

발 간 등 록 번 호

11-1543000-000394-01

감각 · 화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효미생물 선정 및 최적화 공정 개발

(Flavor-based screening of microorganisms using relationship between sensory characteristics and volatile composition, and optimization of the fermentation process in *Doenjang*)

한국식품연구원

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “ 감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 및 최적화 공정 개발 ” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 12월 일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 구 민 선

세부연구책임자 : 구 경 형

연 구 원 : 최 신 양

연 구 원 : 김 현 정

연 구 원 : 박 경 민

연 구 원 : 백 민 우

협동연구기관명 : 농협식품안전연구원

협동연구책임자 : 최 경 근

연 구 원 : 김 형 국

연 구 원 : 김 준 성

연 구 원 : 배 민 정

연 구 원 : 유 지 민

위탁연구기관명 : 세계김치연구소

위탁연구책임자 : 서 혜 영

연 구 원 : 한 애 리

참 여 기 업 : 서원농협

요 약 문

I. 제 목

감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 및 최적화 공정 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

전통 된장의 향미를 감각·화학적 방법으로 분석하여 기호도가 높은 된장을 선정하고, 된장의 향미 프로파일을 분석하여, 지표를 도출하고 된장의 향미에 기여하는 미생물을 선정하여, 이를 이용하여 된장 고유의 독특한 향미를 가진 된장을 재현하기 위한 공정을 개발하고자 함

III. 연구개발 내용 및 범위

- 감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 연구 (제 1 세부)
 - 전통된장의 미생물 동태 분석
 - 감각·화학적 지표 모니터링 및 균주 선발
 - 향기 생성 균주 선발 및 최적화
- 전통된장의 감각·화학적 지표 선정 연구 (제 2 세부, 위탁연구 포함)
 - Prototype 전통 된장 선정 및 감각·화학적 평가
 - 관능검사와 향기성분의 상관관계 규명 및 지표 인자 도출
 - 발효 단계 제어를 통한 시제품 제조 및 재현 평가
- 전통된장의 산업화 공정 개발 (협동과제)
 - Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정 분석
 - 대량생산을 위한 공정 개발
 - 종균의 대량 배양 및 공급 기술 개발

IV. 연구개발결과

<세부 1-2 과제 >

1. 된장의 미생물학적 품질 평가 및 prototype 된장 선정

전통 된장의 잠재 소비자인 20-30대의 기호도가 높은 된장의 prototype 된장을 선정하기 위하여 확보된 된장을 대상으로 감각적 평가와 기호도 검사를 실시하여 전통 된장 중 prototype 된장을 선정하였다.

선호도가 높은 된장을 개발하기 위하여 전통 된장과 메주 등을 지역별로 수거하여 식중독 미생물 평가 등 미생물학적 검사를 수행하였으며, 발효 미생물을 분리하였다. 그 결과 세균 150종, 진균류 40여종, 효모 60여종을 분리하여 보관하였다.

2. 발효 미생물 선발을 위한 특성 평가 및 발효 미생물 선발

수집된 발효 미생물에 대해 아밀라아제와 프로테아제 효소 활성 평가를 통해 세균 10종과 진균류 3종을 우선 선발하고, 콩배지를 조제하여 선발된 발효 미생물로 된장 시제품을 제조한 다음 감각적·화학적 평가를 수행하여 발효 품질 특성을 확인하고 이취가 적고, 좋은 된장향을 가지면 소금과 온도에 대해 저항성을 가지는 갖는 후보 미생물을 선발하였다. 후보 미생물로 단독 및 혼합 배양한 된장 시제품을 제조하여 화학적, 감각적 품질 평가를 하여, 세균 3종을 선발하였으며 염에 대한 저항성을 평가하여 최종적으로 세균 2종 (SW-03-7, KO-SM-11)과 곰팡이 2종 (KO-03-1, SW-03-7)을 최종 선정하였다.

3. 선발된 발효 미생물을 이용한 발효 조건 설정 및 혼합 발효 공정 선정

선정된 세균 3종과 곰팡이 2종을 이용하여, 세균 단독 배양 및 세균과 곰팡이의 혼합 배양을 한 총 7종의 된장 시제품을 조제하여 FGI 방법으로 감각적 특성 평가를 실시하였으며, 고, 혼합 배양을 위한 균주 조합을 품화 가능성이 있는 혼합 배양 균주 조건을 선호도를 평가하여, 혼합 배양하여 제조한 된장 시제품의 선호도를 한 결과 SW-03-7+M-SW-03-1의 선호도가 높은 것으로 평가되었다.

선발된 발효미생물의 발효 조건 최적화를 위해, 선발균의 생리학적 특성과 된장 시제품의 감각적·화학적 분석 결과를 바탕으로 5가지의 발효 공정 모델을 고안하고 시제품을 조제, 평가하였고, 된장의 안전성과 관련이 높은 것으로 알려진 바이오제닉 아민 화합물도 분석하였다. 모든 공정 모델에서 숙성 기간이 증가할수록 주요 발효 지표인 적정 산도와 아미노태질소가 증가하는 것을 확인하였다. 그러나 바이오제닉 아민류의 화합물 양이 초기 발효 온도가 고온인 경우 증가하는 것을 확인하여, 최종 최적화 모델에서는 초기 발효 온도를 조정하였다. 또한 선발된 효모를 이용하여 첨가 휴무에 따른 감각적 검사를 수행하였다. 효모 첨가에 따라 맛과 향의 차이가 확인되었으나, 전체적으로는 효모를 첨가하지 않은 처리구(세균과 mould만으로 발효한 것)을 선호하였다.

따라서, 선발된 발효 미생물을 이용하여 개선된 공정으로 된장 시제품 4종을 조제하여 감각적, 화학적 평가를 하였으며, 패널 100명을 대상으로 기호도 검사 결과, prototype 된장 다음으로 SW-03-7+M-SW-03-1에 대한 기호도가 가장 높았으며, 그다음으로 SW-03-7+KO-03-5, KO-SM-11+KO-03-5 순으로 분석되었다.

< 위탁 연구 >

1. Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가

전통된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, benzacetaldehyde 등 된장 특유의 고린내, 쿼퀴한 냄새를 나타내는 성분과 benzaldehyde, 1-octen-3-ol, teramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-ethyl phenol 등 된장 향, 고소한 향, 과일 향 등의 향기 특성을 나타내는 성분들이 동정되었으며, 카라멜향

으로 특징되는 maltol(2-methyl-3-hydroxy-4-pyranone)이 확인되었다. 공장산 된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 ethanol이 많은 부분을 차지하는 것으로 확인되었으며, ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, ethyl linoleate 등 구수한 냄새성분에 기여하는 고분자 지방산 ester류가 확인되었다. 전통된장에서 많은 비율을 차지한 acid류는 0.37~6.45%로 낮은 비율을 나타내었다.

2. Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출

전통된장의 화학적 지표를 선정하기 위하여 prototype 전통된장에서 분리한 균주별로 제조된 콩발효물 중 관능적 특성이 전통된장과 유사한 시료(미접종, *B. subtilis* 접종, *Aspergillus* sp. 접종, DD-N 접종)를 선정하여 휘발성 향기성분을 분석하였으며, 실험결과와 문헌조사 결과를 토대로 본 연구에서는 된장의 향기특성에 긍정적인 영향을 미치는 pyrazine류 중 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, benzaldehyde와 된장 특유의 고린내를 내는 3-methyl butanoic acid를 지표후보물질로 선정하였으며, 균주배양 모델 시스템 선정을 위해 활용하였다.

3. 시제품의 향기 재현 평가

전통된장의 화학적 지표로 선정된 향기성분은 2,5-Dimethyl pyrazine(A), trimethylpyrazine(B), tetramethylpyrazine(C), benzaldehyde(D), 3-Methyl butanoic acid(E) 총 5종으로 3-methyl butanoic acid는 2-methyl butanoic acid와 분리되지 않아 1개의 peak로 처리하여 면적을 산출하였다. Candy, sweet의 향기특성을 가지는 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine을 지표성분에 추가하여 비교하였다. 1차 시제품에서는 AL_B_1이 된장 특유의 고린내를 내는 2/3-butanoic acid의 상대적 비율은 낮으면서, pyrazine류의 비율이 높게 확인되었다. 2차 시제품에서는 D-1의 경우 지표성분의 강도가 시간에 따라 큰 변화가 없었지만, D-2에서는 trimethylpyrazine과 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine이 증가하는 것으로 확인되었다.

< 협동 과제 >

1. Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정분석

전통 된장으로 인증받은 전통된장과 개량식 된장 10종을 수거하여 품질특성을 조사하여 제품의 품질을 좌우하는 수분, 아미노태질소, 아미노산, 색도 등을 분석하여 품질특성을 규명하였다.

개량식된장인 HJD(448.2mg%), HJ(352.6mg%)보다 전통방식으로 제조된 KK(861.3mg%), SW3(926.3mg%)등이 높은 아미노태 질소 함량을 보였다. 이것은 전통된장은 대두를 100% 사용하여 제조하기 때문에 단백질분해에 의하여 아미노태질소 함량이 개량식된장보다 높고 개량식된장은 소맥분과 쌀, 대두를 주로 이용하여 제조하기 때문이다.

전통된장 제조공정과 개량식 제조공정의 주요 차이점은 첫째로 전통식은 주로 짚을 이용하여 성형한 메주를 발효시키고 개량식은 단일 및 혼합균주를 사용하여 원료를 발효시킨다는 차이점이다. 둘째로 전통식은 발효실은 있으나 온도, 습도조절이 불가능하여 품질이 불균일하다. 개량식은 제국실을 이용하여 발효하므로 발효균주의 최적생육조건을 맞출 수 있어 단기간에 발효숙성이 가능하고 품질관리가 가능하다.

2. 대량생산을 위한 공정개발

전통된장에서 분리된 101종의 세균들 중에 단백질분해력과 전분분해력이 높은 균주를 선발하기 위하여 clear zone 크기를 통하여 1차 선발 후 감각 화학적 분석과 효소활성 등 세부과제와 협의를 거쳐 1차로 세균 5종과 곰팡이 2종을 선발하여 단일 및 혼합균주로 17종의 된장 시료균을 제조하여 발효숙성 시킨 후 품질평가를 하였으며 시료균에 따라 품질차이가 많았다. 세부과제와 협동과제를 통하여 최종적으로 세균 2종 (SW-03-7, KO-SM-11)과 곰팡이 2종 (DJ-SW-03-1, DJ-KO-03-05)을 선정하였다.

현장에서 사용할 4개의 균주 혼합 실험균은 첫째, 메주형태로 제조한 균과 둘째 알콩 형태에 균을 직접 접종 혼합하여 제조한 알콩메주균 형태로 제조하여 총 8개의 실험균을 만들어 품질변화를 측정하였다.

선발된 미생물을 이용하여 메주형태로 제조된 4개의 된장시료를 품질평가 한 결과 모두 전통된장으로서의 품질규격을 모두 만족하였고 풍미도 우수하였다. 세균 2종과 곰팡이 2종을 이용하여 다양한 조합으로 전통된장을 제조할 수 있을 것이다. 메주형 된장과 알콩메주형 된장의 glutamic acid 함량비교 시 메주형된장 함량이 우수하여 알콩메주형 된장은 건조공정과 대두분쇄공정이 더 필요 할 것으로 사료되었다.

3. 종균의 대량배양 및 공급기술개발

최종적으로 선정된 세균 2종 (SW-03-7, KO-SM-11)과 곰팡이 2종 (DJ-SW-03-1, DJ-KO-03-5)의 종균으로서의 대량 배양과 공급기술 개발을 위하여 설정하였다.

선발된 두 균주의 배지원료 조성을 실험한 결과 대두추출 물과 효모분 0.3%에서 가장 생육활성이 좋은 것으로 나타났다. 산업체 현장에서 계속적으로 용이하게 저렴한 비용으로 공급한다면 간편하고 비용이 적게 드는 효모분말(식품첨가물용)을 이용하여 제조하고 액상으로 공급하는 방법이 좋을 것이다. 선발된 세균의 원활한 공급을 위하여 동결건조 후의 생육활성을 본 결과 SW-37균이 KOSM-11보다 동결건조 후에도 생육활성이 양호하였으나 두 균 모두 9-10 log cfu/mL로 검출되어 액체 및 동결건조하여 공급 가능함을 확인하였다.

선발된 곰팡이 균주는 곡물배지 원료에 따른 균주활성 결과를 보았다. 곡물배지별 균주배양결과 DJ-SW-03-01은 쌀 원료, DJ-KO-03-05은 보리원료에서 9 log cfu/mL로 가장 생육활성이 좋은 것으로 나타났다. 곡물원료 배지를 이용한 두 균주의 보존활성을 본 결과 열풍건조와 동결건조 후에도 생육활성이 양호하였으나, 작업성과 경제성을 고려하여 열풍건조 후 균주를 공급하는 것이 좋을 것이다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

< 연구성과 >

- 학술발표 2건
 - 한중일 분석과학회 국제심포지엄, 2011. 11. 01.
 - Food Micro 2012. 2012.09.05
- 논문 1건 진행 중 : 한국식품영양과학회지, 진행 중 (수정 후 채택)
- 산업지 게재 : 식품기술 2012년 25 (3) 292-296
- 홍보 : 식품저널, 2013년 6월 14일 (금)
- 무상 기술이전 및 기술 컨설팅: 서원농협전통장류가공공장
- 유전자원 5종 등록 및 특허 출원 3건 진행 중

< 성과 활용 계획 >

- 선발된 균주를 이용한 된장 제조 기술을 관련 기업에 이전함으로써 다양한 전통된장 생산 및 매출에 기여
- 연구결과를 활용하여 속성발효 된장의 품질에 대한 기초자료로 활용
- 된장 분리주의 향미 특성 DB화를 통해 소비자의 기호를 충족시킬 수 있는 향미를 가진 된장 생산하여 전통 된장의 시장 확대에 활용
- 전통 된장 제조를 위한 발효미생물 선발로 일정한 품질을 보유한 된장 제조 조건의 표준화 및 산업화에 활용
- 각기 고유의 특성화된 특징을 보유한 전통 발효 종균의 보존 및 계승

SUMMARY

I. Title

Flavor-based screening of microorganisms using relationship between sensory characteristics and volatile composition and optimization of the fermentation process in *Doenjang*.

II. Objectives and Significance

1. Selection of the prototype *Doenjang* based on sensory evaluation
2. Screening and selection of fermentative microorganism using correlation with sensory characteristics, chemical composition and volatile composition
3. Optimization of the fermentation process with starter culture to prepare *Doenjang*

III. Scope and Contents

1. Screening and selection of fermentative microorganism based on correlation with sensory characteristics, chemical composition and volatile composition
 - Microbial quality and chemical composition of *Doenjang*
 - Isolation and collection of bacteria and fungi from *Doenjang*
 - Selection of fermentative microorganism
2. Sensory evaluation and volatile compounds profiling of *Doenjang*
 - Selection of prototype *Doenjang* by consumer acceptability test
 - Deriving index flavor compounds of prototype traditional *Doenjang*
 - Optimization of fermentation process with starter isolated from *Doenjang*
3. Process development for commercialization in *Doenjang*
 - Quality properties and process analysis on *Doenjang*
 - Process development for mass production
 - Mass cultivation of mother strains and development on supplying technology

IV. Results

1. Microbial quality properties and determination of prototype *Doenjang*.

prototype traditional *Doenjang*, which had the highest value of acceptability by consumer acceptability and sensory properties, were selected out of all. 150 kinds of bacteria, 40 kinds of mould and 60 kinds of yeast were isolated from traditional *Doenjang* and *Meju* to development of *Doenjang* that are preferred by consumers.

2. Chemical and sensory properties for selection of isolates and selection of strains

Ten strains of bacteria and three strains of mould with high enzymatic activities such as amylase and protease were first selected and planted to prepare *Doenjang* products. according to result of chemical and sensory evaluation, five strains of bacteria and two strains of mould were selected. Selected bacteria strains were permitted growth in artificial media and natural media prepared by soybean were grown up fast in 30°C to 50°C. Also these strains showed high NaCl resistance. Three yeast with optimum growth ability under 10% NaCl condition were selected, too.

3. Process development to manufacture a traditional *Doenjang*

Seven kinds of fermentative products prepared with selected microorganism were evaluated the sensory properties using FGI method. The product made by DJ-DD-500 showed the best excellent taste and flavor. Among fermentation products with bacteria and mould, the mixture of SW-03-7+M-SW-03-1 showed good texture, taste and flavor. The growth kinetic of selected three bacteria strains were investigated in whole soybean media under different temperature and NaCl condition. All of strains showed shorter lag phase time in 50°C than 30°C condition and SW-03-7 showed fast growth activity under 50°C. Also SW-03-7 and KO-SM-11 were observed to have salt-resistance, thus, SW-03-7 and KO-SM-11 had been finally selected. Five kinds of *Doenjang* product with selected microorganism were planted to improvement of consumer acceptability. All of samples increased a titratable acidity and amino-nitrogen with increasing fermentation time. As a result of comparing the sensory properties between the *Doenjang* products prepared, SWM-1 and SWM-3 without addition of obtained a good evaluation. As a analysis result regarding to the sensory and chemical properties, fermentation condition with selected microorganism had been finally established. Although preference was the highest in factory-produce traditional *Doenjang*, mixture with SW-03-7 and M-SW-03 had a higher whole preference among three groups with the modified laboratory-produce *Doenjang*.

4. Evaluating volatile flavor of prototype traditional *Doenjang*

Major volatile flavor compounds identified from traditional *Doenjang* include those which generate an offensive and foul smell specific to *Doenjang* like butanoic acid, 3-methyl

butanoic acid, benzacetaldehyde; *Doenjang* flavors like benzaldehyde, 1-octen-3-ol, tetramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, and 4-ethyl phenol; other components which have fragrant characteristics like savory flavor and fruit flavor; and maltol (2-methyl-3-hydroxy-4-pyranone) represented by caramel flavor. Major volatile flavor compounds identified from factory-produced *Doenjang* comprise mostly ethanol and other high-molecular fatty acid esters which contribute to nice-smelling components like ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, and ethyl linoleate. Acids which account for a great deal in traditional *Doenjang* are found at the low ratio of 0.37~ 6.45%.

5. Deriving index flavor compounds of prototype traditional *Doenjang*

In order to determine chemical indexes for traditional *Doenjang*, from among soybean fermentations manufactured with each strain separated from prototype traditional *Doenjang*, samples (non-inoculation, *B. subtilis* inoculation, *Aspergillus* sp. inoculation, and DD-N inoculation) are selected whose sensory characteristics are similar to those of traditional *Doenjang* and whose volatile flavor compounds are analyzed. Based on the results of the experiment and documentary investigations, this research has selected, as index substance candidates, pyrazines which have a positive effect on fragrant characteristics of *Doenjang* like 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, and benzaldehyde; and 3-methyl butanoic acid which has a foul smell specific to *Doenjang*. And these substances are utilized for selecting a model system for strain cultivation.

6. Evaluating prototypes' volatile flavor reproduction

A total of 5 flavor compounds selected as chemical indexes for traditional *Doenjang* are 2,5-Dimethyl pyrazine (A), trimethylpyrazine (B), tetramethylpyrazine (C), benzaldehyde (D), and 3-Methyl butanoic acid (E). When the area is calculated, 3-methyl butanoic acid is treated as a peak since it is not separated from 2-methyl butanoic acid. A comparison is made after index components are added with 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine which is characterized by candy and sweet fragrances. It is confirmed from the 1st prototype that AL_B_1 has a relatively lower ratio of 2/3-butanoic acid which generates a foul smell specific to *Doenjang* but a high ratio of pyrazines. It is also confirmed from the 2nd prototype that there is no big change, as time goes by, in the intensity of index components as for D-1 but an increase in trimethylpyrazine and 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine as for D-2.

7. Quality properties and process analysis of prototype *Doenjang*

10 kinds of traditional and modified *Doenjang* were collected that're famous for their own outstanding taste from nationwide and investigated in quality attributes. Moisture, amino-type nitrogen, amino acids and color difference that determine a product quality have been conducted and quality attributes were clarified. Compared to modified *Doenjang* like HJD(448.2mg%),

HJ(352.6mg%) the traditionally made one showed higher level of amino-type nitrogen. This is because the traditional *Doenjang* such as KK(861.3mg%), SW3(926.3mg%) made from 100% of soybean has higher than the modified *Doenjang* in amino-type nitrogen by proteolysis while the modified *Doenjang* are made from soybean mixing with wheat flour and rice. The difference between traditional and modified *Doenjang* : Firstly, traditional one rely on the fermentation way by using *Meju* (pillow shaped steamed soybean cake) while the modified one depend on the other process that single or mixed strains ferment the mixed materials. Secondly, the traditional one has the fermentation room with little success of controlling temperature and humidity meaning ununiformed quality control. The modified one is fermented under fermentation room(controlled air temperature and humidity),which enable to adjust the optimal growth condition of fermentation related strains and to take shorter in fermentation ageing and to perform even quality control.

