 같다. 발효초기 61.7~62.1%범위에서 국균포자의 발아와 생육을 유도하기 위해 2일째까지 상대습도 85%를 유지함에 따라 비교적 완만한 감소를 보여, 발효 2일에 수분 함량은 54.1~59.0%범위를 나타내었으며, 이후 경시적으로 감소하여 발효 12일에는 17.1~21.3%범위를 나타내었다. Yoo 등(10)은 순창지역 된장용 메주 수분함량은 발효초기

61.13%, 발효 60일에 31.59%로 보고한 바, 본 실험의 결과는 이보다 낮은데, 이는 종균별 메주의 형태가 전통메주보다 표면적이 넓고, 두께가 얇으며, 발효 조건이 다르기 때문이라고 생각된다.

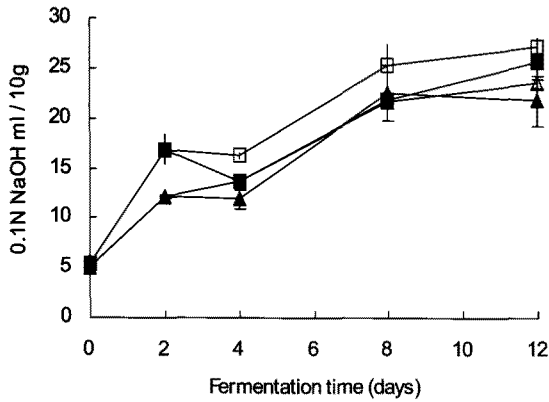


Fig. 12. Changes in titratable acidity of meju fermented with different starters at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

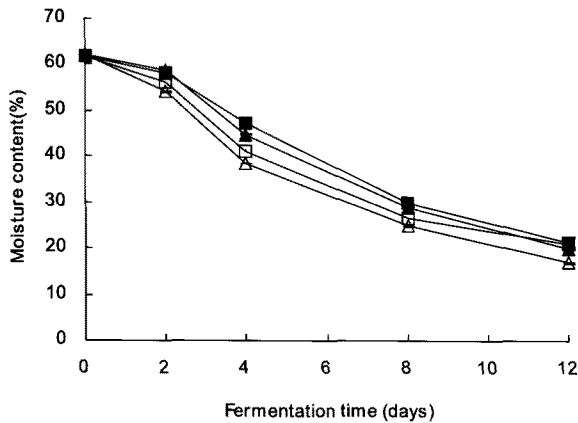


Fig. 13. Changes in moisture content of meju fermented with different starters at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

수용성 질소 함량변화

종균별 메주의 발효기간 중, 수용성 질소의 함량변화는 Fig. 14와 같다. 발효초기 0.53~0.65%범위에서, 발효 2일에 1.16~1.33%범위로 증가하였으며, 발효 12일에 1.13~1.22% 범위로 서서히 감소하였다. 발효 8일부터 12일에 미약한 증가를 보이지만, 이 기간 중 메주 수분이 평균 27.7%에서 19.9%로 감소함에 따른 농축현상으로 생각된다. Yoo 등(10)은 순창지역 된장용 메주의 수용성단백질이 발효초기 0.50%, 발효 60일에 5.72%라고 보고한 바, 본 실험의 발효 2일째 결과를 단백질로 환산하면 6.62~7.59%로 비교적 높은 결과를 나타내었다.

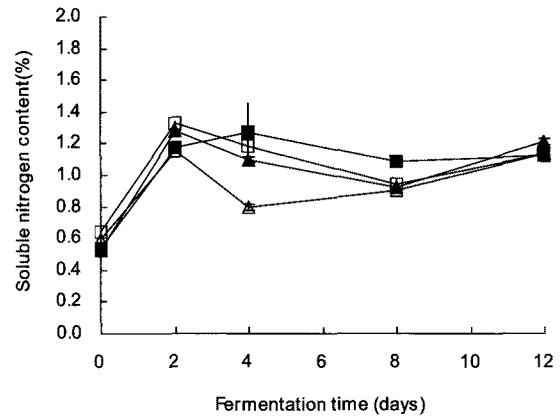


Fig. 14. Changes in soluble nitrogen content of meju fermented with different starters at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

아미노태 질소 함량변화

종균별 메주의 발효 중 아미노태 질소 함량 변화는 Fig. 15와 같다. 발효 초기 73.5~115.5 mg%범위에서, 발효 2일 430.5~577.5 mg%로 아미노태 질소 함량이 증가하였으며, 발효 2일 이후 모든 종균별 메주에서 감소하여(p<0.05), 발효 12일 150.5~234.5 mg%범위를 나타내었다. 발효기간 중, ASBS메주의 아미노태 질소 함량이 다른 메주보다 낮았다(p<0.05).