8. Process development for mass production

101 kinds of strains isolated from the traditional *Doenjang* have been selected through clear zone size to screen the strains that have higher decomposition power for both protein and starch. Five kinds of bacillus and two kinds of mould were first selected in combination of subsidiary projects like sensory chemical analysis and enzyme activity and then single or mixed strains from first selected strains are planted to make 17 kinds of *Doenjang* samples, *Doenjang* are ageing by fermentation, evaluated in quality and found to have a big quality difference according to the characteristic of *Doenjang* samples group. With cooperation of subsidiary projects SW-37, KOSM-11 and 2 kinds of mould like DJSW-31 , DJKO-35 have been finally selected.

4 kinds of mixed strains used for production trial were firstly planted into *Meju* form and secondly planted into soybean grain form to make 8 kinds of the samples group. Samples group that's considered a traditional *Doenjang* met the quality specification and showed the excellent taste and flavor and expected to contribute to make the traditional *Doenjang* in various combination. As a result of comparing the glutamic acid contents between *Doenjang* in *Meju* form and the other one in soybean grain form, *Doenjang* in *Meju* form was observed to get better results. *Doenjang* in grain form is considered to need additional drying process and crushing process in soybean.

9. Mass cultivation of mother strains and development in the technology on how to supply.

Growth condition for finally selected SW-37, KOSM-11(bacillus) and DJSW-31, DJKO-35(mould) have been established. As a result of making trial for media suited to two isolated strains like SW-37, KOSM-11, soybean extracts and 0.3% of yeast powder substance were found to show the best growth activity. In order to achieve more activated supply for two kinds strains like SW-37 and KOSM-11 the growth activity after freeze drying was observed, as a results of that, SW-37 showed better growth activity than that of KOSM-11.

But both of strains were detected in the rate of 9-10 log cfu/ml, which enabled to supply them in the form of liquid and freeze drying. The result on whether the isolated strains showed the activity according to the change in cereal media has been monitored. As a results of strains cultivation according to the change in cereal media, DJSW-31 was found to show the best activity in a rice, while DJKO 35 in a barley, representing 9 log cfu/ml. As a result of storage activity for two strains cultivated with cereal media, both of them were found to show a good growth activity after hot air drying and freeze drying.

V. Application Plan of Results

< Achievement >

Academic presentation: Analysis of volatile flavor compounds in long-aged Doenjang by automated SPME-GC-MSD (Korean-Chinese-Japanese Data Analysis Society international symposium dated November 1, 2011)

Technology consulting

- Participation company : Processing factory in Seowon Nonghyup
- How to use in bacillus and mould for manufacturing a traditional *Doenjang* and how to perform quality control.

< Achievement Application Plan >.

First, we plan transference of the techniques for participant business, secondly, planing transference of the techniques for business related company

Contribution to produce various type of traditional *Doenjang* and increase sales volume by transfer the technology on how to select the excellent strains to the industry.

The likelihood for small firm to participate through scientific approach in a traditional fermented foods.

The likelihood to achieve and spread the excellent strain involved with making the traditional *Doenjang's* own unique taste

세부 1-2 과제

요 약 문

I. 제 목

감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 및 최적화 공정 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

전통 된장의 향미를 감각·화학적 방법으로 분석하여 기호도가 높은 된장을 선정하고 향미 프로파일을 분석하여, 된장의 향미에 기여하는 미생물을 선정하여, 이를 이용하여 된장 고유의 독특한 향미를 가진 된장을 재현하기 위한 공정을 개발하고자 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 연구
 - 전통된장의 미생물 동태 분석
 - 감각·화학적 지표 모니터링 및 균주 선발
 - 향기 생성 균주 선발 및 최적화
- 전통된장의 감각·화학적 지표 선정 연구 (위탁연구 포함)
 - Prototype 전통 된장 선정 및 감각·화학적 평가
 - 관능검사와 향기성분의 상관관계 규명 및 지표 인자 도출
 - 발효 단계 제어를 통한 시제품 제조 및 재현 평가

IV. 연구개발결과

1. 된장의 미생물학적 품질 평가 및 prototype 된장 선정

- 전통 된장의 잠재 소비자인 20-30대의 기호도가 높은 된장의 prototype 된장을 선정하기 위하여 확보된 된장을 대상으로 감각적 평가와 기호도 검사를 실시하여 전통 된장 중 prototype 된장을 선정하였다.
- 선호도가 높은 된장을 개발하기 위하여 전통 된장과 메주 등을 지역별로 수거하여 식중독 미생물 평가 등 미생물학적 검사를 수행하였으며, 발효 미생물을 분리하였다. 그 결과 세균 150종, 진균류 40여종, 효모 60여종을 분리하여 보관하였다.

2. 발효 미생물 선발을 위한 특성 평가 및 발효 미생물 선발

- 후보 발효 미생물을 선발하기 위하여, 된장 발효에 영향을 주는 주요 인자를 설정하고 분리된 미생물에 대해 특성을 평가하였다.

- 수집된 발효 미생물에 대해 아밀라아제와 프로테아제 효소 활성 평가를 통해 세균 10종과 진균류 3종을 우선 선발하였다. 콩배지를 조제하여 선발된 발효 미생물로 된장 시제품을 제조한 다음 감각적·화학적 평가를 수행하여 발효 품질 특성을 확인하고 이취가 적고, 좋은 된장향을 갖는 SW-03-7, SW-03-9, KO-SM-11, DJ-KO-500, DJ-DD-500의 세균 5종과 KO-03-1, SW-03-7의 곰팡이 2종을 후보 미생물로 선발하였다.
- 후보 미생물에 대해 다양한 환경 조건에서 성장 특성을 평가한 결과, 선발된 세균은 각 세균의 최적 합성 배지는 물론 본 연구에서 고안한 콩배지 및 콩물 배지에서도 성장이 가능함을 확인하였고, 소금에 대해 저항성이 있었으며 30-50℃의 모든 온도 구간에서 성장이 가능하였다.
- 후보 발효 미생물인 세균 5종과 곰팡이 2종을 이용하여, 각각 단독 및 혼합 배양한 17개의 된장 시제품을 제조하여 발효 숙성 시킨 후 품질 평가를 하였으며 이취가 강한 시료는 제외한 SW-03-7, KO-SM-11, DJ-DD-500의 세균 3종과 KO-03-1, SW-03-7의 곰팡이 2종을 최종 선정하였다.
- 된장에서 분리된 효모의 분리 특성을 고려하여 20% 염에서도 성장이 가능한 5개의 분리주(12-DJ-DD-14, 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-KO-DJ-5, 12-SW-DJ-3)를 우선 선정하고, 선정된 효모에 대해 10% 염도 하에서의 growth kinetic을 분석하여 비교적 짧은 유도기와 높은 최대 성장을 가지는 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-SW-DJ-3를 최종적으로 선발하였다.

3. 선발된 발효 미생물을 이용한 발효 조건 설정 및 혼합 발효 공정 선정

- 선정된 세균 3종과 곰팡이 2종을 이용하여, 세균 단독 배양 및 세균과 곰팡이의 혼합 배양을 한 총 7종의 된장 시제품을 조제하여 FGI 방법으로 감각적 특성 평가를 실시하였다. 단독 배양의 경우 암모니아냄새가 거의 없고 단냄새, 카라멜 냄새가 강한 DJ-DD-500을 가장 선호하였으며, 세균과 곰팡이의 혼합 배양군은 단내와 카라멜향이 강한 SW-03-7+M-SW-03-1의 선호도가 높은 것으로 평가되었다.
- 선정된 세균의 특성을 온도와 염 농도가 다양한 콩배지에서 평가하였다. 모두 30℃ 구간에서 보다 50℃ 구간에서가 유도기가 짧았고, 최대 성장율은 SW-03-7>KO-SM-11>DJ-DD-500의 순이었다. 염을 10% 첨가했을 때 SW-03-7과 KO-SM-11가 DJ-DD-500보다 저항성이 있는 것을 확인하였다. 따라서 최종적으로 SW-03-7과 KO-SM-11를 선발하였다.
- 선발된 세균 2종과 곰팡이 2종의 생리학적 특성과 된장 시제품의 감각적·화학적 분석 결과를 바탕으로 5가지의 발효 공정 모델을 고안하였다. 또한 된장의 안전성과 관련이 높은 것으로 알려진 바이오제닉 아민 화합물도 분석하였다. 모든 공정 모델에서 숙성 기간이 증가할수록 주요 발효 지표인 적정 산도와 아미노태질소가 증가하는 것을 확인하였다. 그러나 바이오제닉 아민류의 화합물 양이 초기 발효 온도가 고온인 경우 증가하는 것을 확인하여, 최종 최적화 모델에서는 초기 발효 온도를 조정하였다.

- 효모 첨가에 따른 된장 시제품의 감각적 품질 특성 변화를 분석한 결과 SW-03-7의 단독 발효 (SWM-1)과 SW-03-7+M-KO-03-5 혼합 발효(SWM-3)의 선호도가 높았으며, 이들 시료에 선정된 3종의 효모를 첨가한 경우 SWM-1+12-DJ-DD-15, SWM-3+12-KO-DJ-4, SWM-2+12-SW-DJ-3의 선호도가 높았으나 전체적으로는 효모를 첨가하지 않은 SWM-1과 SWM-3의 맛과 향을 선호하였다.
- 선발된 최적 발효 조건을 고안하고 이를 이용하여 된장 시제품 4종을 조제하여 감각적 평가를 위한 기호도 검사 결과, prototype 된장 다음으로 SW-03-7+M-SW-03-1에 대한 기호도가 높았으며, SW-03-7+KO-03-5, KO-SM-11+KO-03-5 순이었다

V. 연구성과 및 성과활용 계획

< 연구성과 >

- 전통 된장의 숙성 기간에 따른 감각·화학적 품질 특성. 한국식품영양과학회지 진행 중
- 산업지인 식품기술 2012년 25 (3) 292-296에 Food Micro 2012 학회 참관 및 터키 발효 식품 조사 개재
- 학회 발표
 - Toxin gene profile and growth characteristics of *Bacillus cereus* isolates from *Doenjang* and *Meju*, Korean fermented soybean products. 2012.9.5 터키 이스탄불
- 기술이전 : 서원농협전통장류가공공장, 2012-11-01~ 2017-10-31, 된장 제조용 발효미생물
- 홍보 : 우리 전통 된장의 재발견. 2013년 6월 14일 (금) 식품 저널
- 특허 출원 : 3건 진행 중
 - 바실러스 서브틸리스 SW0307 및 이를 이용한 전통 된장의 향미를 재현한 된장의 숙성 제조방법
 - 바실러스 메틸로트로피쿠스 KOSM11 및 이를 이용한 전통 된장의 향미를 재현한 된장의 숙성 제조방법
 - 바실러스 리케미포미스 DJDD500 및 이를 이용한 전통 된장의 향미를 재현한 된장의 숙성 제조방법
- 유전자원 등록
 - 세균 3종과 곰팡이 2종에 대해 한국종균협회에 유전자원 등록

< 성과 활용 계획 >

- 된장 분리주의 향미 특성 DB화를 통해 소비자의 기호를 충족시킬 수 있는 향미를 가진 된장 생산 가능성 확인하여, 전통 된장의 시장 확대에 활용
- 각기 고유의 특성화된 특징을 보유한 전통 발효 종균의 보존 및 계승

SUMMARY

I. Title

Flavor-based screening of microorganisms using relationship between sensory characteristics and volatile composition and optimization of the fermentation process in *Doenjang*.

II. Objective and Significance

1. Selection of the prototype *Doenjang* based on sensory evaluation
2. Screening and selection of fermentative microorganism using correlation with sensory characteristics, chemical composition and volatile composition
3. Optimization of the fermentation process with starter culture to prepare *Doenjang*

III. Scope and Content

1. Screening and selection of fermentative microorganism based on correlation with sensory characteristics, chemical composition and volatile composition
 - Microbial quality and chemical composition of *Doenjang*
 - Isolation and collection of bacteria and fungi from *Doenjang*
 - Selection of fermentative microorganism
2. Sensory evaluation and volatile compounds profiling of *Doenjang*
 - Selection of prototype *Doenjang* by consumer acceptability test
 - Deriving index flavor compounds of prototype traditional *Doenjang*
 - Optimization of fermentation process with starter isolated from *Doenjang*

IV. Results

1. Microbial quality properties and determination of prototype *Doenjang*.

Prototype traditional *Doenjang* with the highest value of acceptability by consumer acceptability and sensory properties was selected out of all. 150 kinds of bacteria, 40 kinds of mould and 60 kinds of yeast were isolated and selected from traditional *Doenjang* and *Meju* to development of *Doenjang* that are preferred by consumers.

2. Chemical and sensory properties for selection of isolates and selection of strains

Ten strains of bacteria and three strains of mould with high enzymatic activities such as amylase and protease were first selected and planted to prepare *Doenjang* products. according to result of chemical and sensory evaluation, five strains of bacteria and two strains of mould were selected.

Selected bacteria strains were permitted growth in artificial media and natural media prepared by soybean were grown up fast in 30°C to 50°C. Also these strains showed high NaCl resistance. Three yeast with optimum growth ability under 10% NaCl condition were selected, too.

3. Process development to manufacture a traditional *Doenjang*.

Seven kinds of fermentative products prepared with selected microorganism were evaluated the sensory properties using FGI method. The product made by DJ-DD-500 showed the best excellent taste and flavor. Among fermentation products with bacteria and mould, the mixture of SW-03-7+M-SW-03-1 showed good texture, taste and flavor.

The growth kinetic of selected three bacteria strains were investigated in whole soybean media under different temperature and NaCl condition. All of strains showed shorter lag phage time in 50°C than 30°C condition and SW-03-7 showed fast growth activity under 5 0°C. Also SW-03-7 and KO-SM-11 were observed to have salt-resistance, thus, SW-03-7 and KO-SM-11 had been finally selected.

Five kinds of *Doenjang* product with selected microorganism were planted to improvement of consumer acceptability. All of samples increased a titratable acidity and amino-nitrogen with increasing fermentation time. As a result of comparing the sensory properties between the *Doenjang* products prepared, SWM-1 and SWM-3 without addition of obtained a good evaluation.

As a analysis result regarding to the sensory and chemical properties, fermentation condition with selected microorganism had been finally established. Although preference was the highest in factory-produce traditional *Doenjang*, mixture with SW-03-7 and M-SW-03 had a higher whole preference among three groups with the modified laboratory-produce *Doenjang*.

CONTENTS

SUMMARY	18
CONTENTS	20
Chapter 1. Overview of research projects	22
Chapter 2. Status of domestic and foreign technical development	24
Chapter 3. Performance content of research and result	26
Section 1. Materials and methods	26
1. Sample collection	26
2. Methods	27
A. Chemical analyses	29
B. Microbial analyses	31
C. Characterization of microorganism	33
D. Sensory evaluation	35
E. Statistics	36
Section 2. Results and discussion	36
1. Microbiological quality of <i>Doenjang</i>	36
2. Selection of prototype <i>Doenjang</i> by Sensory evaluation	38
3. Characterization of <i>Doenjang's</i> microorganisms to select starter	45
4. Screening of microorganism by chemical and sensory characteristic	46
5. Identification of selected microorganism	63
6. Development of fermentation process with selected microorganism	68
7. Optimization of fermentation process	85
Chapter 4. Research goal attainment and contribution to related area	87
Chapter 5. Plan for application of research results	88
Chapter 6. Foreign information collected during this research	89
Chapter 7. Current state of research instrument or equipment	93
Chapter 8. Reference	94

목 차

요약문	19
목 차	21
제 1 장 연구개발 과제의 개요	22
제 2 장 국내외 기술 개발 현황	24
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	26
제 1 절 재료 및 방법	26
1. 된장 시료 확보	26
2. 실험방법	27
가. 이화학적 특성 분석	27
나. 미생물학적 품질 평가	29
다. 미생물학적 특성 분석	31
라. 감각적 특성 평가	33
마. 통계처리	35
제 2 절 결과 및 고찰	36
1. 된장의 미생물학적 품질 평가	36
2. 된장의 감각적 특성 평가 및 prototype 된장 선정	38
3. 발효미생물 선발을 위한 특성 평가	45
4. 감각적, 화학적 특성 기반 발효 미생물 선정	46
5. 발효 미생물 동정 및 특성 평가	63
6. 선발된 발효 미생물을 이용한 발효 조건 설정	68
7. 된장 제조를 위한 최적화 공정	85
제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도	87
제 5 장 연구개발 성과 및 성과 활용 계획	88
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	89
제 7 장 연구시설·장비 현황	93
제 8 장 참고문헌	94

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적

전통 된장의 향미를 감각·화학적 방법으로 분석하여 기호도가 높은 된장을 선정하고 선정된 된장의 향미 프로파일을 분석하여, 지표를 도출하고 된장의 향미에 기여하는 미생물을 선정하여, 이를 이용하여 된장 고유의 독특한 향미를 가진 된장을 재현하기 위한 공정을 개발하고자 함.

제 2 절 연구개발의 필요성

전통 발효식품의 산업화를 위해서는 전통의 특징을 유지하면서, 다양한 현대인의 구미에 맞도록 다양화, 현대화 및 국제화함으로써 발전적으로 변신할 필요성이 있음.

전통된장은 개인의 연령, 취향 등에 따라 기호도에서 큰 차이를 보이기 때문에 다양한 향미를 가진 된장을 생산할 수 있는 기반 연구가 요구됨.

현재 곰팡이, 세균의 단독 배양이나 곰팡이 코지를 이용하는 현재의 산업화된 된장 생산 공정으로는 독특한 향미를 가진 전통된장의 재현이 어려움.

따라서, 고유 된장의 맛과 향을 유지하면서, 생산되는 제품마다 향미가 일정하게 유지되기 위해서는 향미에 기반한 새로운 발효 미생물 분리 방법과 산업화 공정 개발이 절실히 요구됨.

제 3 절 연구개발의 목표 및 내용

▶ 제 1 세부과제 : 감각·화학적 지표를 이용한 된장 제조용 발효 미생물 선정 연구

- 전통된장의 미생물 동태 분석
 - 메주 및 된장에서 미생물 분포 분석
 - 메주 및 된장에서 미생물 분리
 - 기질 분해 활성 및 관능검사를 이용한 균주 선정
- 감각·화학적 지표 모니터링 및 균주 선발
 - 향미-기반 균주 선정 모델 시스템 작성 (단일, 복합, 단계별)
 - 선정 균주의 생리학적 성장 특성
 - 향기 성분 추적을 통한 혼합 발효 조건 설정

- 향기 생성 균주 선발 및 최적화
 - 된장 주요 향기 성분 생산 경로 탐색
 - 향기 성분 재현을 복합 발효 조건 최적화

▶ **제 2 세부과제 : 전통된장의 감각·화학적 지표 선정 연구**

- Prototype 전통 된장 선정 및 감각·화학적 평가
 - 기호도 검사, 묘사 분석 등을 통한 감각적 평가 및 표준 프로파일 질문지 고안
 - GC-MSD를 이용한 휘발성 향기성분 분석·동정 및 향 프로파일 작성
 - 전통된장과 공장산 된장의 감각·화학적 차이 규명
- 관능검사와 향기성분의 상관관계 규명 및 지표 인자 도출
 - 향기성분과 관능검사의 상관관계 분석을 통한 지표 관능기 도출
 - 지표 향기성분 추출 및 분석 방법 최적화
 - 모델 시스템에서의 감각·화학적 향미 변화 추적
- 발효 단계 제어를 통한 시제품 제조 및 재현 평가
 - 모델 시스템 내 발효 과정 중 생성되는 향기 성분 모니터링
 - 공정 관리 및 품질 지표 인자 도출 및 확인

▶ **협동과제 : 전통된장의 산업화 공정 개발**

- Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정 분석
 - Prototype 된장의 이화학적 품질 평가
 - 분리 미생물에 대한 효소 활성 평가
 - 현 산업화 공정 분석 및 발효 영향 인자 분석
- 대량생산을 위한 공정 개발
 - 발효 조건 및 특성에 따른 이화학적 특성 분석
 - 종균의 접종 방법 및 규모에 따른 영향 인자 도출
 - 단일 배양과 혼합 배양의 현장 적용 실험
- 종균의 대량 배양 및 공급 기술 개발
 - 선발 균주를 이용한 된장의 대량 제조 조건 최적화
 - 스타터 개발을 위한 제조 조건 설정
 - 종균의 공급 기술 개발

제 2 장 국내외 기술 개발 현황

제 1 절 국내 현황

된장은 청국장, 쌈장, 고추장 등과 더불어 콩을 발효시켜 만든 한국의 전통 발효식품으로, 곡류 단백질에서 부족 되기 쉬운 필수아미노산, 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양학적 우수성을 지닌다.

하지만 된장의 국내 시장은 소비자 패턴의 변화 및 경기 침체로 소비심리가 위축되고, 대형 유통점의 저마진 압박과 유통제품의 안전성 문제가 대두되면서 확장하지 못하고 있다. 된장의 가정 내 사용률은 2007년 기준으로 29.7%로 고추장의 46.6%, 쌈장의 36.1%에 훨씬 미치지 못하고 있는 실정이다. 이는 산업체 된장 제품의 품질이 소비자들의 요구에 미치지 못하며, 홍보도 부족한 때문으로 기술개발이 뒷받침된다면 오히려 된장의 시장 잠재력은 타 장류보다 월등히 크다고 볼 수 있다 (식품유통연감 2008).