종균별 모든 메주의 수분과 아미노태 질소함량 평균은 각각, 발효 2일에 57%, 513 mg%, 발효 8일에 28%, 184 mg%로 발효 중 메주수분 함량과 아미노태 질소함량과 양(+)의 상관관계를 나타냈다. 즉, 아미노태 질소함량이 최고치를 보인 이후, 수분감소에 따라 아미노태 질소 함량이

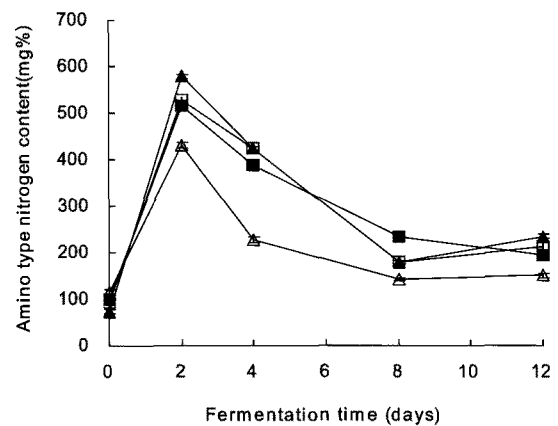


Fig. 15. Changes in amino-type nitrogen content of meju fermented with different starters at 28°C.

See Fig. 1 for symbols. Error bars represent standard deviation(n=3).

감소하는 경향이 있다. 발효 12일에 모든 메주의 아미노태

질소함량 평균이 198mg%(메주 수분함량 약 20%)로 발효 8일 보다 약간 증가한 것으로 나타났는데, 이는 수분함량 감소로 인한 고형분 농축에 따른 아미노태 질소의 농축현상으로 실질적인 증가는 아니라고 판단된다. 본 실험 결과는 Yoo 등(9)의 강원지역 재래식 메주 발효 중, 메주외부 수분함량과 아미노태 질소함량이 각각, 발효 26일에 최고 함량인 약 50%, 525 mg%에서 발효 69일에 최저함량인 약 12%, 450 mg%로 감소를 보인 결과와 유사한 경향을 보였다.

요 약

메주의 산업화를 위해, 종균으로서는 *A. oryzae*와 *A. sojae* 그리고 *B. subtilis*를 병용하고, 습도조절과 함께 28°C에서 12일간 발효하면서 메주의 품질특성 변화를 조사하였다. 그리고 이들 종균 접종 메주와 순창 고추장 민속마을에서 입수한 된장용 전통메주의 효소 활성도를 비교하였다. 즉, *A. oryzae*를 접종한 메주(=AO메주), *A. oryzae*와 *B. subtilis*를 접종한 메주(AOBS메주), *A. sojae*를 접종한 메주(=AS메주), *A. sojae*와 *B. subtilis*를 접종한 메주(=ASBS메주)를 12일 동안 발효시키면서 메주별로 품질 변화를 관찰하였다.

세균수와 곰팡이수는 각각 발효초기 6.48~6.69 log cfu/g, 5.00~5.71 log cfu/g에서 발효 2일에 8 log cfu/g 이상, 6 log cfu/g 이상으로 증가한 후 발효 12일 까지 세균수는 유지되었고, 곰팡이수는 감소 경향을 보였다. 아미노태 질소 함량은 발효 2일에 430.5~577.5 mg% 범위를 나타내었다.

중성 protease 활성도는 전통메주 1,258.0±38.8, AS메주 1,238.3±38.6, AO메주 1,204.1±24.1, ASBS메주 1,040.6±10.6, AOBS메주 1,033.5±11.2 unit/g순으로 나타났다. 산성 protease 활성도는 AO메주 1,030.1±19.1, 전통메주 1007.7±30.5, AS메주 990.9±25.0, AOBS메주 910.9±15.3, ASBS메주 888.2±15.7 unit/g 순이었다.