최근에 연간 약 120억원 규모의 냉장 장류 시장이 꾸준한 성장으로 시장 판도에 영향을 주고 있다. 냉장 장류 시장은 상온 장류 시장에 비해 아직 규모는 작지만 연간 10% 이상 꾸준히 성장해 잠재력이 큰 시장으로 평가되고 있다. 실제로 2003년 70억원대였던 매출규모가 2006년 100억원대로 증가했고, 2010년에는 300억원대로 커질 것으로 전망되고 있다.

최근 전통 장류시장에 낫토, 미소된장 등 일본 발효식품이 점점 판매가 증가하고 있다. 이들은 일본 음식 특유의 부담이 가지 않는 담백한 맛을 장점으로 과거 일식당에서나 맛 볼 수 있었던 것들이 가공식품으로 일반 가정 식탁에 오르기 시작한 것이다. 아직은 국내 제품에 비교하여 시장규모는 작지만 국내 장류 시장이 정체 현상을 보이는데 반해 일본 식품은 급성장하고 있다는 점과 미래 소비자인 젊은 계층이 이들 식품과 친숙하다는 점을 고려할 때, 그 격차는 점점 줄어들 것으로 예상되고 있다.

○ 우리나라 된장의 생산량은 2000년 133 천톤, 2004년 155천톤, 2007년 163 천톤으로 크게 확장되지 못하고 있는 실정인 반면, 일본, 중국 등에서 수입되는 된장은 점차 증가해 2000년 825톤에서 2005년에는 3,974톤을 수입했으며, 2008년에는 수입량이 3,312천톤을 수입하였다.

전통된장과 관련된 연구로 초기에는 제조 및 담금 방법에 대한 연구가 주를 이루었으나, 최근에는 생리활성에 대한 연구와 기능성을 높이는 된장 제조 방법에 대한 연구가 많이 수행되었다. 현재까지 확인된 된장의 생리활성으로는 돌연변이 억제, 항암, 항산화, 면역 조절, 혈압 강

하, ACE 저해, 혈전 용해능 등이 있다. 그러나 대부분의 연구가 숙성 기간이 1년 미만인 된장을 이용한 연구로 우리나라 독창적인 전통식품인 장기 숙성 전통 된장에 대한 기능성과 유효 성분 및 안전성과 관련된 연구는 전무한 실정이다

제 2 절 국외 현황

미국, 유럽 등 각국에서는 아시아의 낮은 관상동맥 질환과 콩 관련 제품의 섭취와의 관련성이 규명되면서, 대두 가공제품 및 대두 발효제품에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 현재, 성인병 예방의 차원에서 식물성 단백질 섭취를 권장하고 있으며, 학교 급식과 군용식품에 대두 단백질을 첨가하고 있다.

일본은 자국의 전통 장류에 대한 체계적인 연구를 통해 다양한 생리활성(항암, 고혈압, 혈중 콜레스테롤 저하 등)을 홍보하고 있으며, 미소 섭취량과 사망률에 대한 역학조사 결과를 근거로 일본 된장국 섭취빈도를 높이도록 권고하고 있다. 일본의 발표에 따르면 미소 된장국을 매일 먹은 사람은 모든 종류의 암, 동맥 경화성 심장 질환, 고혈압, 위십이지장 궤양, 간경변 등의 의한 사망률이 낮아진다고 하였다.

일본에서도 된장의 가정용 소비는 감소하는 반면, 가공 및 업무용 비중은 높아지고 있다. 이를 타개하기 위해, 일본 미소생산 업체들은 소비자들의 욕구에 부합하는 다양한 제품을 개발하였다. 섭취가 용이하고, 기능성을 강화하였으며, 안전성이 입증된 알콜 무첨가 된장, 저염 된장, 컵조림 용기 된장 등이 시판되었다 (전통장류의 일본 수출시장 분석 보고서, 2002).

일본은 현재 약 1,200개 일본 된장 제조업체가 있다. 그러나 각 회사 제품마다 사용하는 누룩이 다르고 이에 색과 맛이 달라 제각기 독특한 향미를 소유하고 있다. 일본에서는 소화 59년 당시 일본 문부성의 특정 연구를 기회로 세계에 앞서서 식품 기능의 개념이 수립되었고, 기능성 식품이 학술적으로 정의되었다. 식품의 기능을 3개로 나누어 기능성 식품으로 정의하였다. 영양소로서 기능(1차 기능), 인간의 오감에 관련되는 감각 기능(2차 기능) 및 건강·신체 능력·심리상태에 관련되는 생체조절기능(3차 기능)이라고 정의하였다. 된장을 이런 3가지 기능을 만족하는 기능성식품으로 인정을 받아 현재도 연구가 활발하게 진행되고 있다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 재료 및 방법

1. 된장 시료 확보

전통 된장의 잠재 소비자인 20~30대의 기호도가 높은 된장을 개발하기 위한 prototpye 된장을 선정하기위해 국가에서 전통식품으로 인증 받은 된장과 염주 메주 등을 지역별(전라도, 경상도, 경기도, 강원도)로 구입하였다 (표 1). 확보한 시료는 감각적, 화학적, 미생물학적 검사를 수행하였으며, 발효 미생물도 분리하였다. 또한 시판 된장과의 비교를 위하여 현재 시장에서 점유율이 높은 2개 업체의 시판 된장 4종도 함께 구입하였다. 확보한 시료는 4℃ 저온고에 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

표 1. 본 연구에서 사용된 시료 목록

지역	Code	특 징
경기도	SO-02	숙성 2년 된장
	SO-SM	염지메주
전라도	KO-01	숙성 1년 된장
	KO-02	숙성 2년 된장
	KO-03	숙성 3년 된장
	KO-SM	염지메주
	DD-N	햇된장
경상도	JB-02	숙성 2년 된장
강원도	MC-03	숙성 3년 된장
참여기업	SW-03	숙성 3년 된장
	SW-10	숙성 10년 된장
	SW-M	메주
업체 A	SCC-01	우리콩 된장
	SCC-02	재래식 된장
업체 B	HCC-01	구수한 집된장
	HCC-02	재래식 된장

2. 실험방법

가. 이화학적 특성 분석

(1) 수분

수분은 105℃ 건조법으로 분석하였다 (AOAC, 1990). 칭량접시를 105℃ 건조기에서 미리 항량을 구한 뒤 균질화시킨 된장 3g을 정밀히 달아 105℃ 오븐에서 항량이 될 때까지 건조시켰다. 건조기에서 건조시킨 칭량접시는 데시케이터에서 상온으로 한 후 무게를 달아 수분 함량을 측정하여 아래 식에 따라 계산하였다. 아래식에서 A는 시료를 넣기 전 빈 칭량접시의 무게(g)이고, B는 칭량접시와 시료무게의 무게의 합(g)이며, C는 건조 후 항량이 되었을 때의 무게(g)이다.

$$\text{수분 (\%)} = \frac{B - C}{B - A} \times 100$$

(2) 조단백질

균질화된 된장 1g을 취하여 켈달법 (AOAC, 1990)으로 조단백질 함량을 측정하였으며, 이때 질소계수는 5.71을 사용하였다.

(3) 조지방

조지방은 균질화된 된장 5g을 취하여 무수 황산나트륨으로 수분을 제거한 후 원통여지에 넣고 탈지솜으로 시료가 넘지 않도록 한 후 항량이 측정된 지방수기를 장착한 속시렛에 부착하고, 에테르로 지방질을 추출하였다 (AOAC, 1990). 지방수기에 모아진 지방질이 포함된 에테르를 농축기로 농축하여 지방수기의 항량을 구해 아래 식에 따라 조지방 함량을 계산하였다. 아래식에서 W_1 은 항량이 된 지방질이 포함된 지방수기의 무게 (g)이고, W_0 는 빈 지방수기의 무게 (g)이며, S는 시료의 무게 (g)이다.

$$\text{지방질 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

(4) 총탄수화물

된장의 총 탄수화물은 전체 100에서 수분, 조단백질, 조지방, 회분의 함량을 제한 값으로 하였다 (AOAC, 1990).

(5) 회분과 무염성회분

된장 3g을 항량을 알고있는 도가니에 정밀히 달아 전기 난로에서 충분히 예열 후 550℃ 회화로에서 뚜껑을 덮고 회화시켰다. 충분히 회화된 후 회화로에서 꺼내어 데시케이터에서 실온까

지 냉각시킨 후 무게를 달아 아래 식에 따라 회분 함량을 측정하였다. 아래 식에서 W_1 은 회화 후 도가니와 검체 무게의 합 (g)이고, W_0 는 빈 도가니의 무게 (g)이며, S 는 시료의 무게 (g)이다 (AOAC, 1990). 무염성회분의 함량은 회분의 양에서 염분의 양을 제한 값으로 계산하였다.

$$\text{회분 (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

(6) 염도

된장 5g을 취하여 도가니에 넣고 500°C에서 5시간 회화 후 상온으로 된 다음 소량의 증류수를 조심스럽게 가하여 잘 녹여서 Mohr법 (AOAC, 1990)으로 측정하였다. 녹인 액을 여과지 (Watman #1)로 여과하여 여액을 200mL 정용플라스크에 옮긴 후 물을 가하여 눈금까지 채운다. 여기에서 10mL를 취하여 2% 크롬산 용액 0.1mL를 가하고, 0.02N 질산은 용액으로 연분홍색이 될 때까지 적정하고 다음 식에 따라 염분의 양을 계산하였다. 여기에서 A 는 적정에 소비된 0.02N 질산은 용액의 소비량(mL)이고, f 는 0.02N 질산은 용액의 농도 계수이다.

$$\text{염분 (\%)} = A \times 0.00117 \times f \times \frac{200}{5} \times \frac{100}{10}$$

(7) 아미노태질소

된장의 아미노태 질소는 한국산업규격 KS H 2115 (된장)의 방법에 따라 시험하였다. 균질화된 된장 5g을 비이커에 넣고 증류수 100mL를 가한 후 잘 혼합한다. 혼합액에 0.1N 수산화나트륨 용액을 한 방울 씩 pH 8.4가 될 때까지 넣는다. 반응액에 20mL의 중성 포르말린을 가하고, 다시 pH 8.4가 될 때까지 0.1N 수산화나트륨 용액으로 적정하여, 아래 식에 따라 계산하였다. 아래 식에서 A 는 시료 용액 중화에 소비된 0.1N 수산화나트륨 용액의 mL 수, B 는 바탕 시험에서 소비된 0.1N 수산화나트륨 용액 mL 수, f 는 0.1N 수산화나트륨 농도 계수이고 S 는 시료 채취량이고, D 는 희석배수이다.

$$\text{아미노태 질소 (mg\%)} = \frac{(A - B) \times D \times f \times 1.4}{S} \times 100$$

(8) pH와 적정 산도

균질화된 시료 2g에 증류수 30mL를 넣고 충분히 혼합한 후 초기 pH를 측정하고, 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 첨가하였다. 시료 g당 소비된 수산화나트륨 용액의 소비 mL를 적정산도로 하였다.

(9) 색도

수집된 된장을 직경 5 cm, 높이 5 mm의 원형 플라스틱 통에 균일하도록 잘 펴서 넣은 후, 색

도계(CE-310, Macbeth, Minolta, Japan)를 이용하여 Hunter value인 L, a, b값과 ΔE 값을 구하였다 (Hytcgubgsm 1994).

나. 미생물학적 품질 평가

(1) 일반세균

일반세균수는 표준평판법(식품공전, 2010)으로 분석하였다. 시료 10 g에 멸균된 인산 완충 희석액 225 mL를 넣고 균질기(BagMixer[®]400, Interscience, Saint-Nom la Bretèche Arpents, France)로 2분간 균질화 시킨 후 시험액 1 mL를 취한 후 멸균된 인산완충용액 9 mL으로 단계 희석하였다. 각 단계 희석액 1 mL를 평판에 분주하고 plate count agar(Merck, Darmstadt, Germany)를 약 15 mL씩 부어 고르게 혼합한 후 37°C에서 24-48 시간 배양하여 성장한 집락수를 측정하였다. 일반 세균수는 배지에 소금을 농도(0.85%, 5%, 10%)를 달리하여 첨가한 후 측정하였다.

(2) 곰팡이수 및 아플라톡신 생성 균주

곰팡이수는 식품공전 (2010)에 따라 실험하였다. 일반세균수와 동일한 방법으로 희석액을 조제한 후 10% tartaric acid를 첨가하여 pH를 3.5로 조정된 potato dextrose agar (PDA, Merck)에 시험액 0.2 mL를 넣고 도말하여, 25°C에서 7~10일 배양 후 성장한 진균류와 효모수를 측정하였다(21). 또한 된장의 염도가 10% 정도 인 것을 고려하여, 소금 농도를 달리한 PDA 배지 (0.85%, 5%, 10%)를 사용하였다.

아플라톡신을 생산하는 것으로 알려진 *Aspergillus flavus* 와 *A. parasiticus*의 정성분석은 시료 40g을 0.1% 펩톤수 200mL에 넣고 30분간 섞어주었다. 0.1% 펩톤수로 1:10, 1:20, 1:40의 비율로 희석하여 희석액 0.1mL를 AFPA base (Oxoid)에 chloramphenicol selective supplement (Oxoid)를 섞어서 미리 균힌 플레이트에 넣고 희석 배양후 30°C에서 42시간 배양하여, 플레이트 뒷면이 노란색/오렌지색인 균이 확인되면 균수를 계측하였다.

(3) 대장균(*Echerichia coli*)

대장균은 식품공전 (2010)에 따라 실험하였다. 일반세균수와 동일한 방법으로 조제한 희석액 1mL를 3개의 EC 배지 (Merck)에 접종하고 44.5°C에서 24시간 배양한 후 가스 발생이 인정되지 않은 발효관은 추정시험 음성으로 하고, 가스발생이 인정된 발효관은 추정시험 양성으로 하였다. 추정시험 양성인 경우 해당 EC 발효관으로부터 1 백금이를 EMB(Merck), Endo(Merck), chromocult coliform agar(Merck)에 희석 도말하여 37°C에서 24시간 배양하여 각 선택배지별로 전형적인 집락을 선택하여 tryptic soy agar(TSA, Merck)에서 희석 배양하여 Vitek[®]2compact

(bioMérieux)로 최종 확인하였다.

(4) 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)

황색포도상구균은 식품공전 (2010)에 따라 분석하였다. 시료 25g을 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (Merck) 225mL에 접종하여 36℃에서 16시간 배양한 후, 증균 배양액 1 백금을 Baired-Parker agar(Merck)와 Baired Parker-REF(bioMérieux)에 희선 접종하여 35℃에서 45-48 시간 배양하였다. 배양 후 성장한 집락 주변에 투명한 띠가 있으며, 광택이 있는 검은색 둥근 집락이 확인되면, TSA (Merck)에 희선 도말하고 30℃에서 24 시간 배양한 후 Vitek[®]2compact (bioMérieux)로 최종 확인하였다.

(5) 살모넬라균 (*Salmonella* spp.)

살모넬라균은 식품공전(2010)에 따라 시료 25 g에 225 mL의 peptone water를 가한 후 균질기 (BagMixer[®]400,Interscience)로 2분간 균질화 시키고 35℃에서 18-20 시간 배양하였다. 배양액 0.1 mL를 10 mL의 Rappaport-Vassiliadis broth(Merck)에 접종하고 42℃에서 24 시간 2차 증균 배양하였다. 증균 배양액을 다시 XLD agar(Merck)와 Rambach agar(Merck)에 희선 도말하여 35℃에서 24 시간 배양하여 의심되는 집락을 TSA(Merck)에 옮겨 배양하고 Vitek[®]2compact (bioMérieux)로 최종 확인하였다.

(6) 리스테리아 모노사이토제네스 (*Listeria monocytogenes*)

리스트리아 모노사이토제네스는 식품공전(2010)에 따라 정성분석을 실시하였다. 시료 25 g에 225 mL의 Listeria enrichment broth(Merck)를 가하여 균질기(BagMixer[®]400,Interscience)로 2 분간 균질화 시킨 후 30℃에서 24시간 배양하였다. 증균배양액을 Palcam agar(Merck)에 희선 도말하고, 30℃에서 24-48시간 배양하여, 전형적인 집락을 TSA(Merck)에서 분리 배양하여, Vitek[®]2 compact(bioMérieux)로 최종 확인하였다

(7) 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*) 정량 분석

바실러스 세레우스 분석은 식품공전(2010)에 따라 실시하였다. 시료 25 g에 멸균된 인산 완충 희석액 225 mL를 가하여 균질기(BagMixer[®]400,Interscience)로 2분간 균질화하고 시험액 1 mL를 취하여 멸균된 인산완충 희석액 9 mL에 단계 희석하였다. Mannitol-egg-yolk-polymyxine agar (MEYP, Merck)에 각 단계 희석액을 0.2 mL씩 5장에 도말하여 총 접종액이 1 mL가 되게 한 후 30℃에서 24시간 배양하였다. 성장한 집락 주변에 lecithinase를 생성하는 혼탁한 환이 있는 분홍색 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 TSA (Merck)에 희선 도말하고, 30℃에서 24시간 배양한 후 Vitek[®]2compact (bioMérieux)로 최종 확인하였다.

다. 미생물학적 특성 분석

(1) 분리균주 보관 및 활성화

발효 미생물을 분리하기 위하여 분리 배지에 메주는 소금을 첨가하지 않고, 된장은 소금을 5-10% 첨가하여 분리하였다. 세균은 PCA를, 곰팡이는 tartaric acid를 첨가한 PDA를 유산균은 BCP 배지를 사용하여, 각 플레이트 중 20-30개 성장한 플레이트를 선발하여, 성장한 모든 균을 선발하여 보관하였다. 세균은 tryptic soy agar (Merck), 진균류는 PDA (Merck), 효모는 YM (BBL) agar, 유산균은 MRS (BBL) 배지에 접종하여 4 °C에 보관하였으며, 동시에 glycerol stock도 제조하여, -70°C 냉동고에서 보관하였다. 사용전 각 균주는 최적 배지에서 2차이상 계대배양하여 충분히 활성화하여 사용하였다.

(2) 탁도와 생균수

세균의 균수 및 탁도 측정은 BioPhotomer (Eppendorf, Hamburg, Germany)와 Multi detection microplate reader (BioTek instrument, Winooski, VT, USA)를 사용하여 600nm에서 측정하였으며, 생균수는 일반세균수와 동일한 표준평판법 (식품공전, 2010)으로 시험하여 집락수가 25-250 CFU/plate된 플레이트를 선발하여 정량하였다.

진균류의 접종을 위한 농도 평가 및 균수 측정은 CLSI (2011) 기준에 따랐다. 충분히 자란 PDA 플레이트에 생리적 식염수 1mL를 균 위에 떨어뜨리고, 표면을 잘 긁어서 생리적 식염수와 잘 섞은 후, tween 20을 한 방울 떨어뜨린 후 다시 잘 섞어주었다. 섞인 균액을 멸균된 원심분리관에 넣고 3~5분간 방치하여 상층액을 모아서 충분히 혼합하여 BioPhotomer (Eppendorf)로 OD값을 측정 후 희석하여 사용하였다.

(3) 수분활성도

시료의 수분활성도는 균질하게 혼합하여 일정한 양을 시료컵에 넣고, Lab Swift- a_w (Novasina Ag, Lachen, Switzerland)를 사용하여 측정하였다.

(4) 콩물배지 제조

선발하여 세척된 대두를 12시간 수침시켜 불린 후, 파쇄후 시료의 3배가 되도록 첨가한 후 30분 정도 끓인 후 여과하여 5,000 rpm에서 30분간 원심분리 후 얻어진 상등액을 멸균하여 배지로 사용하였다. 제조한 콩물배지는 660 nm에서 탁도를 측정하여 OD 값이 2.0 이하가 되도록 희석하여 사용하였다.

(5) 미생물 growth kinetic 분석

발효미생물의 growth kinetic 분석은 온도구별 사용 배지별로 일정기간 배양하면서 탁도와 생

균수를 측정된 다음, 유도기 기간 (lag phase), 최대성장률(maximum growth rate) 등을 *Baranyi & Roberts equation*으로 분석하였다.

(6) 미생물 동정

선발된 세균의 동정은 16S ribosomal DNA sequencing 방법으로 수행하였다. 분리 균주의 chromosomal DNA를 Wizard genomic DNA purification kit(Promega, USA)를 이용해 분리한 후 16S rRNA sequencing에 사용하는 universal primer인 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3')와 1492R (5'-GGATACCTTGTTACGACTT-3') primer를 사용하여 PCR 증폭하였다(Yoon 등 1996). 증폭된 PCR 산물은 Wizard SV Gel and PCR clean-up system(Promega, USA)을 이용하여 정제하였으며, 정제된 PCR 산물은 ABI PRISM 3730 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석 하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 ClustalW 와 Mega 4 program을 이용하여 비교분석하였다(Thompson 등, 1994).

Mould의 동정은 ITS-5.8S rDNA sequencing 방법으로 수행하였다. 분리 균주의 chromosomal DNA는 균사체를 saline solution(0.8% NaCl, 0.0125% tween 20)에 현탁 후 원심분리를 통하여 균사체를 획득하였다. 얻어진 균사체에 lysis buffer(0.05M EDTA(pH8.0), 0.3% SDS)가 한 후 10분간 방치하였다. 상등액을 취하여 멸균된 glass bead를 이용하여 균사체를 파쇄하였다. 원심분리(14,000rpm, 3분)후 상등액을 취하여 동일 부피의 isopropanol을 가하여 genomic DNA를 침전 시켰다. 원심분리에 의해 얻어진 genomic DNA는 70% ethanol을 이용하여 세척을 하였다. 얻어진 genomic DNA는 미량의 멸균수를 첨가한 하여 현탁 60°C에서 1시간 처리한 후 PCR에 사용하였다. PCR은 ITS-5.8S rDNA sequencing에 사용하는 universal primer인 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')와 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primer를 사용하여 수행하였다(White 등 1990, Carbone 등 1993). 증폭된 정제된 PCR 산물은 ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing kits (Applied Biosystems Co.)를 사용하여 ABI PRISM 3730XL Analyzer (96 capillary type) 를 통해 염기서열을 분석 하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 Clustal X 와 Mega 2 program을 이용하여 비교분석하였다(Thompson 등, 1994).

효모의 동정은 18S ribosomal DNA sequencing 방법으로 수행하였다. 실험 균주의 chromosomal DNA를 Wizard genomic DNA purification kit(Promega, USA)를 이용해 분리한 후 18S rRNA sequencing에 사용하는 universal primer인 NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGCTC-3')와 NS8 (5'-TCCGCTGGTTCACC TACGGA- 3')를 사용하여 PCR 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물은 Wizard SV Gel and PCR clean-up system(Promega,

USA)을 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR 산물은 ABI PRISM 3730XL DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석 하였다. 그 결과는 BLASTN 프로그램을 이용하여 GENE BANK의 ribosomal DNA sequence와 비교하였으며, sequence의 상동성은 Clustal X 와 Mega 2 program을 이용하여 비교분석하였다 (Thompson 등, 1994).

라. 감각적 특성 평가

(1) 관능검사를 위한 패널 훈련 및 선발

본 연구에서 선정할 Prototype의 전통 된장의 묘사 분석 위하여 원내 패널 요원 모집(그림 1) 과 1차 패널 평가 및 선발을 하였고, 2차 패널 훈련을 통하여 최종적으로 묘사 분석에 참여하도록 하였다. 이때 패널 요원 선발에 사용한 방법은 된장의 냄새와 맛을 구분할 수 있는지 표시하게 하여 선발하였다. 수집된 된장을 한 세트로 하여 총 5세트를 된장의 색을 구분할 수 없도록 갈색병에 1g씩 넣은 후 잘 밀봉하고, 대조구로는 각 지역의 3년 숙성 된 참여업체의 된장으로 하였다. 냄새 평가의 경우 제시된 된장 (5세트, 3세트)과 각각의 대조구(3년 숙성 된장)와 동일한 냄새를 가지는 시료를 찾아 표시하게 하였다 (그림 2). 본 과제의 관능검사에 지원한 요원은 한국식품연구원에 근무하고 있는 30여명이 지원하였고, 냄새 평가 시험에서 12명을 선발하였다.

(2) 된장의 관능적 프로파일 분석

선발된 패널 요원을 이용하여 훈련과 함께 시판되는 전통된장의 관능적 묘사분석을 하여, 전통 된장의 감각적 특징을 묘사할 용어를 도출하였으며, 이들 묘사 용어를 이용하여 소비자 기호도 검사의 질문지 항목에 사용되었다.

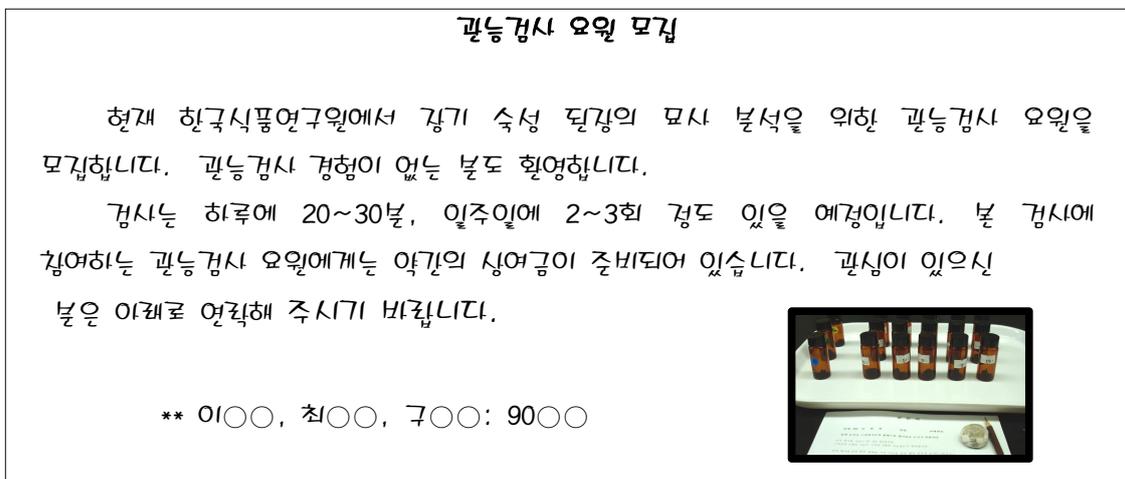


그림 1. 관능검사 요원 모집 공고 및 시료 준비

설문지

날짜: 200 년 월 일 성명: 원내번호:

앞에 놓여진 <<된장시료의 냄새>>를 평가하여 주시기 바랍니다.

먼저 제시될 시료는 R1, R2, R3입니다.
그다음은 5개의 시료로 구성된 3쌍의 시료세트가 제공됩니다.

먼저 제시된 R과 같은 냄새를 가진 시료를 골라 해당 번호에 표시(V)하십시오.

- | | | | | | | |
|----|-----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1. | <input type="checkbox"/> R1 | 564 () | 823 () | 796 () | 201 () | 684 () |
| 2. | <input type="checkbox"/> R2 | 999 () | 625 () | 415 () | 538 () | 319 () |
| 3. | <input type="checkbox"/> R3 | 670 () | 241 () | 831 () | 287 () | 139 () |

설문지

날짜: 20 년 월 일 성명: 원내번호:

앞에 놓여진 <<된장시료의 냄새>>를 평가하여 주시기 바랍니다.

먼저 제시될 시료는 R1, R2, R3, R4, R5입니다.
그다음은 3개의 시료로 구성된 5쌍의 시료세트가 제공됩니다.

먼저 제시된 R과 같은 냄새를 가진 시료를 골라 해당 번호에 표시(V)하십시오.

- | | | | | |
|----|-----------------------------|------------|------------|------------|
| 1. | <input type="checkbox"/> R1 | 902 () | 758 () | 850 () |
| 2. | <input type="checkbox"/> R2 | 169 () | 535 () | 348 () |
| 3. | <input type="checkbox"/> R3 | 500 () | 879 () | 212 () |
| 4. | <input type="checkbox"/> R4 | 613 () | 266 () | 494 () |
| 5. | <input type="checkbox"/> R5 | 231 () | 310 () | 187 () |

그림 2. 전통 된장의 평가를 위한 설문지 양식

소비자 기호도 검사

- 목적 : Prototype의 전통 된장 선정을 위한 검사
- 자격 : 연구원에 근무하고 있는 모든 분(경험이 없어도 됨)
- 장소 : 관능검사실
- 날짜 : 1차 5.24(화)- 24(수), 2차 5. 26(목)-5.27(금)
- 시간 : 오전 10:00-12:00, 오후 1:30-5:00
- 참여료: 검사(2회)에 참여하는 분께 일만원에 해당하는 물품

연락처 : 유통연구단 9045(이경이), 9052(구경영)



그림 3. 소비자 기호도 검사 요원 모집 공고

(3) Prototype 된장 선정을 위한 소비자 기호도 검사

Prototype 된장 선정을 위해 확보한 전통 된장을 수집하여 한국식품연구원에 근무하고 있는 직원(연구원, 행정원 등) 100명을 대상으로 기호도 검사를 2회 실시하였다. 그림 3은 소비자 검사를 위한 원내 공고로 소비자 기호도 검사에 참여할 분들을 모집하였고, 이때 참여한 패널은 관능검사 경험자와 무경험자 함께 참여하였다. 기호도 검사 전 부록에 첨부한 “된장의 소비 실태 및 관능검사” 조사도 같이 수행하였다.

마. 통계처리

이화학적 분석 결과와 관능검사 결과는 SAS program (SAS Institute Inc., North Carolina, USA)과 SPSS program(SPSS 12.0 for windows, SPSS Inc.)을 이용하여 분산 분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test로 유의성 검증 및 군집분석을 실시하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 된장의 미생물학적 품질 평가

가. 위해미생물 모니터링

확보한 된장 및 메주(표 1)의 위해미생물 4종 (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*)을 정성분석 결과는 표 2와 같다. 시험한 모든 시료에서 *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* 등의 위해미생물 4종은 검출되지 않았다. 독소형 식중독균인 *B. cereus*의 정량분석 결과는 표 3과 같다. 된장은 식품위생법에서 10,000 CFU/g 이하로 *B. cereus*로 규제하고 있는데, 분석한 시료 중 두 개의 된장이 이 기준을 초과하였다.

표 2. 된장 위해미생물 모니터링

Food borne Pathogens	SO	KO	JB	SW
대장균 (<i>E. coli</i>)	불검출	불검출	불검출	불검출
황색포도상구균 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	불검출	불검출	불검출	불검출
살모넬라균 (<i>Salmonella</i> spp.)	불검출	불검출	불검출	불검출
리스테리아 모노사이토제네스 (<i>L. monocytogenes</i>)	불검출	불검출	불검출	불검출

나. 미생물 분포

된장의 발효 미생물 분포를 확인하기 위하여, 일반세균수와 곰팡이수를 측정한 결과는 표 3과 같다. 메주의 발효미생물은 분리 배지에 소금을 첨가하지 않고 분리하였고, 염지메주 및 된장의 발효 미생물은 분리 배지에 소금을 10% 첨가하여 분석하였다. 1년 이상 숙성 된장에서 일반세균수는 6.2~8.3 log CFU/g 였으며, 곰팡이는 메주, 염지메주 및 햇 된장에서는 검출되었으나(그림 4), 발효 숙성된 된장에서는 대부분이 검출되지 않았다. 된장 및 메주의 미생물 분포는 표 3과 같다.



그림 4. 메주 및 된장에서 분리된 곰팡이

표 3. 된장 및 메주의 미생물학적 평가

(단위 : log CFU/g)

시료	Total viable cell count	Fungi	<i>Bacillus cereus</i>
SO-02	8.1	*	4.1
SO-SM	9.2	0.9	5.7
KO-03	6.2	-	3.9
KO-SD	7.5	3.2	5.2
KO-SM	8.6	5.1	2.7
DD-N	6.3	2.9	-
JB-02	8.0	-	5.0
SW-03	8.3	1.5	2.2
SW-M	>8	5.4	-

*, not detected

다. 염도에 따른 세균수 변화

된장의 상재 미생물의 소금에 따른 영향을 알아보기 위하여, 동일한 시료를 소금농도를 0%, 5%, 10%로 달리하여 일반 세균수를 측정하였다. 그림 5에서 보는 바와 같이, 분리 배지의 소금 농도 0%와 5%에서는 균수의 차이가 거의 없었으나, 10%에서는 균수가 1 log 정도 감소하였다. 따라서 2년 이상 숙성된 전통 된장에 존재하는 발효미생물은 5%의 소금농도에 대해서는 큰 영향을 받지 않으며, 10%의 높은 소금 농도 하에서도 저항성이 있는 세균이 많이 존재하는 것으로 예상되어 발효 미생물 선발시 염에 대한 저항성이 있는 균을 분리하기 위하여 분리 배지에 소금을 첨가하였다.

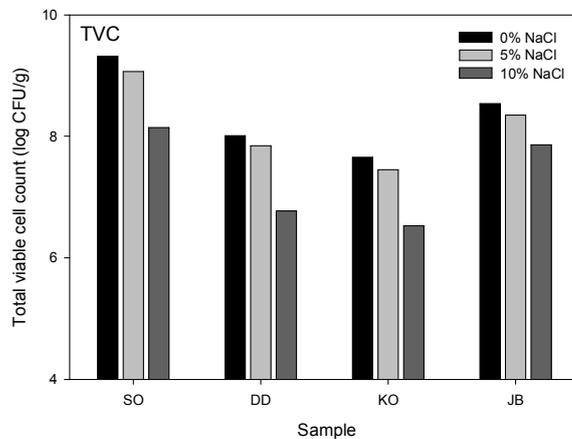


그림 5. 소금 농도에 따른 일반세균수의 변화

라. 발효미생물 분리 및 보관

확보한 된장 및 메주에서 발효미생물 선발을 위해 세균, 진균류, 효모, 및 유산균을 분리하였다. 곰팡이류중 진균류는 그림 6에서 보는 바와 같이 형태를 가진 39종이 분리되었으며, 효모는 30개를 분리하였다. 세균은 150 종, 유산균도 15종을 분리, 확보하였으며 목록은 표 4와 같다.

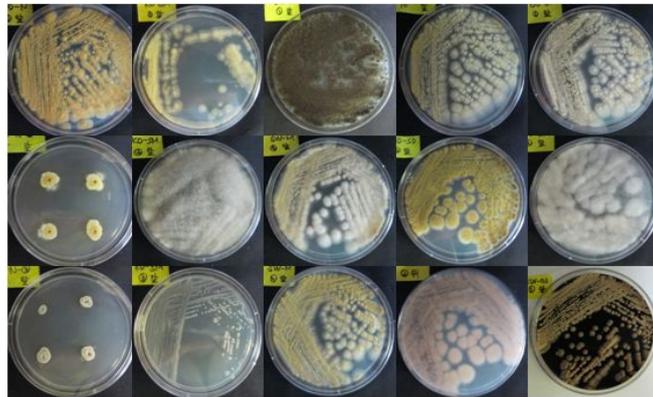


그림 6. 메주와 된장에서 분리된 곰팡이들의 PDA 배지에서의 형태

2. 된장의 감각적 특성 평가 및 prototype 된장 선정

가. 된장의 관능적 프로파일 분석

본 연구는 전통 된장의 향미를 감각·화학적으로 분석하고, 상관관계를 도출하여 된장의 향미 프로파일을 작성하고, 주성분 분석을 통하여 도출된 향미 지표를 중심으로 향미 프로파일에 기여하는 미생물을 선정하여, 선정된 향미를 가진 된장을 생산하기 위한 공정을 개발하기 위한 연구이다. 본 연구팀은 선행연구를 통해 우리나라 전통 된장은 숙성 2-3년까지는 구수한 냄새, 감칠맛이 증가하였지만, 그 이상 숙성된 된장은 후미의 신맛, 쓴 맛이 강해진다는 것을 밝혔다. 따라서 본 연구에서는 관능적 프로파일 및 기호도 분석에 국가에서 인증 받은 전통 된장으로 2-3년 숙성된 된장을 사용하였다. 선발되고 훈련된 패널 요원이 전통된장의 관능적 묘사분석을 수행하여 표 5과 같은 전통 된장을 묘사할 수 있는 용어를 도출하였으며, 이들 묘사 용어를 이용하여, 소비자 기호도 검사의 질문지 항목 및 전통 된장의 관능적 묘사시 사용되었다

표 4. 메주와 된장에서 분리된 미생물 목록

Mold	Code			Mold	Code			Yeast	Code		Yeast	Code	
1	DJ-DD	09	2	21	DJ-MC	08	1	1	12-Y-DD-DJ-500-2	16	12-Y-KO-DJ-500-6		
2	DJ-DD	09	3	22	DJ-MC	08	2	2	12-Y-DD-DJ-500-3	17	12-Y-KO-DJ-500-7		
3	DJ-DD	09	4	23	DJ-MC	08	3	3	12-Y-DD-DJ-500-4	18	12-Y-KO-DJ-500-8		
4	DJ-DD	11	5	24	DJ-MC	08	4	4	12-Y-DD-DJ-500-5	19	12-Y-KO-DJ-500-9		
5	DJ-DD	11	6	25	DJ-MC	08	5	5	12-Y-DD-DJ-500-6	20	12-Y-KO-DJ-500-10		
6	DJ-DD	11	7	26	DJ-MC	08	6	6	12-Y-DD-DJ-500-11	21	12-Y-SW-DJ-500-1		
7	DJ-DD	11	8	27	DJ-MC	08	7	7	12-Y-DD-DJ-500-12	22	12-Y-SW-DJ-500-2		
8	DJ-HL	09	1	28	DJ-MC	08	8	8	12-Y-DD-DJ-500-13	23	12-Y-SW-DJ-500-3		
9	DJ-HL	09	2	29	DJ-MC	08	9	9	12-Y-DD-DJ-500-14	24	12-Y-SW-DJ-500-4		
10	DJ-HL	09	3	30	DJ-SC	11	1	10	12-Y-DD-DJ-500-15	25	12-Y-SW-DJ-500-5		
11	DJ-HL	09	4	31	DJ-SO	09	1	11	12-Y-KO-DJ-500-1	26	12-Y-SW-DJ-500-14		
12	DJ-HL	09	5	32	DJ-SO	11	2	12	12-Y-KO-DJ-500-2	27	12-Y-SW-DJ-500-15		
13	DJ-KO	09	1	33	DJ-SW	11	1	13	12-Y-KO-DJ-500-3	28	12-Y-SW-DJ-500-16		
14	DJ-KO	09	2	34	DJ-SW	11	2	14	12-Y-KO-DJ-500-4	29	12-Y-SW-DJ-500-17		
15	DJ-KO	09	3	35	DJ-SW	11	3	15	12-Y-KO-DJ-500-5	30	12-Y-SW-DJ-500-18		
16	DJ-KO	11	5	36	DJ-SW	11	4						
17	DJ-KO	11	6	37	DJ-SW	11	5						
18	DJ-KO	11	7	38	DJ-SW	11	6						
19	DJ-KO	11	8	39	DJ-SW	11	7						
20	DJ-KO	11	9										

Bacteria	code			Code			code			Code	
1	DJ-B	SO-SM-1	41	DJ-B	KO-SD-4	81	DJ-B	DD-N-7	121	DJ-B	SW-M-11
2	DJ-B	SO-SM-2	42	DJ-B	KO-SD-5	82	DJ-B	DD-N-8	122	DJ-B	SW-M-12
3	DJ-B	SO-SM-3	43	DJ-B	KO-SD-6	83	DJ-B	DD-N-9	123	DJ-B	SW-M-13
4	DJ-B	SO-SM-4	44	DJ-B	KO-SD-7	84	DJ-B	DD-N-10	124	DJ-B	SW-M-14
5	DJ-B	SO-SM-5	45	DJ-B	KO-SD-8	85	DJ-B	DD-N-11	125	DJ-B	SW-M-15
6	DJ-B	SO-SM-6	46	DJ-B	KO-SD-9	86	DJ-B	DD-N-12	126	DJ-B	SW-M-16
7	DJ-B	SO-SM-7	47	DJ-B	KO-SD-10	87	DJ-B	DD-N-13	127	DJ-B	SW-M-17
8	DJ-B	SO-SM-8	48	DJ-B	KO-SD-11	88	DJ-B	DD-N-14	128	DJ-B	SW-M-18
9	DJ-B	SO-SM-9	49	DJ-B	KO-SD-12	89	DJ-B	DD-N-15	129	DJ-B	SW-M-19
10	DJ-B	SO-SM-10	50	DJ-B	KO-SD-13	90	DJ-B	DD-N-16	130	DJ-B	SW-M-20
11	DJ-B	SO-SM-11	51	DJ-B	KO-SD-14	91	DJ-B	DD-N-17	131	DJ-B	SW-03-1
12	DJ-B	SO-SM-12	52	DJ-B	KO-SD-15	92	DJ-B	DD-N-18	132	DJ-B	SW-03-2
13	DJ-B	SO-SM-13	53	DJ-B	KO-SD-16	93	DJ-B	DD-N-19	133	DJ-B	SW-03-3
14	DJ-B	SO-SM-14	54	DJ-B	KO-SD-17	94	DJ-B	DD-N-20	134	DJ-B	SW-03-4
15	DJ-B	SO-SM-15	55	DJ-B	KO-SD-18	95	DJ-B	MC-M-1	135	DJ-B	SW-03-5
16	DJ-B	SO-SM-16	56	DJ-B	KO-SD-19	96	DJ-B	MC-M-2	136	DJ-B	SW-03-6
17	DJ-B	SO-SM-17	57	DJ-B	KO-SD-20	97	DJ-B	MC-M-3	137	DJ-B	SW-03-7
18	DJ-B	SO-SM-18	58	DJ-B	KO-03-1	98	DJ-B	MC-M-4	138	DJ-B	SW-03-8
19	DJ-B	SO-SM-19	59	DJ-B	KO-03-2	99	DJ-B	MC-M-5	139	DJ-B	SW-03-9
20	DJ-B	SO-SM-20	60	DJ-B	KO-03-3	100	DJ-B	MC-M-7	140	DJ-B	SW-03-10
21	DJ-B	KO-SM-1	61	DJ-B	KO-03-4	101	DJ-B	MC-M-8	141	DJ-B	SW-03-11
22	DJ-B	KO-SM-3	62	DJ-B	KO-03-5	102	DJ-B	MC-M-9	142	DJ-B	SW-03-12
23	DJ-B	KO-SM-5	63	DJ-B	KO-03-6	103	DJ-B	MC-8-1	143	DJ-B	SW-03-13
24	DJ-B	KO-SM-6	64	DJ-B	KO-03-7	104	DJ-B	MC-8-3	144	DJ-B	SW-03-14
25	DJ-B	KO-SM-7	65	DJ-B	KO-03-8	105	DJ-B	MC-8-5	145	DJ-B	SW-03-15
26	DJ-B	KO-SM-8	66	DJ-B	KO-03-9	106	DJ-B	MC-8-7	146	DJ-B	SW-03-16
27	DJ-B	KO-SM-9	67	DJ-B	KO-03-10	107	DJ-B	MC-8-8	147	DJ-B	SW-03-17
28	DJ-B	KO-SM-10	68	DJ-B	KO-03-11	108	DJ-B	MC-8-9	148	DJ-B	SW-03-18
29	DJ-B	KO-SM-11	69	DJ-B	KO-03-12	109	DJ-B	MC-8-10	149	DJ-B	SW-03-19
30	DJ-B	KO-SM-12	70	DJ-B	KO-03-13	110	DJ-B	MC-8-11	150	DJ-B	SW-03-20
31	DJ-B	KO-SM-13	71	DJ-B	KO-03-14	111	DJ-B	SW-M-1			
32	DJ-B	KO-SM-14	72	DJ-B	KO-03-15	112	DJ-B	SW-M-2			
33	DJ-B	KO-SM-15	73	DJ-B	KO-03-16	113	DJ-B	SW-M-3			
34	DJ-B	KO-SM-16	74	DJ-B	KO-03-17	114	DJ-B	SW-M-4			
35	DJ-B	KO-SM-17	75	DJ-B	DD-N-1	115	DJ-B	SW-M-5			
36	DJ-B	KO-SM-18	76	DJ-B	DD-N-2	116	DJ-B	SW-M-6			
37	DJ-B	KO-SM-19	77	DJ-B	DD-N-3	117	DJ-B	SW-M-7			
38	DJ-B	KO-SM-20	78	DJ-B	DD-N-4	118	DJ-B	SW-M-8			
39	DJ-B	KO-SD-1	79	DJ-B	DD-N-5	119	DJ-B	SW-M-9			
40	DJ-B	KO-SD-3	80	DJ-B	DD-N-6	120	DJ-B	SW-M-10			