참고 문헌

- Jang IH, In MJ, Chae HJ (2004) Manufacturing method for traditional Doenjang and screening of high fibrin clotting inhibitory samples. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 47(1), 149-153
- Jung KO, Park SY, Park KY (2006) Longer aging time increases the anticancer and antimetastatic properties of *doenjang*. *Nutrition*, 22, 539-545
- Park KY, Jung KO, Rhee SH, Choi YH (2006) Antimetagenic effects of doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds. *Mutation Research*, 524, 43-53
- 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
- Shin ZI, Yu R, Park SA, Chung DK, Ahn CW, Nam HS (2001) His-His-Leu, an angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide derived from Korean soybean paste, exerts antihypertensive activity *in vivo*. *J Agric Food Chem*, 49, 3004-3009
- Lee CH, Moon SY, Lee JC, Lee JY (2004) Study on the antioxidant activity of soybean products extracts for application of animal products. *Korean J Food Sci Ani Resour*, 24, 405-410
- 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
- Kwon DJ (2002) Comparison of characteristics of Koji manufactured with *Bacillus subtilis* B-4 and *Aspergillus oryzae* F-5. *Korean J Food Sci Technol*, 34, 873-878
- Yoo JY, Kim HG, Kim WJ (1998) Physico-chemical and microbiological changes of traditional *Meju* during fermentation in *Kangweondo* area. *Korean J Food Sci Technol*, 30, 908-915
- Yoo JY, Kim HG (1998) Changes in microflora and enzyme activities of traditional *Meju* during fermentation at *Sunchang* area. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, 448-454
- Yoo JY, Kim HG (1998) Characteristics of traditional *Mejus* of nation-wide collection. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 27, 259-267
- Choi KS, Lee HJ, Kwon DJ (2009) Physicochemical and microbiological properties of Korean traditional *Meju*. *Korean J Food Preserv*, 16, 217-222
- Son YD, Choi CU, An BJ, Son GM, Choi C (1985) Changes in lipid and fatty acid composition in Korean native *Meju* during fermentation. *J Korean Agricultural Chemical Society*, 28, 226-232
- An BJ, Son GM, Choi C (1986) Changes in protein and amino acid composition of native *Meju* during fermentation. *J Korean Soc Food Nutr*, 15, 152-157
- Cho DH, Lee WJ (1970) Microbiological studies of Korean native soy-sauce fermentation: a study on the microflora of fermented Korean *Maeju* loaves. *J Korean Agricultural Chemical Society*, 13, 35-42

16. Lee SS, Park KH, Choi KJ, Won SA (1993) Identification and isolation of zygomycetous fungi found on *Maeju*, a raw material of Korean traditional soysources. Korean J Mycol, 21, 172-187
17. Lee SS, Park DH, Sung CK, Yoo JY (1997) Studies on the yellow fungal isolates (*Aspergillus* species) inhabiting at the cereals in Korea. Korean J Mycol, 25, 35-45
18. Kang MJ, Kim SH, Joo HK, Lee GS, Yim MH (2000) Isolation and identification of microorganisms producing the soy protein-hydrolyzing enzyme from traditional *Mejus*. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol, 43, 86-94
19. Choi KK, Cui CB, Ham SS, Lee DS (2003) Isolation, identification and growth characteristics of main strain related to *Meju* fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 32, 818-824
20. Lim SI, Kim HK, Yoo JY (1999) Characteristics of protease produced by *Bacillus subtilis* PCA 20-3 isolated from Korean traditional *Meju*. Korean J Food Sci Technol, 32, 154-160
21. Lim SI, Kwak EJ, Choi SY, Yoo JY (2002) Characteristics of protease produced by *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae* and *Absidia corymbifera* from Korean traditional *Meju*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 31, 211-215
22. Lee KH, Kim ND, Yoo JY (1997) Survey on the manufacturing process of traditional *Meju* for and of *Kanjang* (Korean soy sauce). J Korean Soc Food Sci Nutr, 26, 390-396
23. Im MH, Choi JD, Chung HC, Choi C, Choi KS (1998) Optimum soaking condition of raw soybean for *Meju* preparation. J Korean Soc Food Sci Nutr, 27, 664-667
24. Im MH, Choi JD, Chung HC, Lee SH, Lee CW, Choi C, Choi KS (1998) Improvement of *Meju* preparation method for the production of Korean traditional *Kanjang* (soy sauce). Korean J Food Sci Technol, 30, 608-614
25. So KH, Kim MK, Jeong JY, Do DH (2000) Studies on the *Meju* processing aptitude of recommended soybean varieties 1. Characteristics of soybean varieties as raw material, soaking and boiling process. Korean J Food & Nutr, 13, 28-35
26. Kim DH, Yook HS, Kim KY, Shin MG, Byun MW (2001) Fermentative characteristics of extruded *Meju* by the molding temperature. J Korean Soc Food Sci Nutr, 30, 250-255
27. Lee JG, Kwon KI, Choung MG, Kwon OJ, Choi JY, Im MH (2009) Quality analysis on the size and the preparation method of *Meju* for the preparation of Korean traditional soy sauce (*Kanjang*). J Appl Biol Chem, 52, 205-211
28. Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB (2002) Studies on the standardization of doenjang (Korean soybean paste) 1. Standardization of manufacturing method of doenjang by literatures. J Korean Soc Food Sci Nutr, 31, 343-350
29. Park MZ, Kim ID, Kim SD (2001) Effect of rice addition on enzyme activities of soybean *Meju* fermented by *Monascus spp.* Korean J Postharvest Sci Technol, 8, 405-411
30. Kim YS, Park CW, Kim SJ, Park SJ, Ryu CH, Cho HJ, Kim JO, Lim DK, Ha YL (2002) Preparation of mushroom mycelia-cultured traditional *Meju* with enhanced anticarcinogenicity and sensory quality. J Korean Soc Food Sci Nutr, 31, 986-993
31. Lee KS, Lee JC, Lee JK, Hwang EU, Lee SS, Oh MJ (2002) Quality of 4-recommended soybean cultivars for *Meju* and *Doenjang*. Korean J Food Preservation, 9, 205-211
32. 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
33. Kim SS (1978) Effect of *Meju* shapes and strains on the quality of soy sauce. Korean J Food Sci Technol, 10, 63-72
34. Kim DH, Lim DW, Bai S, Chun SB (1997) Fermentation characteristics of whole soybean *Meju* model system inoculated with 4 *Bacillus strains*. Korean J Food Sci Technol, 29, 1006-1015
35. Kim DH, Kim SH, Choi NS, Bai S, Chun SB (1998) Biochemical characteristics of whole soybean cereals fermented with *Aspergillus* strains. Kor J Appl Microbiol, Biotechnol, 26, 551-557
36. Kim IJ, Lee JO, Park MH, Sohn DH, Ha YL, Ryu CH (2002) Preparation method of *meju* by three step fermentation. Korean J Food Sci Technol, 34, 536-539
37. Choi JC, Kwon SH, Lee SW (2003) Quality properties of capsule type *Meju* prepared with *Aspergillus oryzae*. Korean J Food Preservation, 10, 339-346
38. Lee KH, Cho SH (2003) Effect of the combined fermentation with *Aspergillus oryzae* and *Bacillus natto* on the quality improvement of *Doenjang Meju*. J Agriculture & Life Sciences, 37, 9-21
39. Rahardjo YSP, Sie S, Weber FJ, Tramper J Rinzema