표 5. 숙성 된장의 묘사 분석 결과

묘사 항목	시료 A	시료 B	시료 C
외관	입자가 불균일하다 색은 많이 짙은 갈색 수분이 너무 많아 보인다.	짙은 갈색 수분이 많아보임	입자 균일하다 색은 짙은 갈색(고동색) 수분이 많아 보인다.
냄새평가	짚내 강하다 조선간장냄새 강하다. 카라멜냄새 강하다. 구수한 냄새가 약하다*	조미료냄새 강함 간장냄새 구수한냄새 짚내 곰팡이내	구수한냄새 강함 진간장냄새 짚내 콩비린내 단내 조미료내
향미평가	짚맛 강하다 단맛 약하다 구수한 맛이 적당하다** 조선간장맛 감칠맛(조미료맛)	짚맛 강하다 감칠맛 강하다 단맛 간장맛 매운맛 쓴맛	짚맛 강하다 감칠맛(조미료맛) 구수한맛 단맛 신맛 아린맛 집된장 맛과 가장 유사하다.
조직감	촉촉하고 부드럽다	시료중 부드럽다.	매우부드럽다 촉촉하다. 먹고난후 깔끔하다.
후미	짚맛 구수한맛 감칠맛 간장맛	쓴맛 짚맛	뽀은맛 입안에 코팅된 느낌 쓴맛 아리다.

* 발효가 잘된 된장의 고유한 냄새; ** 발효가 잘된 된장의 고유한 맛

나. 기호도 검사

(1) 된장의 소비실태 조사

된장의 기호도 검사는 2회에 걸쳐 수행되었으며, 1회 또는 2회 기호도 검사에 참여한 104명의 소비자의 된장 소비 실태를 조사한 결과는 표 6과 같다. 연령 분포는 20대가 90명, 30대 9명, 40대 1명, 50대 이상이 4명으로 나타나 본 기호도 검사의 결과는 20대가 선호하는 된장의 기호도인 것으로 판단되었다. 기호도 검사에 참여한 패널의 경우 가정에서 구입을 하거나 주위에서 얻어 섭취하는 경우가 약 85.6%(89명)으로 상품 된장을 선호하고, 구매 빈도는 대부분이 3달-1년에 한번 정도 구매하였다. 구입 시 주요 고려 사항은 64명이 맛이 가장 중요하고, 18명이 브랜드도 중요하다고 하였다. 된장 구입 장소는 대형 할인 매장이거나 마트에서 구입하고, 고향이 주로 서울, 경기도가 67명으로 가장 많았다. 선호하는 된장은 서울, 경기도, 전라도 산을 좋아한다고 하였다. 즉 본 된장 소비자 기호도 검사 결과는 주로 서울, 경기도에 거주하는 20대 소비자가 좋아하는 전통 된장이라고 판단할 수 있다.

표 6. 소비자 기호도에 참여한 패널들의 소비실태 결과 (n=104)

	항목	빈도(명)	백분율(%)
연령	20대	90	86.5
	30대	9	8.7
	40대	1	1.0
	기타	4	3.8
된장	직접 담가 먹는다	14	13.5
	구입해서 먹는다	58	55.8
	주위에서 얻어 먹는다.	31	29.8
	기타	1	1.0
구매빈도	한달에 한번	1	1.4
	3달에 한번	20	29.0
	6개월에 한번	28	40.6
	1년에 한번	17	24.6
	기타	3	4.3
된장구매시 주요 고려사항	맛	64	68.8
	가격	4	4.3
	원료의 원산지	7	7.5
	브랜드	18	19.4
된장 구입 장소	동네일반 슈퍼마켓	3	3.3
	대형 할인매장 혹은 마트	76	84.4
	백화점 내 슈퍼마켓	3	3.3
	재래시장-찬가게	4	4.4
	기타	4	4.4
된장 사용빈도	이틀이나 삼일에 한번	38	36.5
	일주일에 한번	54	51.9
	기타	12	11.5
짠정도	싱겁다	6	5.8
	보통이다	79	76.0
	짜다	19	18.3
고향	서울, 경기도	67	64.4
	강원도	2	1.9
	충청도	12	11.5
	전라도	7	6.7
	경상도	15	14.4
	기타	1	1.0
선호지역	서울, 경기도	42	40.4
	강원도	4	3.8
	충청도	14	13.5
	전라도	24	23.1
	경상도	13	12.5
	기타	7	6.7

(2) 된장의 기호도 및 강도 검사

제 1 세부과제에서 수집한 전통 된장 및 참여기업 된장의 기호도 및 강도 검사를 수행한 결과는 표 7과 같다. 표 7에서 보는 바와 같이, 전체적인 기호도의 경우 A사 된장이 가장 높았으며, C, D와 E, B사의 순이었다. 색, 향미도 A사가 가장 높은 기호도를 보였으며, 맛은 A사와 C사가 높은 기호도를 보였다. 강도의 경우 갈색 정도가 B사가 가장 높았고, E사가 가장 낮다고 평가되었다. 전통 된장의 향미 및 이취가 가장 강한 것이 B사였고, 가장 낮은 것은 A사로 평가하였다. 패널들이 평가한 점수로 분석한 결과, A사를 6점 이상으로 평가한 패널이 54명, C사는 28명, D사는 18명, B사는 14명, E사는 6명이었다. 즉 전체적인 기호도가 가장 높았던 A사와 C사 제품은 전통 된장의 맛과 향이 강하지 않고 적당하면서 이취가 없는 제품으로 판단되었다.

표 8. 숙성된 전통 된장의 기호도 검사 및 순위

	Sample	A(KO)	B(MC)	C(SW)	D(SO)	E(JB)
기호도 검사	전체적인 기호도	5.27±1.46 ^a	3.62±1.53 ^c	4.67±1.33 ^b	3.97±1.56 ^c	3.16±1.48 ^d
	색 기호도	5.22±1.32 ^a	3.14±1.56 ^d	4.79±1.47 ^b	4.33±1.41 ^c	2.79±1.33 ^d
	향미 기호도	5.23±1.43 ^a	3.27±1.43 ^c	4.29±1.52 ^b	3.99±1.44 ^b	3.19±1.43 ^c
	맛 기호도	5.03±1.60 ^a	3.87±1.61 ^b	4.77±1.45 ^a	3.80±1.68 ^b	3.44±1.54 ^b
강도 검사	갈색 강도	4.00±0.85 ^c	6.47±0.79 ^a	5.19±1.02 ^b	3.62±0.98 ^d	1.63±0.86 ^e
	전통 된장 향미	3.82±1.22 ^c	5.66±1.26 ^a	5.23±1.19 ^b	3.93±1.37 ^c	2.83±1.54 ^d
	전통 된장 맛	4.12±1.32 ^c	5.48±1.45 ^a	4.95±1.19 ^b	3.80±1.37 ^c	2.92±1.32 ^d
	이취 강도	2.93±1.41 ^c	4.40±1.71 ^a	3.80±1.45 ^b	3.82±1.52 ^b	3.78±1.93 ^b
평가점수	A(KO)	B(MC)	C(SW)	D(SO)	E(JB)	
7점	20	2	7	4	1	
6점	34	12	21	14	5	
5점	18	14	31	20	15	
4점	17	23	21	25	18	
3점	5	25	13	18	24	
2점	4	15	7	12	23	
1점	2	9	0	7	14	
인원수	100	100	100	100	100	
순위	1	4	2	3	5	

(3) 시판된장과 전통 된장의 기호도 검사

전통 된장의 기호도 검사 결과 순위가 높았던, A와 C와 국내 대표 공장산 된장 4종과 100명을 대상으로 기호도 검사를 수행하였다. 그 결과는 표 8과 같다. 표에서 보는 바와 같이 전체적인 기호도는 C가 가장 높게 평가되었고, 나머지 제품은 비슷하게 평가되었다. 색, 향미, 맛의 경우도 C가 가장 높게 평가되었고 A, C와 HCC 시판 재래식 된장이 비슷한 값을 보였다. 강도의 경우 C사가 갈색 정도, 전통된장 향미와 맛이 높게 나타났고, 그 다음 SCC이 높게 나타났고, 그 이외의 시료는 비교적 낮은 점수로 평가하였다. 패널들이 평가한 점수로 분석한 결과, A를 5점 이상으로 평가한 패널이 41명, C는 52명이었고, SCC 39명, 나머지 시료는 29-31명으로 비슷하였다. 전통 된장인 A와 C, 그리고 공장산 된장 중 전통 된장의 맛을 비교적 많이 가진 SCC 제품을 가장 많이 선호하였다.

표 8. 선발된 3년 숙성 전통 된장과 공장산 된장의 기호도 검사

	Sample	HCC (HCC-01)	SCC (SSS-02)	HCC (HCC-02)	SCC (SCC-01)	A(KO)	C(SW)
기호도 검사	전체적인기호도	3.52±1.66 ^b	3.57±1.71 ^b	3.73±1.54 ^b	3.93±1.86 ^b	3.82±1.85 ^b	4.44±1.88 ^a
	색 기호도	2.47±1.24 ^c	2.64±1.31 ^c	4.03±1.03 ^b	4.3±1.40 ^b	4.18±1.45 ^b	5.57±1.46 ^a
	향미 기호도	3.29±1.51 ^c	3.43±1.78 ^{ab}	3.77±1.42 ^{ab}	3.96±1.48 ^b	3.87±1.61 ^{ab}	4.72±1.57 ^a
	맛 기호도	3.73±1.44 ^b	3.83±1.58 ^{ab}	3.83±1.49 ^{ab}	4.16±1.66 ^{ab}	3.91±1.64 ^{ab}	4.25±1.86 ^a
강도 검사	갈색 강도	1.63±0.77 ^d	1.83±0.68 ^d	3.28±1.05 ^c	5.39±0.91 ^b	3.5±1.02 ^c	6.31±0.85 ^a
	전통 된장 향미	2.27±1.16 ^e	2.41±1.16 ^e	3.33±1.26 ^d	5.14±1.06 ^b	3.67±1.38 ^c	6.12±1.2 ^a
	전통 된장 맛	2.58±1.17 ^d	2.85±1.27 ^d	3.54±1.27 ^c	5.01±1.28 ^b	3.73±1.27 ^c	6.05±1.07 ^a
	이취 강도	2.93±1.42 ^d	2.96±1.46 ^d	3.72±1.63 ^c	4.27±1.54 ^b	4.19±1.55 ^b	4.77±1.82 ^a
평가점수	HCC (HCC-01)	SCC (SSS-02)	HCC (HCC-02)	SCC (SCC-01)	A(KO)	C(SW)	
7점	3	4	4	9	6	15	
6점	12	13	10	18	17	23	
5점	15	12	17	12	18	14	
4점	18	21	24	16	15	14	
3점	19	21	20	19	10	14	
2점	22	15	19	15	23	13	
1점	11	14	6	11	11	7	
인원수	100	100	100	100	100	100	
순위	4	4	4	3	2	1	

100명의 소비자들이 2차례 기호도 검사를 한 결과 그림 7는 표 7과 8를 그림으로 나타낸 것으로 A 제품과 CW 제품이 비교적 유사한 특성을 나타내고, 기호도도 높다고 평가한 것을 확인할 수 있다. 기호도 검사와 묘사분석 결과를 평가하여 기호도 순위에서 1등을 차지한 전통 된장인 SW를 prototype 된장으로 선정하였다.

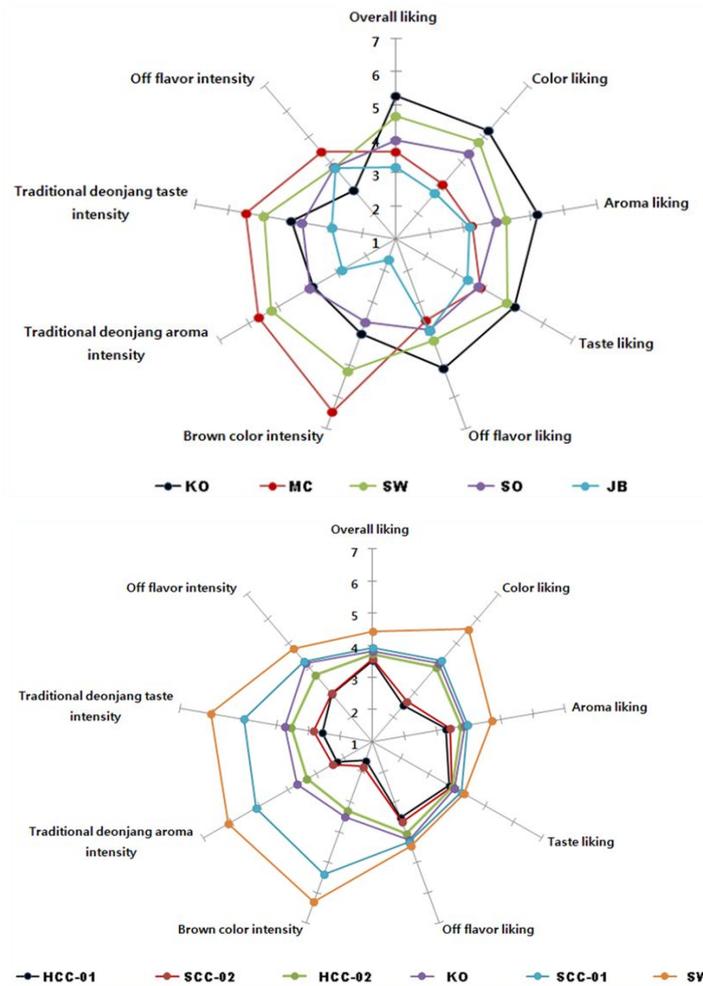


그림 7. 숙성 전통 된장과 공장산 된장의 기호도 검사

김(2009)은 시판된장의 관능적 특성 및 소비자 기호도 연구를 통하여, 개량 된장을 선호하는 군집은 20~30대의 비율이 높고, 40~50대의 비율은 낮으며, 쓴맛, 흠향, 짙은 감각, 갈색 정도에는 부정적이지만, 단맛과 MSG 맛은 기호도에 긍정적인 영향을 준다고 보고하였다. 또한, 전통 된장을 선호하는 군집은 쓴맛, 흠향, 짙은 감각, 갈색정도와 양의 상관 관계를 보였으며, 단맛, MSG 맛, 알코올 향 특성과는 음의 상관관계를 보였다. 이 군집에는 40~50대의 비율이 높고, 20대의 비율이 가장 낮았다. 20~30대가 선호하는 된장은 단맛과 알코올 향이 있으며, 갈색 정도가 낮으며, 쓴맛, 짠맛, 메주향, 발효향은 기호도에 부정적인 영향을 주는 것이라고 예측하였다. 본 연구에서도 기호도가 높은 전통 된장의 경우 된장 특유의 맛과 향이 강하지 않으며, 이

취가 없는 제품이었다. 휘발성 향기성분 분석 결과 기호도가 높은 전통 된장은 알콜류가 휘발성 향기성분의 20% 이상을 차지하고 있어 알콜 함량이 기호도와 밀접한 관련이 있다는 것을 확인하였다.

3. 발효 미생물 선발을 위한 특성 평가

가. 균주 선정 모델 시스템을 위한 조건 설정

된장 제조를 위한 발효 미생물 선발을 위한 기준 설정을 위하여 위한 시험균주를 선발하기 위하여 된장 분리균 중 무작위적으로 30개를 선발하여, 동정한 결과 분리균 대부분이 *Bacillus* 속의 균들로, *B. subtilius*, *B. licheniformis* 등이 우점적으로 동정되었다. 따라서 우점종으로 선정된 통성혐기성 균인 *B. licheniformis* 균을 이용하여 균주 선발을 시험법 최적화를 시험을 수행하였다.

나. 환경 인자에 따른 발효 미생물 특성 평가

발효미생물의 성장 특성은 합성 배지인 tryptic soy broth (TSB, Merck)와 메주 콩을 이용한 콩배지, 콩물 배지를 이용하여 수행되었다. TSB와 콩알배지에서 다양한 온도 조건에서 성장특성을 분석하였다. 그림 8에서 보는 바와 같이, 발효미생물은 배양온도가 증가함에 따라, 유도기가 짧아지고, 최대 성장률도 높아졌다.

TSB에서 발효미생물을 다양한 온도 (30, 40, 45°C)에서 배양한 결과, 모든 배지에서 45°C 배양시 최대성장율이 가장 높았으며, 30°C에서 배양한 것이 가장 낮았다. 콩배지에서도 같은 경향을 얻었으며, pH와 수분활성도 변화는 거의 없었다. pH는 6.0~6.5 범위였으며, 수분활성도는 0.96~0.94 범위였다. 콩배지에서는 35°C가 40°C에서 보다 최대 성장률이 높았다. TSB와 콩배지 사용시 TSB가 콩배지 보다 유도기가 짧았다.

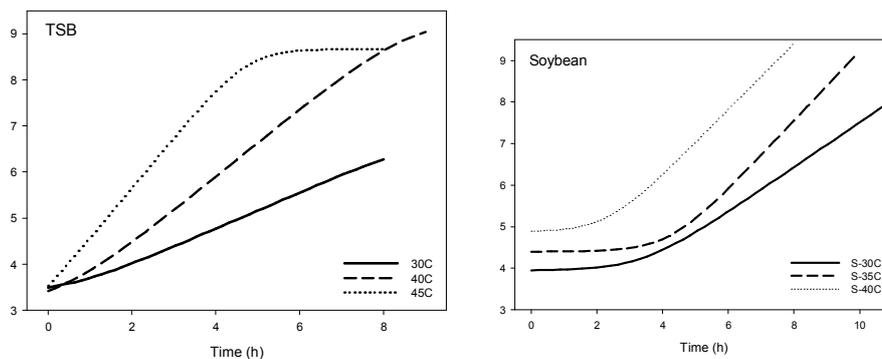


그림 8. TSB와 콩배지에서 발효미생물의 성장 특성

염 농도에 따른 영향을 분석하기 위하여 TSB에 소금을 0% 7%, 13%, 20% 첨가하여 30℃에서 48시간씩 배양하면서 4회에 걸쳐 계대 배양하였다. 표 9에서 보는 바와 같이 소금을 첨가하지 않은 것과 7% 소금을 첨가한 배지에서는 1세대에서 48 시간 배양 후 탁도가 2.2 이상 증가하였으나, 소금을 13% 이상 첨가한 배지에서는 탁도 변화가 없었다. 그러나, 소금을 13% 첨가한 배지에서 2회 계대 배양 시에는 성장이 거의 일어나지 않았으나, 3번의 계대배양 후 느리지만 성장이 일어났으며, 4번째 배양시에는 염을 첨가하지 않은 것과 유사한 성장이 있는 것을 확인할 수 있었으며, 4회 계대배양 시에는 소금을 첨가하지 않은 수준의 성장을 보여주었다. 소금을 20% 첨가한 배지에서는 4번의 계대배양에도 탁도 변화가 없었다. 따라서 된장에서 주요 발효 미생물은 염도에 대한 적응력이 있음이 예상되어 된장의 발효미생물 분리시 소금을 첨가하여 분리하였다.

표 9. 발효미생물의 소금에 대한 적응력 평가

Salt Conc. (%)	OD at 600 nm			
	1 st	2 nd	3 th	4 th
0	2.2	-	-	-
7	2.7	3.2	2.6	2.5
13	0.0	0.0	0.4	2.5
20	0.0	0.0	0.0	0.0

4. 감각적 · 화학적 특성 기반 발효 미생물 선정

가. 전통 된장의 특성 분석

된장 선정 모델 시스템을 만들기 위하여 된장의 발효 숙성과 관련된 인자들을 분석하였다. 전통 된장의 pH, 적정산도, 아미노태질소, 수분활성도를 분석한 결과는 표 10과 같다. 숙성 2년이 넘는 된장의 pH는 5.0~5.1로 메주나 햇된장의 pH 보다 낮았으며, 산도도 높았다. 전통 식품 표준규격에서 규정한 아미노산성 질소의 기준은 메주 110.0 mg% 이상, 된장은 300 mg% 이상으로, 본 실험에서 사용한 전통 된장은 아미노태질소 함량은 규격에 모두 적합하였다. 수분활성도는 메주가 0.553으로 제일 낮았으며, 기호도가 높았던 전통된장의 수분 활성도는 0.703, 0.692였다. 염도는 전통된장의 경우 10-15%였고, 시판된장의 경우는 10~13% 였다. 따라서 개발하는 된장의 아미노태 질소는 300 mg% 이상, 산도는 2.5~3.0 mL/g 이상이 되는 기준으로 발효 품질 특성을 설정하였다.

표 10. 본 실험에서 사용된 전통 된장의 품질 특성

시 료	pH	적정산도 (0.1NaOH mL/g)	아미노태질소 (mg%)	수분 활성도	비고
KO-SM	6.52	2.28	709.9	0.791	염지매주
KO-SD	6.01	2.23	606.2	0.788	가른직후 된장
SW-M	6.67	0.60	134.0	0.553	매주
DD-N	5.35	2.16	404.8	0.700	햇 된장
SW-03	5.11	3.48	765.2	0.703	Prototype 된장
KO-03	5.06	3.39	798.1	0.692	기호도가 높았던 된장

나. 전통 된장의 숙성 환경 평가

전통 된장은 야외에 위치한 항아리에서 장기간 숙성이 일어나기 때문에 항아리 내부에서의 온도변화를 알아보기 위하여 경기 북부에 소재한 전통된장 생산업체의 도움으로 5월부터 10월말 까지 항아리 내부와 외부의 온도를 측정하였다. 측정 시간은 한낮 12시로, 동일한 시간에 항아리 내부와 외부의 온도를 측정하였다. 그림 9의 왼쪽 그림은 디지털 온도계 (center 300, 탐침 : K type (CA))를 사용하여 탐침으로 항아리 중앙에서 20Cm 아래의 온도와 외기온도를 측정한 결과이고, 오른쪽 그림은 같은 방법으로 중앙과 왼쪽, 오른쪽 온도를 각각 측정한 것이다. 된장이 들어있는 항아리 내부 온도는 5월부터 10월까지 15℃에서 26℃ 범위에 있었다. 외부온도가 30℃ 이상 증가하여도 내부 온도는 26℃ 이상 증가하지는 않아, 5℃ 정도의 차이를 보여주었다. 따라서 항아리 내부의 온도의 변화폭은 비교적 작은 것을 알 수 있었다.

일반적으로 미생물이 10℃ 이하의 온도에서는 성장 속도가 매우 느리며, 25℃ 이상에서 성장속도가 빨라지는 특성을 고려한다면, 된장은 발효 초기 단계 즉, 매주 단계에서 콩의 발효 상태가 된장의 맛이 가장 크게 영향을 줄 것으로 예상되었다.

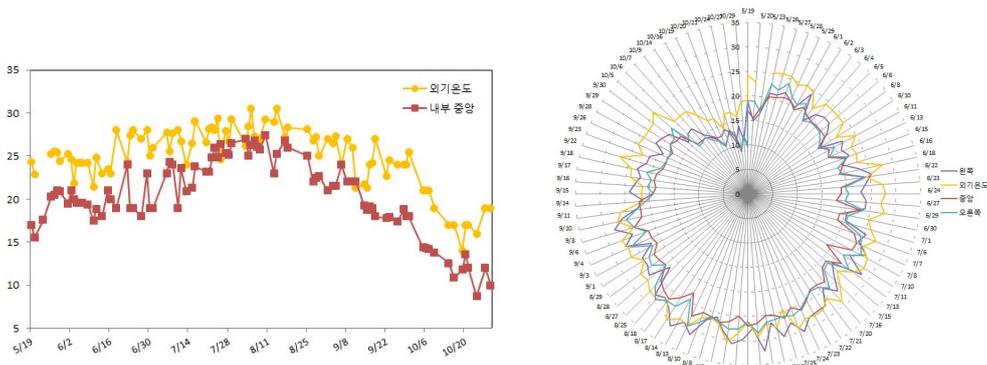


그림 9. 전통 된장 항아리의 내부 온도 변화

그러므로, 본 과제에서 선정된 prototype 된장의 깊은 맛을 가진 기호도가 높은 된장을 짧은 빠른 시간에 된장을 제조하기 위해서는, 콩에 중균을 접종한 초기 발효 조건에 높은 비중을 두고 분석하였다.

다. 후보 발효미생물 선발을 위한 실험실 모델 조건 설정

(1) 콩 선정 및 증숙

콩은 참여 기업에서 사용하는 강원도산 태광콩 (태광콩은 90년 초에 개발된 장류 및 두부용 콩)을 이용하였다. 콩의 불림조건, 삶는 조건, autoclaving 조건을 변화를 주면서 수분활성도 값의 변화를 측정하였다. 콩의 빠른 발효를 위해 미생물 성장이 잘 일어날 수 있는 0.9 이상의 수분활성도를 가진 조건을 찾았다.

콩을 불리면 무게가 2배 정도 증가하는 것을 확인하고, 콩을 불리지 않고, 증가한 물의 양만큼을 불리지 않은 콩에 첨가하여 autoclaving 하여 수분활성도 변화를 측정하였으나, 수분 활성도가 0.75로 분석되었다 (표 12)

표 12. 콩의 불림없이 물을 첨가하고 증숙한 콩의 수분 활성도

	수분 함량 (%)	Aw	
		Autoclaving 전	Autoclaving 후
불린 콩	57.6	0.76	0.75
콩+물20% 첨가	49.2	0.76	0.75
콩+물50% 첨가	53.0	0.76	0.75

다양한 방법으로 콩의 증숙 조건을 검사하여 그림 10와 같은 방법으로 콩의 증숙조건을 설정하였다. 콩의 autoclaving 조건은 115℃ 40분 (I)과 121℃ 15분 (II)을 비교 하였으나, 수분활성도에 큰 차이를 보이지 않아 최종적으로 조건 II인 121℃ 15분으로 결정하였다.

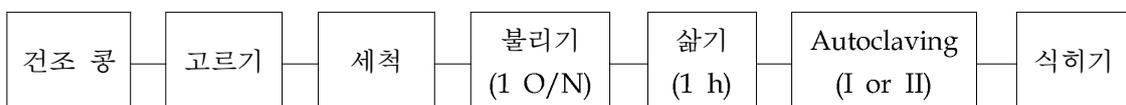


그림 10. 균주선정을 위한 모델시스템 설정을 위한 콩 증숙 과정

(2) 발효주 접종

된장에서 분리된 세균은 -70°C 에 보관하면서 사용하였으며, 사용 전 콩물배지나 tryptic soy broth (TSB)에서 2회 이상 활성화하여 사용하였으며, mould는 potato dextrose agar (PDA) 플레이트에서 충분히 성장시킨 후, 이 플레이트에 멸균 증류수 2mL를 넣고 일회용 loop (10 μL)로 충분히 긁어 포자가 현탁된 시험액을 5,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 침전물을 제거한 상등액을 사용하였다. 세균 및 mould는 증숙한 콩 전체 무게의 3%가 되도록 접종하였다.

(3) 초기 발효 온도 설정

메주 및 된장의 주 발효 세균은 그람 양성 *Bacillus* 균으로, 이 균은 토양의 환경에 널리 분포하는 내성 포자를 만드는 균으로 비교적 넓은 성장 온도를 가진다. 또한 이 내성 포자는 두꺼운 세포벽을 가지고 있어서, 일반적인 방법으로는 완전치 죽이기는 어렵다. 본 연구에서도 증숙된 콩에 미생물을 접종하지 않고, 30°C 와 40°C 배양기에 배양시 대부분의 증숙 콩에서 점성이 생기거나 이취가 있는 것을 확인하여 이를 억제하기 위하여, 성장 속도가 빠른 발효미생물을 이용하거나, 초기 발효 온도를 높이는 방법을 간구하였다.

또한 장류의 위해미생물인 *B. cereus*도 포자를 만드는 특징을 가지고 있기 때문에 우선 *B. cereus*와 우선 시험주로 선발된 *Bacillus licheniformis*의 온도별 성장 특성을 비교하였다. 된장에서 분리된 위해미생물인 *B. cereus*와 발효주인 *B. licheniformis*를 증숙한 콩 모델에 접종하여, 30°C , 35°C , 40°C 에서 배양하면서 Baranyi & Roberts model을 이용하여 growth kinetic을 평가하였다. (본 결과는 이스탄불에서 열린 Food Micro 2012 학회에서 발표하였음). 표 12에서와 같이 배양 온도가 높아짐에 따라 위해미생물과 발효주 모두 유도기가 점점 짧아졌으며, 최대 성장율은 증가하였다.

배양 온도 35°C 이상에서는 위해미생물인 *B. cereus*가 발효주인 *B. licheniformis*보다 유도기가 짧았으나, 30°C 배양 시에는 발효주가 한 시간 정도 유도기가 짧았다. 하지만 최대성장률이 위해균이 높기 때문에 발효미생물의 초기 균수가 높아야 할 것으로 예상되었다.

표 12. 콩 배지에서 발효 온도별 *B. cereus*와 *B. licheniformis*의 성장 특성

Isolates	Lag time (h)			Max, growth rate (h^{-1})			R^2		
	30°C	35°C	40°C	30°C	35°C	40°C	30°C	35°C	40°C
<i>B. cereus</i>	4.121	2.625	1.524	0.782	0.955	1.071	0.9974	0.9952	0.9966
<i>B. licheniformis</i>	3.417	4.234	2.317	0.541	0.836	0.797	0.9528	0.9726	0.9949

된장에서 발견되는 위해미생물인 *B. cereus* 영양세포의 성장 최적 온도는 28-35°C 이고, 10-12°C 의 저온 및 48-50°C 의 고온에서도 최소한의 성장만 가능한 것으로 알려져 있다. 성장을 위한 최적 pH는 6.0~7.0이고, 성장 가능 pH 범위는 4.9~9.3 이며, 수분활성도(Aw)는 0.912~0.950 의 범위이다. 따라서 콩 모델 배지의 배양온도를 50°C로 올려서 된장에서 분리된 *B. cereus*의 성장여부를 확인하였으나, 증식은 확인되지 않았다.

하지만, 된장에서 분리된 발효주는 50°C에서도 빠른 성장이 일어나는 것을 확인하였다 (그림 11). 따라서 초기 발효 조건은 *B. cereus*를 포함한 대부분의 식중독 미생물의 성장을 최소화하는 온도인 50°C 조건과 발효주가 위해미생물보다 도기가 짧은 온도인 30°C도 선정하였다.

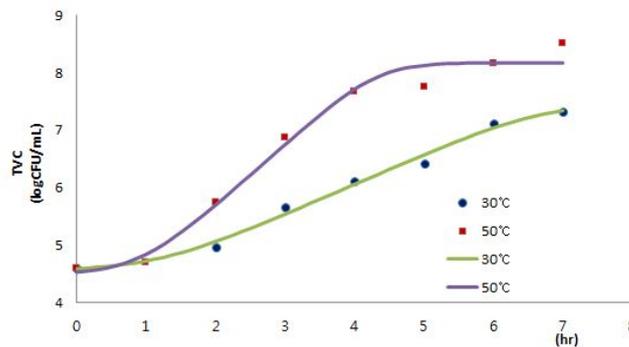


그림 11. 온도별 (30, 50°C) *Bacillus* 발효주의 성장 비교

증숙한 콩에 발효미생물 시험주를 접종하여 50°C에서 5일간 배양하면서 품질특성을 분석한 결과는 표 13과 같다. 발효미생물의 성장에 따라 아미노태가 증가하는 것을 확인하였으며, BCA 방법으로 수용성 단백질의 양을 측정된 결과 배양 5일까지 증가하였으며, 수분활성도에서의 변화는 없었다.

표 13. 발효 미생물을 접종한 콩모델을 50°C 배양할 때 품질특성 변화

배양기간 (day)	pH	아미노태질소 (mg%)	수용성 단백질 (mg/mL)	수분활성도
0	7.00	5.9	1.0	0.917
1	7.00	27.9	6.8	0.921
2	7.50	107.7	5.1	0.928
5	7.75	210.8	13.8	0.913

발효미생물의 혼합 시기를 확인하기 위하여 3종의 발효미생물 시험주 (표준균주 *Bacillus*, *Aspergillus*, *Saccharomyces*) 각각 활성화시켜 콩알배지에 접종하여 균수의 변화를 분석하였다. 그림 12에서 보는 바와 같이 동시에 섞어서 배양시, 세균은 정상적인 성장을 하였으나, mould와 yeast는 거의 증식이 일어나지 않는 것을 확인하였다. 또한 발효 미생물의 우점을 위해 세균과 곰팡이를 따로 접종하여 배양 후 혼합하는 것이 효과적으로 판단되었다.

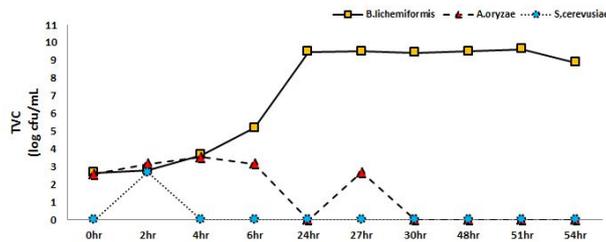


그림 12. 콩 모델에서 세균, mould, 효모의 균수의 변화

라. 특성 분석을 통한 후보 발효 미생물 선발

(1) 세균

분리된 세균 150종에 대해 협동과제에서 수행한 탄수화물 분해 효소와 아밀라제 효소 활성 평가 결과가 높은 균주와 기호도가 높은 prototype 된장으로 분리된 균주를 우선적으로 8종을 선발하였으며, 유산 생성능 (표 15)이 있는 *Bacillus*속 2종의 세균을 추가 하여 총 10종의 세균을 선발하였다. 선발된 균주 code와 분리 지역은 표 14와 같다.

표 14. 일차 선발 세균 목록

번호	Isoates	분리 지역
1	SW-03-4	경기
2	SW-03-7	전남
3	SW-03-9	강원
4	SW-03-13	강원
5	SW-M-14	경기
6	KO-SM-1	전남
7	KO-SM-11	경기
8	KO-03-1	강원
9	DJ-KO-500	경기
10	DJ-DD-500	경기

추가된 유산 생성균은 온도별 성장 특성 및 염에 대한 저항성을 결과를 기준으로 선발하였다. 분리된 유산 생성균 15종에 대해 5% 소금을 첨가한 TSB에서 배양하면서 30, 40, 50°C에서 3일간 배양 후 탁도와 pH를 측정하였다 (표 15). 배양 온도 30°C에서는 모든 균이 충분한 성장을 하였으나, 배양 온도가 증가함에 따라 성장이 잘 일어나지 않았으며, 50°C에서는 DJ-KO-500와 DJ-DD-500이 가장 빨리 성장하였으며, 그 다음이 DJ-유산균-5와 DJ-ENC-5였다.

콩 배양 모델에서 초기 배양온도를 50°C와 30°C로 하였기 때문에 두가지 온도에서 성장이 가능한 유산균 7종에 대해 genus 수준에서 유전학전 동정을 한 결과 *Enterococcus*, *Rumen*, *Bacillus* 속으로 동정되어졌다. 이중 유산 산 생성도 가능하며, *Bacillus* 속으로 확인된 두 개의 분리주 (DJ-KO-500, DJ-DD-500)는 1차 세균 발효주 선발을 위한 목록에 포함하였다.

표 15. 된장에서 분리된 유산 생성균의 온도별 성장 비교

Isolates	OD at 600nm			배양전	pH		
	30°C	40°C	50°C		30°C	40°C	50°C
DJ-ENC-①	1.325	0.762	0.398	7.11	4.84	4.87	5.25
DJ-ENC-②	1.508	1.278	0.445	7.19	4.80	4.93	5.34
DJ-ENC-③	1.706	1.35	0.159	7.12	5.01	5.00	6.11
DJ-ENC-④	1.413	1.22	0.447	7.12	4.81	4.93	5.15
DJ-ENC-⑤	1.79	1.376	0.622	7.08	4.83	4.87	4.93
DJ-KO-500	1.222	1.323	1.85	7.07	5.96	5.94	5.98
DJ-DD-500	0.983	1.184	1.378	7.11	5.60	5.98	5.79
DJ-유산균-①	1.376	1.228	0.434	7.13	4.87	4.93	5.13
DJ-유산균-②	1.393	1.171	0.413	7.11	4.73	4.94	5.12
DJ-유산균-③	1.41	1.211	0.415	7.19	4.73	4.94	5.11
DJ-유산균-④	1.229	0.912	0.302	7.21	4.89	4.73	5.49
DJ-유산균-⑤	1.635	1.378	0.612	7.08	4.71	4.96	5.13
DJ-유산균-⑥	1.543	1.024	0.419	7.07	4.83	4.92	5.21
DJ-유산균-⑦	1.497	0.922	0.437	7.08	4.82	4.90	5.16
DJ-유산균-⑧	1.459	0.811	0.445	7.12	4.85	4.91	5.18

(2) 곰팡이

장류에서 분리된 곰팡이 39종에 대해 협동과제에서 수행한 탄수화물 분해 효소와 아밀라제 효소 활성 평가 결과가 높은 3개의 균주를 선발하였다 (표 16). 선정된 균주는 PDA 평판배지에서 성장시킨 다음 잘 자란 균사체의 중간부분을 멸균한 칼로 절단하여 glycerol stock으로 만들어 -70℃에 보관하였으며, PDA, malt aga 사면배지에 동시에 접종하여 4℃에서 냉장보관하면서 사용하였다.

표 16. 콩 발효식품에서 효소활성 우수균주로 선발된 mould

Strains	지역	탄수화물 분해능	단백질 분해능
M-DD-N-8	경기	++	++
M-KO-03-5	전남	++	-
M-SW-03-1	강원 II	-	++

효모는 대부분 발효 숙성 후기에 검출되지 때문에 염에 대한 내성은 필수적인 특성이다. 따라서 발효 미생물로 사용될 효모를 선별하기 위하여 소금을 농도별(5%, 10%, 20%)로 넣은 YM 배지에서 30℃에서 3일간 배양 후 탁도와 pH를 측정하였다 (표 17).

효모는 소금 농도가 높아짐에 따라 성장을 잘 하지 못했다. 소금을 5%와 10% 첨가했을 때는 대부분의 효모가 성장하였으나, 염농도가 20% 인 경우 탁도의 증가가 낮았다. 따라서 본 연구에서는 염농도 20%에서도 잘 성장한 10종의 효모 분리주를 선발하여 균수를 측정하였다 (그림 13).