- A (2005) Effect of low oxygen concentrations on growth and α -amylase production of *Aspergillus oryzae* in model solid-state fermentation systems. *Biomolecular Engineering*, 21, 163-172
40. Sneath PA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (1986) *Bergey's manual of systematic bacteriology* Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA
41. 今井誠一, 松本伊左尾 (1990) *みそ技術讀本*. (有)光進堂, 日本, p 89-126
42. Kim KS, Bae EK, Ha SD, Park YS, Mok CK, Hong KP, Kim SP, Park JY (2004) Evaluation of dry rehydratable film method for enumeration of microorganism in Korean traditional foods. *J Fd Hyg Safety*, 19, 209-216
43. Jang SM, Lee JB, An H, Rhee CH, Park HD (2000) Changes of microorganisms, enzyme activity and physiological functionality in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation. *Korean J Postharvest Sci Technol*, 7, 313-320
44. Kim MS, O PS (1991) Isolation of thermostable α -amylase hyperproducing *Bacillus* sp. No. 32H417 and some properties of the enzyme. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol*, 19, 122-127
45. Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*, 31, 426-431
46. 萩原文二 (1956) *酵素研究法* 第2卷 赤堀編, 朝倉書店, 日本, p 240
47. Kim IJ, Lee JO, Park MH, Sohn DH, Ha YL, Ryu CH (2002) Preparation method of *meju* by three step fermentation. *Korean J Food Sci Technol*, 34, 536-539
48. Sadler GO (1994) Titratable acidity In: *Introduction to the chemical analysis of foods*. Nielson SS (ed). James and Bartlett Publisher, London, UK, p 83-94
49. AOAC (1995) *Official Method of Analysis of AOAC Intl*. 16th ed. Method 991.43. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA
50. Sung NJ, Ji YA, Chung SY (1984) Changes in nitrogenous compounds of soybean during *Chungkookjang koji* fermentation. *J Korean Soc Food Nutr*, 13, 275~284
51. Lim SB, Kim DO, Kim SH, Mok CK, Pack YS (2001) Quality changes during storage of *Kochujang* treated with heat and high hydrostatic pressure. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 30, 611-616
52. Hwang HS, Kim GS, Kim J, Lee SH, Park JS (2001) *SAS Statistics analysis*. Chung-Moon Publishing Co. Seoul, Korea, p 84-100
53. Kim YH (2002) Current achievement and perspectives of seed quality evaluation in soybean. *Korean J Crop. Sci*, 47(s), 95-106
54. Park CK, Nam JH, Song HI (1990) Studies on the shelf-life of the brick shape improved *meju*. *Korean J Food Sci Technol*, 22, 82-87

(접수 2010년 11월 16일 수정 2011년 5월 20일 채택 2011년 5월 27일)