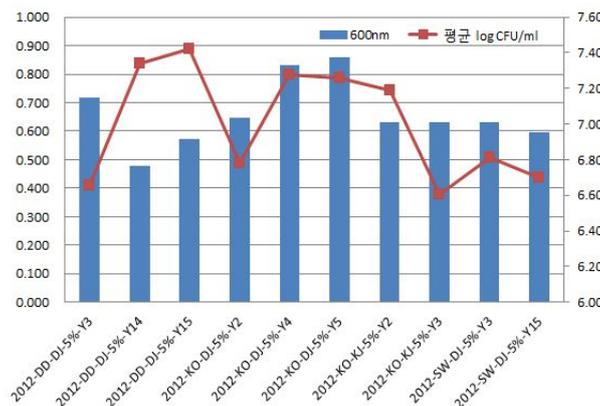


그림 13. 소금 20% 첨가한 YM에서 배양한 효모의 탁도와 균수

표 17. 전통 장류에서 분리된 효모의 내염성 평가

Isolate	NaCl (%)	OD at 600nm			pH		
		5	10	20	5	10	20
12-Y-DD-DJ-500-2		1.576	1.025	0.260	5.07	4.92	4.92
12-Y-DD-DJ-500-3		1.449	1.537	0.717	5.04	4.93	4.74
12-Y-DD-DJ-500-4		1.729	1.365	0.304	5.02	4.92	4.76
12-Y-DD-DJ-500-5		1.450	0.873	0.388	5.01	4.92	4.80
12-Y-DD-DJ-500-6		1.427	1.394	0.379	5.01	4.92	4.83
12-Y-DD-DJ-500-11		1.507	1.549	0.318	4.99	4.94	4.83
12-Y-DD-DJ-500-12		1.516	1.287	0.306	5.01	4.98	4.87
12-Y-DD-DJ-500-13		1.638	1.343	0.261	4.99	5.00	4.87
12-Y-DD-DJ-500-14		1.455	1.554	0.479	4.99	5.00	4.87
12-Y-DD-DJ-500-15		1.624	1.619	0.572	4.99	5.00	4.90
12-Y-KO-DJ-500-1		0.869	1.092	0.264	5.00	5.03	4.90
12-Y-KO-DJ-500-2		1.232	1.394	0.648	4.99	5.03	4.93
12-Y-KO-DJ-500-3		1.240	1.550	0.533	4.99	5.03	4.95
12-Y-KO-DJ-500-4		1.360	1.588	0.832	4.98	5.03	4.95
12-Y-KO-DJ-500-5		1.519	1.676	0.861	4.97	5.03	4.95
12-Y-KO-DJ-500-6		1.057	1.344	0.242	4.99	5.03	4.95
12-Y-KO-DJ-500-7		0.830	1.533	0.302	4.98	5.03	4.95
12-Y-KO-DJ-500-8		0.813	1.560	0.332	4.94	5.05	4.97
12-Y-KO-DJ-500-9		1.095	1.201	0.352	4.95	5.05	4.97
12-Y-KO-DJ-500-10		0.852	1.543	0.382	4.95	5.05	4.97
12-Y-KO-KJ-500-1		1.084	1.387	0.439	4.98	5.05	4.97
12-Y-KO-KJ-500-2		1.201	1.200	0.631	4.98	5.05	4.99
12-Y-KO-KJ-500-3		0.755	1.306	0.631	5.00	5.05	4.98
12-SW-DJ-500-1		1.249	0.946	0.527	4.99	5.07	4.99
12-SW-DJ-500-2		0.973	1.792	0.559	4.96	5.07	4.98
12-SW-DJ-500-3		1.127	1.518	0.633	4.98	5.07	4.96
12-SW-DJ-500-4		1.041	1.486	0.490	4.98	5.07	4.96
12-SW-DJ-500-5		1.509	1.751	0.510	4.97	5.07	4.96
12-SW-DJ-500-14		1.635	0.969	0.525	4.97	5.05	4.96
12-SW-DJ-500-15		1.334	1.316	0.596	4.99	5.08	4.98
12-SW-DJ-500-16		1.394	1.303	0.551	5.01	5.08	4.98
12-SW-DJ-500-17		1.680	1.173	0.536	5.01	5.06	4.98
12-SW-DJ-500-18		1.556	1.217	0.560	5.01	5.06	4.98

(3) 발효주의 발효 특성 평가

(가) 콩 모델 고안 및 미생물 발효

후보로 선발된 세균 10종과 곰팡이 3종에 대한 발효 특성을 평가하였다. 세균은 TSB에서 충분히 활성화시키고, 곰팡이는 PDA에서 활성화 시켜 포자를 수집하여, 그림 14와 같이 처리된 콩모델에 각각 단독으로 접종 배양하였다. mould는 30°C에서 9일, 세균은 50°C에서 5일간 배양 후 품질특성과 감각 특성을 평가하였다.

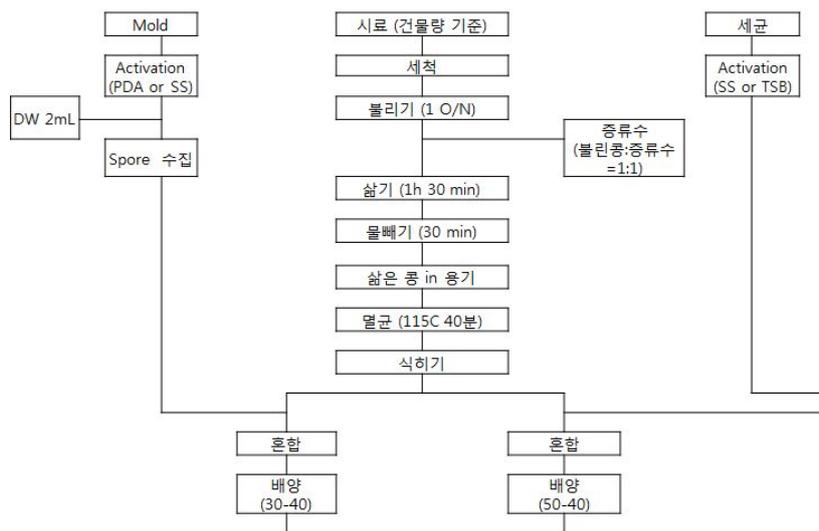


그림 14. 발효주 선발을 위한 콩 모델 제조 과정

(나) 발효 특성 평가 및 세균 선발

세균 10종을 각각 접종하여 50°C에서 5일간 배양 후 pH, 적정산도, 아미노태질소, 수분활성도를 분석한 결과는 표 18과 같다. 대부분의 처리구에서 아미노태질소 함량이 300mg%를 넘었으며, 가장 높은 것은 DJ-KO-500의 613.8mg%였다. 수분활성도는 0.89-0.91 범위였으며, pH는 7.9-8.5 이었다. 아미노태질소가 가장 높았던 DJ-KO-500는 가장 크게 부피도 감소하였다. KO-SM-11도 약간의 부피 감소가 있었으나 나머지 시료는 눈에 띄는 부피의 변화는 없었다.

후보 발효 세균 발효물의 감각적 특성을 평가한 결과는 표 19와 같다. 일부 발효물에서는 암모니아성 이취가 강하게 느껴졌다. 아마도 세균이 생산하는 프로테아제에 의해 콩의 단백질이 과도한 발효에 의해 생성되거나 콩 단백질에 많이 포함된 루신, 이소루신 등이 분해되어 발생한 isobutyric acid 등의 이취성분으로 인한 것으로 판단되었다. 발효 품질 특성과 감각적 특성평가 결과를 이용하여 다시 5개를 선발하였다. 선발된 세균은 SW-03-7, SW-03-9, KO-SM-11,

표 18. 선발된 세균을 콩배지에서 50℃, 5일 발효 후 품질 특성

Isolates	pH	적정산도 (0.1N NaOH/g)	아미노태질소 (mg%)	Aw
SW-03-4	8.28	0.14	454.3	0.912
SW-03-7	8.12	0.35	552.9	0.903
SW-03-9	8.52	0.02	265.0	0.892
SW-03-13	8.19	0.13	518.6	0.904
SW-M-14	8.27	0.07	237.3	0.907
KO-SM-1	8.25	0.08	327.6	0.909
KO-SM-11	8.51	0.00	401.3	0.902
KO-03-1	8.26	0.03	230.8	0.908
DJ-KO-500	7.90	0.30	613.8	0.903
DJ-DD-500	8.30	0.01	336.4	0.900

DJ-KO-500, DJ-DD-500 등으로, 비교적 암모니아성 이취가 약했으며, 좋은 된장향을 가지고 있었다.

동일한 발효물의 휘발성 향기성분을 GC-MS로 분석한 결과 이취를 약하게 평가한 발효물은 된장 특유의 고린내의 원인 화합물인 3-methyl butanoic acid의 조성비가 낮았고, 고소한 향을 내는 pyrazine 류의 조성비가 상대적으로 높아서, 감각적 특성 결과와 같은 경향을 보여주었다. (위탁연구 결과 참조)

표 19. 세균을 단독 접종한 콩발효물의 감각적 특성

Isolates	Description
SW-03-4	콩된장 향, 암모니아성 이취 강
SW-03-7*	콩 된장 향, 콩 냄새 거의 없음, 암모니아성 이취 약
SW-03-9*	콩된장 냄새, 암모니아성 이취 약
SW-03-13	덜 익은 콩 냄새, 약간 시큼, 이취 강
SW-M-14	시큼한 향, 암모니아성 이취 강
KO-SM-1	톡 쏘는 냄새, 이취 강
KO-SM-11*	콩된장 향, 약간 시큼, 이취 약,
KO-03-1	암모니아성 이취 강, 약한 된장 향
DJ-KO-500*	좋은 된장 향, 암모니아성 이취 약
DJ-DD-500*	부드러운 된장 향

(다) 발효 특성 평가 및 곰팡이 선발

후보 발효 진균류 3종을 콩 모델 배지에 접종하여 30℃에서 9일간 배양 후 pH, 적정산도, 아미노태 질소, 수분활성도를 측정한 값은 표 20과 같다. 색의 변화는 거의 없었으며, 아미노태 질소와 적정 산도는 세균발효주보다 높은 값을 보여주었다. 아미노태질소가 가장 높았던 것은 M-SW-03-1이었으며, 적정산도도 높았다.

표 20. 선발된 mould를 콩배지에서 접종, 30℃에서 9일간 발효 후 품질 특성

Sample	pH	적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	아미노태 질소 (mg%)	AW
M-DD-N-8	8.3	0.24	802.9	0.875
M-KO-03-5	7.6	0.82	698.5	0.899
M-SW-03-1	7.6	1.15	898.5	0.875

각각 진균류 단독으로 접종하여 배양한 콩 발효물에 대해 감각적 특성을 평가하였다 (표 21). 진균류 만을 단독 접종한 콩 발효물에서는 세균 발효물과 같은 암모니아성 이취나, 장류 향은 없었고, 다른 향도 거의 없었다. 또한 색의 변화도 세균에 비하여 없었으나, M-DD-N-8은 배양되면서 진균류의 성장이 증가됨에 따라 짙은 갈색으로 변해 상품성을 떨어뜨릴 수 있어, 3개의 진균류 중 M-KO-03-5, M-SW-03-1 두 종을 최종 선정하였다.

표 21. Mould를 단독 접종한 콩발효물의 감각적 특성

Isolates	Description
M-DD-N-8	콩의 색이 짙은 갈색으로 변함 mould의 포자 나 균사체 구분은 확인 안됨
M-KO-03-5	콩의 색이 약간 갈색으로 변함, 접종하지 않은 것보다 연한 색임 콩의 중간 중간에 mould 성장 확인됨
M-SW-03-1	콩의 색이 약간 갈색으로 변함. 접종하지 않는 것보다 연한 색임
Blank	콩의 색이 짙은 갈색으로 변함

효모는 발효 후기에 주로 검출되기 때문에 염도에 대한 저항성이 있어야 한다. 따라서 염에 대한 저항성을 기준으로 최종 선발하였다. 우선 후보로 선발된 10개의 효모 분리주 중 염에 대해 높은 저항성을 보인 5개의 분리주 (12-DJ-DD-14, 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-KO-DJ-5, 12-SW-DJ-3)에 대해 다시 액체 배지와 콩물 배지에서 성장 곡선을 작성하였다.

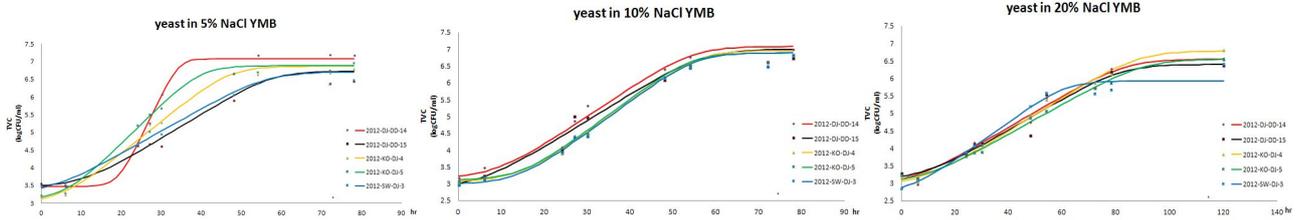


그림 15. 염도 변화에 따른 효모 분리주의 성장 곡선

효모의 최적 배지인 YM 배지에 소금을 5%, 10%, 20%의 소금을 넣고, 활성화된 효모를 접종하여 30°C에서 3일간 배양하면서 성장 속도를 확인하였다. 그 결과, 12-DJ-DD-14, 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-KO-DJ-5, 12-SW-DJ-3 모두 배양 후 각각 7.2, 6.98, 7.11, 7.19, 6.91 logCFU/ml로 높은 성장을 보였으며, 특히 12-SW-DJ-3는 모든 처리구에서 다른 효모 분리주들 보다 짧은 유도기를 가진 것으로 분석되었다. 소금을 10% 첨가하여 배양시에는 12-DJ-DD-15가 유도기가 가장 짧았으나, 최대성장율은 큰 차이를 보이지는 않았다. 일부 효모 분리주는 소금 농도가 높을수록 유도기가 짧아지는 경향을 보여주어 소금에 대한 높은 내성이 있음을 확인하였다. 대부분의 된장의 소금 농도가 10% 내외이기 때문에 10% 소금을 첨가한 배지에서 유도기가 짧으며, 분리 지역도 고려하여 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-SW-DJ-3를 최종적으로 선별하였다.

Table 22. 염도 변화에 따른 효모 분리주의 growth kinetics

	Lag time(h)			Max.Growth rate(/h)			R ²		
	5%	10%	20%	5%	10%	20%	5%	10%	20%
12-DJ-DD-14	19.055	9.2832	7.2071	0.236	0.085	0.045	0.984	0.972	0.969
12-DJ-DD-15	11.006	6.547	10.266	0.070	0.079	0.044	0.970	0.967	0.939
12-KO-DJ-4	6.123	14.481	10.279	0.092	0.093	0.048	0.988	0.995	0.988
12-KO-DJ-5	6.320	14.678	10.431	0.111	0.095	0.043	0.983	0.996	0.991
12-SW-DJ-3	4.883	14.064	6.422	0.064	0.094	0.055	0.983	0.996	0.949

마. 혼합 발효 특성 평가를 통한 발효 미생물 선발

(1) 된장 시제품의 품질 특성

세균과 mould를 콩모델 배지에 각각 최적의 조건으로 충분히 발효시킨 후 발효물을 동일한 양으로 혼합한 다음, 20% 소금물: 혼합한 콩 발효물과=1:1로 혼합하여 30℃에서 3일간 발효 하여 된장 시제품을 조제 후 품질 특성을 분석하였다 (표 23).

표 23. 된장 시제품의 품질 특성

	pH		아미노태질소 (mg%)		Aw	
	KO-03-5	SW-03-1	KO-03-5	SW-03-1	KO-03-5	SW-03-1
mould						
Bacteria						
KO-SM-1	7.55	7.42	423.9	396.6	0.829	0.820
KO-SM-11	7.77	7.63	395.2	438.5	0.824	0.832
SW-03-4	7.51	7.62	414.0	416.5	0.820	0.830
SW-03-7	7.62	7.60	479.6	430.4	0.832	0.830
SW-03-9	7.55	7.57	408.5	433.3	0.830	0.829
SW-03-13	7.45	7.56	391.8	354.8	0.830	0.828
SW-M-14	7.45	6.88	401.6	269.5	0.829	0.828
KO-O3-1	7.58	7.43	370.3	388.7	0.828	0.833
DJ-KO-500	7.68	7.60	402.5	463.4	0.828	0.829
DJ-DD-500	7.45	7.51	400.5	449.4	0.833	0.819

세균만을 단독 배양할 때보다 mould와 혼합 배양시 pH는 중성에 가까워졌으며, 아미노태 질소 함량도 증가하였다. 같은 세균이라도 같이 배양한 mould에 따라 큰 품질학적 차이를 보이는 않았으나, SW-M-14는 혼합 배양한 mould에 따라 아미노태 질소 함량에 차이를 보였다. 수분활성도는 소금 첨가되면서 감소되어 0.819~0.833 범위를 었다.

(2) 된장 시제품의 감각적 특성 평가

후보 미생물 (세균 10종, 진균 3종)를 이용하여 실험실에서 제조된 된장 시제품의 감각적 특성 평가를 수행하였다. 이취가 강한 시료는 감각적 특성 평가에서 제외되어 세균 단독 배양물 3종, 혼합 배양 4종, 총 7종을 합의 프로파일링 (Consensus profiling)에 의한 묘사분석으로 된장 시제품 (이하 된장)과 이를 이용하여 조제한 된장국에 대하여 수행하였다 (표 24, 25). 제시된 시료에 대해 Focus group interview (FGI)에 의한 자유토론 방식 방법으로 진행하였으며, 된장 시제품은 뚜껑이 있는 용기에 담아 실시하였고, 된장 시제품에 뜨거운 물을 넣어 3%의 농도로 희석한 된장국은 뚜껑이 있는 플라스틱 용기에 담아 밀폐하여 제시하였다 (그림 16).



그림 10. FGI 방법에 의해 곰 발효물의 묘사분석 모습

단일발효보다는 혼합발효 된장 시제품에서 좀더 다양한 냄새가 났으며, 된장국에서는 대부분의 시료에서 암모니아성 냄새가 났다. 된장국을 묘사분석을 한 결과 가장 맛이 좋은 시료는 복합 발효 곰 발효물인 SW-03-7+M-SW-03-1로 이 시료에서는 된장맛, 고소한맛, 단맛, 구수한 맛이 확인되었다.

표 24. 합의 프로파일(Consensus profiling)에 의한 된장 시제품의 묘사 분석

		Single culture (Bacteria)			
		SW-03-7	KO-SM-11	DJ-DD-500	-
		짠 냄새	짠 냄새	단 냄새	
		간장 냄새	암모니아 냄새 강	간장 냄새	
		고소한 냄새	젓갈 냄새	요구르트 냄새	
		곰팡이 냄새	락스 냄새	카라멜 냄새	
		암모니아 냄새 강		콩 냄새	
				석유냄새	
		Mixed cultures (Bacteria+Mould)			
		SW-03-7+M-SW-03-1	SW-03-7+M-KO-03-5	KO-SM-11+M-KO-03-5	DJ-DD-500+M-KO-03-5
Sensory Attributes	짠 냄새	간장 냄새	암모니아 냄새 강	강한 암모니아 냄새	
	콩 냄새	짠 냄새	락스 냄새	락스 냄새	
	간장 냄새	메주 냄새	청국장 냄새	고소한 냄새	
	된장 냄새	곰팡이 냄새	간장 냄새	빨래 삶을 때 나는 냄새	
	삶은콩 냄새	약한 암모니아 냄새	신 냄새		
	멸치젓갈 냄새	카라멜 냄새	곰팡이 냄새		
	약한 암모니아 냄새	땅콩버터 냄새			
	단 냄새				
	신 냄새				

표 25. 합의 프로파일(Consensus profiling)로 물로 희석한 콩발효물 (된장국)의 묘사 분석

Sensory Attributes	Single culture (Bacteria)			
	SW-03-7	KO-SM-11	DJ-DD-5%	
Flavor	팽이버섯냄새	표고버섯냄새	단냄새	
	멸치육수냄새	락스냄새	약한 콩비린내	
	구수한냄새	된장냄새		
	강한 콩비린내	짠냄새		
	간장냄새	간장냄새		
	곰팡이냄새			
	*냄새가 가장 강함			
Taste	된장맛	콩나물국맛	덜익은 콩맛	
	조미료맛	단맛	소금물 맛	
	짠맛	버섯맛	약한 조미료맛	
	삶은콩맛	삶은 콩맛		
	단맛	강한 짠맛		
	고소한 맛			
	멸치육수맛			
	조개삶은 물맛			
	간장맛			
	짠맛이 입안에 오래 남음			
	Mixed cultures (Bacteria+Mould)			
	SW-03-7+-SW-03-1	SW-03-7+KO-03-5	KO-SM-11+KO-03-5	DJ-DD-500+KO-03-5
Flavor	짠냄새	콩나물국냄새	콩비린냄새	락스냄새
	간장냄새	콩비린냄새	짠냄새	빨래 삶은때 나는 냄새
	구수한냄새	강한 짠냄새	생선비린냄새	구수한 냄새
	된장냄새	고소한냄새	간장냄새	강한 암모니아 냄새
	단냄새	팽이버섯 냄새	조개삶은냄새	간장냄새
	신냄새			된장냄새
	삶은버섯냄새			
일반 된장국 냄새와 유사				
Taste	된장맛	삶은 콩맛	콩나물 삶은 물맛	된장맛
	고소한맛	구수한맛	고소한맛	멸치육수맛
	단맛	콩나물국 맛	소금물맛	삶은 콩맛
	조개 삶은 물맛	강한 콩비린맛	쓴맛	짠맛
	구수한맛	간장맛		두부맛
	버섯맛	조개 삶은 물 맛	후미에 미끌거림이 있음	콩나물국 맛
	일반 된장국과 가장 유사	단맛		약한 이미가 있음.
		조미료맛		

위탁연구 결과에서 된장의 향기 지표 후보 물질로 두 가지를 선정하였다. 첫 번째는 된장의 향기 특성에 긍정적인 영향을 미치는 pyrazin류 중 2,5-dimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, benzaldehyde을 선정하였고, 두 번째는 된장 특유의 고린내를 내는 3-methyl butanoic acid를 선정하였다. 이 3-methyl butanoic acid는 역가가 낮아서 조금만 존재하여도 그 향을 강하게 느낄 수 있으며, 좋은 향을 가지는 pyrazin 류는 역가가 높아서 존재하는 양이 많아도 3-methyl butanoic acid가 많으면 느낄 수 없게 된다.

단일 세균만으로 접종한 것 중에서는 DJ-DD-500로 제조한 콩발효물이 가장 pyrazin류가 가장 양이 많고, 고린내로 특정되는 3-methyl butanoic acid가 다른 시료에서보다 상대적으로 적은 함량을 가지는 것으로 분석되었다. 이 시료는 FGI에 의한 묘사분석 결과에서도 강한 암모니아서 냄새는 거의 없고 단냄시, 간장내, 카라멜 냄새가 있다고 묘사되었으며 (표 24), 3%로 희석하여 국을 만들었을 때 단냄새가 있으며 강한 냄새는 묘사되어지지 않았다.

세균과 mould의 혼합 콩 발효물 중 가장 좋은 것으로 평가된 SW-03-7+SW-03-1 시료도 다른 혼합 발효물보다 2,5-dimethyl pyrazine과 tetramethyl pyrazine이 높은 함량으로 있었다. 특히 tetramethyl pyrazine은 778,4 peak area/1,000,000로 휘발성 향기성분 전체 조성 중 가장 높은 비중을 차지하였다.

휘발성 향기성분 특성과 묘사분석 결과를 분석하여 최종적으로 세균 단독발효물 2종 (SW-03-7, KO-SM-11)과 세균-진균 혼합발효물 3종 (SW-03-7+M-SW-03-1, SW-03-7+M-KO-03-5, KO-SM-11+M-KO-03-5)을 선정하였다 (표 26).

표 26. 최종 선반된 된장 발효 미생물

		Description
Bacteria	SW-03-7	강원도에서 제조된 3년 숙성 된장에서 분리
	KO-SM-11	전남에서 제조된 염지 메주에서 분리 단백질 분해능이 좋음
Mould	M-KO-03-5	전남에서 제조된 된장에서 분리 탄수화물 분해능이 좋음
	M-SW-03-1	강원도에서 제조된 된장에서 분리 단백질 분해능이 좋음.

5. 발효 미생물 동정 및 특성 평가

가. 세균의 동정

최종 선발된 세균 3종에 대해 형태학적, 배양학적, 생화학적 특징을 분석하였으며 (표 27), 유전학적 동정을 위해서 16s ribosomal DNA sequencing을 한 후 BLASTN 프로그램과 ClustalW와 Mega 4 program을 이용하여 상동성을 비교 분석하여 phylogenetic tree를 작성하고 동정하였다 (그림 18). 선발된 균주는 한국미생물 보존센터에 유전자원 등록을 하였으며, 등록번호는 표에 표기하였다.

표 27. 최종 선발된 세균의 형태학적, 배양학적, 생화학적 특성

	SW-03-7 <i>B. subtilis</i> KCCM 11513P	DJ-DD-500 <i>B. licheniformis</i> KCCM 11511P	KO-SM-11 <i>B. methylotrophicus</i> KCCM 11512P
Gram staining	+	+	+
Rod shape	+	+	+
Endospore produced	+	+	+
Motility	+	+	+
Crystal formation	-	-	-
Lecithinase	-	-	-
Catalase	+	+	+
Growth in anaerobic agar	-	+	-
at 50°C	+	+	+
at 10% NaCl	+	+	+
Protein hydrolysis	+	-	+
Starch hydrolysis	+	-	+
Nitrate reduction to nitrate	+	+	+
Adipic acid	-	-	+
L-Arabinose	+	+	+
Arginine dihydrolase	+	+	-
β-Galactosidase	+	+	-
L-Histidine	+	-	+
Inositol	+	+	+
Lactic acid	+	+	+
Malic acid	+	+	+
Melibiose	+	+	+
Propionic acid	-	+	-
L-Rhamnose	-	+	+
D-Ribose	+	+	+
Salicin	+	+	+
Sodium acetate	-	+	-
D-sorbitol	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Trisodium citrate	+	+	+
Urease	+	-	-
Bvaleric acid	-	+	-

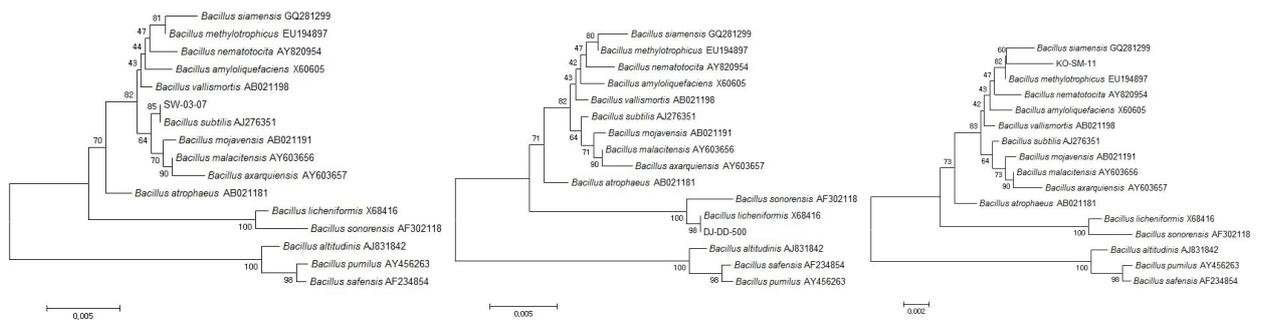


그림 18. 된장 발효미생물로 선발된 세균의 phylogenetic tree

나. 곰팡이의 동정

최종 선발된 mould의 동정은 균사체에서 genomic DNA를 분리하여 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAA CCTGCGG-3')와 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primer를 이용하여 ITS-5.8s rDNA sequencing으로, yeast는 chromosomal DNA를 분리하여, NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3')와 NS8 (5'-TCCGCTGGTTCACC TACGGA- 3') primer를 사용하여 18S ribosomal DNA sequencing으로 염기 서열 분석을 한 다음 BLASTN 프로그램, Clustal X 와 Mega 2 program를 이용하여 동정하였으며, phylogenetic tree와 PDA 배지에서 의 모습은 그림 19와 같다. 분리된 균주는 한국미생물 보존센터에 유전자원 등록을 하여, SW-03-1은 *Eurotium cristatum* KCCM 11515로, KO-03-5는 *Aspergillus oryzae*와 KCCM 11514P 로 등록되었다.

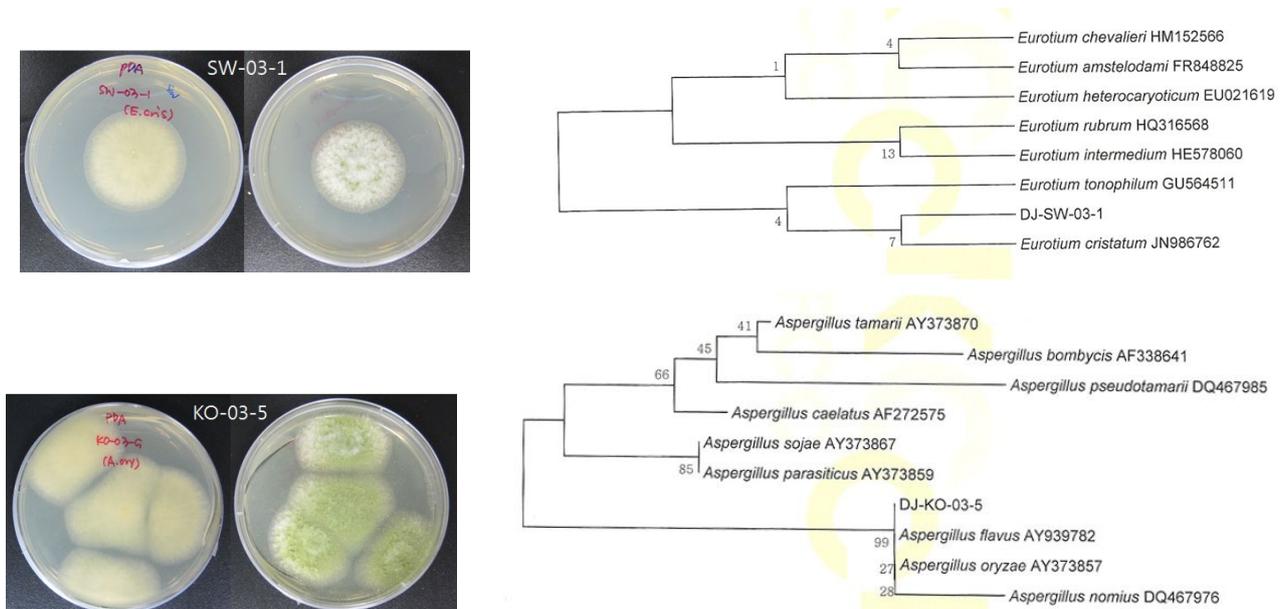


그림 19. 된장 발효미생물로 선발된 fungi의 phylogenetic tree와 PDA 배지에서의 모습

다. 선정된 발효 미생물의 growth kinetic

선발된 세균의 환경에 따른 성장 특성 변화를 분석하고, 담금시의 최적 발효 조건을 설정하기 위하여 콩알배지와 콩물배지를 조제하여 성장능을 평가하였다.

(1) 콩알 배지에서 배양 온도에 따른 발효 미생물의 growth kinetic

선발된 발효 세균 3종 (SW-03-7, KO-SM-11, DJ-DD-500)을 콩알 배지에 접종한 후 30℃, 50℃에서 키우면서 성장 곡선을 분석하였다. 그림 20에서 보느냐와 같이 세 개의 발효주 모두 콩알 배지에서 50℃ 배양구가 30℃ 배양구 보다 유도기가 짧았으며, 최대 성장률도 높았다.

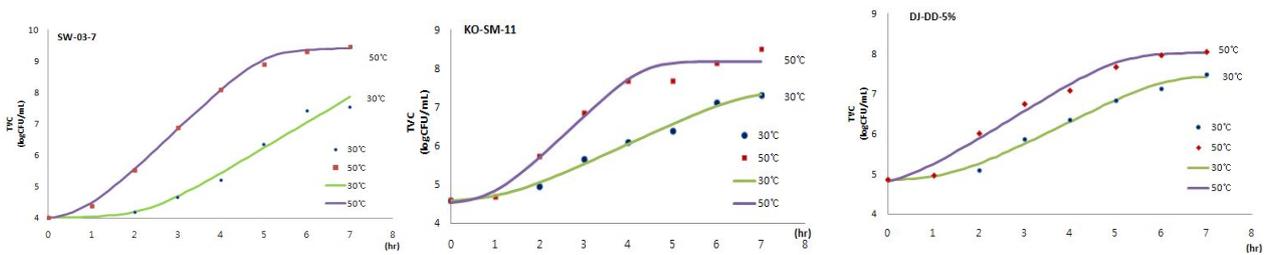


그림 20. 선발된 세균의 온도에 따른 성장 곡선

SW-03-7 분리주는 30℃과 50℃ 모두에서 높은 최대 성장률을 보여주었으며, 그 다음으로는 KO-SM-11이 높았다. 빠른 발효미생물의 성장은 된장에 존재할 수 있는 위해미생물의 성장을 억제하거나 지연시킬 수 있기 때문에 매우 중요하다. 본 연구에서는 두 가지 온도에서 성장률이 높은 SW-03-7과 KO-SM-11을 최종적으로 선정하였다.

표 28. 선발된 세균의 온도별 growth kinetic

	Lag time(h)		Max. Growth rate(/h)		R ²	
	30℃	50℃	30℃	50℃	30℃	50℃
SW-03-7	2.2743	0.8160	0.8109	1.3000	0.9656	0.9988
KO-SM-11	1.2300	0.9350	0.5282	1.0786	0.9793	0.9626
DJ-DD-500	1.3864	0.4654	0.5576	0.6949	0.9784	0.9756

(2) 콩알 배지에서 소금 농도에 따른 발효미생물의 growth kinetic

된장은 고염도의 소금을 포함하고 있기 때문에 소금 농도에 따른 발효주의 영향을 평가하기 위하여 콩알 배지에 각각 5%와 10%의 NaCl을 첨가하여 발효미생물 2종 (SW-03-7, KO-SM-11)의 성장 특성을 분석하였다 (그림 21).

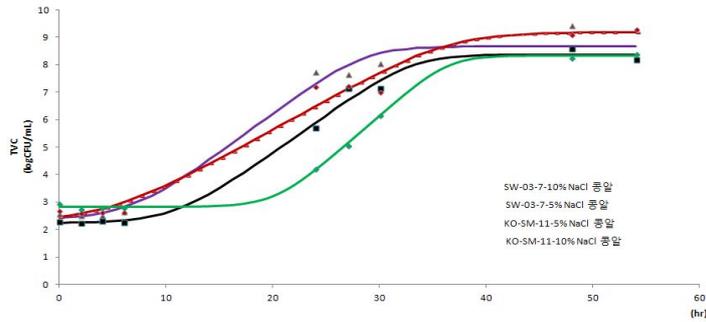


그림 21. 선발된 세균의 콩알 배지에서의 성장 곡선

두 종의 발효미생물 모두 소금 농도가 증가함에 따라 유도기는 차이를 보였으나, 최대 성장률에는 거의 차이가 없었다. SW-03-7은 5% 소금을 첨가한 것 보다 10% 소금을 첨가한 것이 유도기가 짧아 소금에 대한 높은 저항성이 있는 것을 확인하였다. 또한 SW-03-7은 KO-SM-11 보다 유도기가 짧아, 10% NaCl 첨가하여 배양시 KO-SM-11 발효주보다 4배 이상 빨리 성장이 시작하는 것을 확인하였다. KO-SM-11은 소금 첨가에 따라 유도기는 길어졌으나, 10% 소금 첨가하여 배양시 5% 소금을 첨가하여 배양한 것 보다 높은 성장률을 가지고 있는 것으로 분석되었다 (표 29). 두 개의 발효주 모두 병원성 미생물을 포함하는 대부분의 미생물의 성장이 일어나지 않는 10% 소금 농도 하에서도 성장 할 수 있다는 것을 확인하였다. 소금에 대한 저항성은 본 과제에서 제조할 된장의 미생물학적 안전성 확보에 중요한 역할이다.

표 29. 선발된 세균의 소금 농도에 따른 growth kinetic

	Lag time(h)		Max.Growth rate(/h)		R ²	
	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl
SW-03-7	6.847	5.279	0.288	0.215	0.971	0.971
KO-SM-11	10.928	20.303	0.278	0.341	0.989	0.998

(3) 천연배지에서 선정된 발효 미생물의 성장 특성

선발된 발효 미생물을 이용하여 된장 시제품 제조시 안전성 확보를 위해 발효미생물 활성화를 위해 콩물 배지를 조제하여 사용하였다. 우선 콩물 배지에 세균인 SW-03-7과 KO-SM-11를 접종하여 30℃에서 배양하면서 성장 특성과 소금 농도에 따른 변화도 분석하여 배양 시기를 선정하였다.

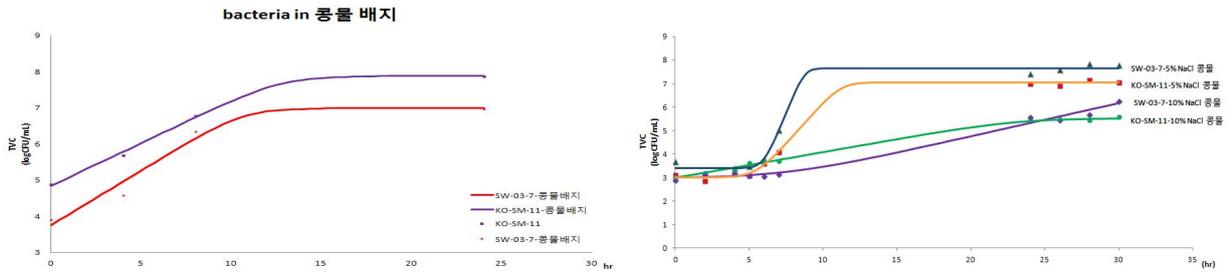


그림 22. 콩물 배지에서 선발된 세균의 성장 곡선

콩물배지에서 SM-03-7은 배양 약 6시간이후부터 성장이 시작하였으며, 배양 10시간 후 최대 균수에 도달하였으며, KO-SM-11도 약 6시간 이후부터 성장이 시작하여 배양 13시간 후 최대 균수에 도달하였다 (그림22, 표 30). 따라서 본 연구에서 최종 선발된 발효미생물은 콩 발효에 최적화 되어있으며, 소금에 대해서도 내성이 있음을 확인하였다. 따라서 된장 시제품 제조시 콩물배지를 사용하여 발효미생물을 최적화 하여 사용하였다.

표 30. 선발된 세균의 콩물 배지에서의 growth kinetics

	Lag time(h)		Max. Growth rate		R ²	
	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl
SW-03-7	5.9677	7.6315	1.5238	0.1416	0.9903	0.9839
KO-SM-11	5.5144	0.2782	0.7109	0.1120	0.9964	0.9954

효모도 공정에 투입시 안전성 확보를 위하여 세균의 경우와 같이 콩물에서 성장 특성을 평가 하였다. 최종 선발된 효모 3종을 소금이 5%, 10% 첨가한 콩물 배지에 접종하여 30℃에서 3일간 배양하면서 성장 곡선을 작성하였다 (그림 23). 된장의 염도가 8-10%이기 때문에 소금 농도 5%, 10% 농도 하에서 시험하였다.

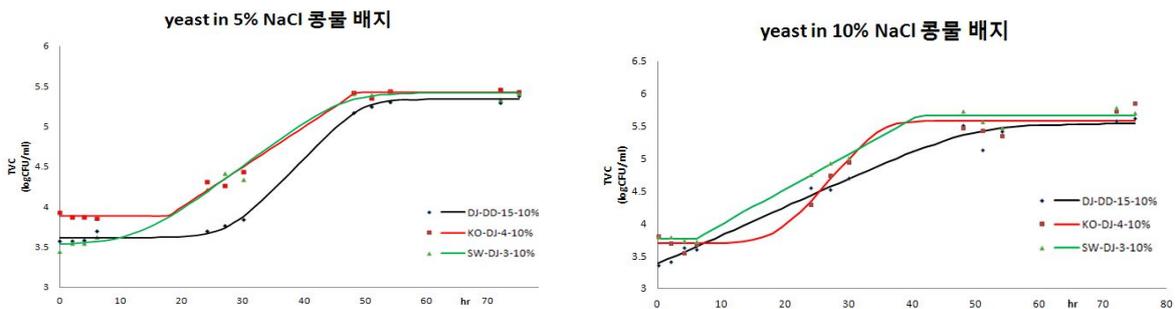


그림 23. 선발된 효모의 콩물 배지에서의 성장곡선

소금을 5% 첨가한 콩물배지에서 3일 배양 후 효모의 총균수는 12-DJ-DD-15, 12-KO-DJ-4, 12-SW-DJ-3가 각각 5.39, 5.44, 5.41 logCFU/ml였고, 10% 첨가시에는 5.62, 5.87, 5.72 logCFU/ml로 YM 배지보다는 최대 성장률이 낮았으나, 성장이 천천히 일어나는 것을 확인하였다. 유도기가 10시간 이상 요구되기 때문에 시제품 제조시 효모의 활성화를 위한 배양 시간에 반영하였다 (표 31).

표 31. 선발 효모의 염도가 다른 콩물 배지에서 growth kinetic

	Lag time(h)		Max. Growth rate(/h)		R ²	
	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl	5% NaCl	10% NaCl
12-DJ-DD-15	27.502	-	0.079	0.043	0.996	0.978
12-KO-DJ-4	17.805	18.436	0.050	0.113	0.992	0.962
12-SW-DJ-3	12.761	5.999	0.057	0.054	0.989	0.986

6. 선발된 발효 미생물을 이용한 발효 조건 설정

가. 발효 조건 모델 공정 고안

감각, 화학적 특성, 성장 특성 분석 결과로 최종적으로 세균 2종, mould 2종, 효모 3종이 선발되었으며, 감각적·화학적으로 우수한 균주의 조합은 3가지가 선택되었다 (표 32).

표 32. 된장 제조를 위해 최종 선발된 미생물

Isolates		
Bacteria		SW-03-7 (B1), KO-SM-11 (B2)
Fungi	Mould	SW-03-1 (M1), KO-03-5 (M2)
	Yeast	12-DJ-DD-15 (Y1), 12-KO-DJ-4 (Y2), 12-SW-DJ-3 (Y3)
Culture	Single	B1
	Mixed	B1+M1, B1+M2, B2+M2

선발된 미생물의 특성, 감각적·화학적 검사 결과 등을 고려하여 발효 및 숙성 온도, 혼합 시기 등을 달리한 5가지 제조 공정 모델을 고안하고, 된장 시제품을 제조 한 후 품질을 평가하였다 (그림 24).

① Group I (AL model)은 증숙 대두(115℃, 40분)에 활성화한 mould(M1, M2)를 전체의 0.3%가 되도록 접종한 후 30℃에서 9일간 배양시켰다. 활성화 시킨 세균(B1, B2)도 콩 무게 대비 0.3% 접종하여 50℃에서 3일간 배양 후, 각각의 발효물을 그룹별(B1+M1, B1+M2, B2+M2)로 1:1를 혼합하여 10% 소금을 첨가한 후 30℃에서 배양하였다.

② Group II는 다시 BL-1와 BL-2로 각각 제조되었다. BL-1은 증숙 대두(115℃, 40분)에서 발효에 영향을 주거나 위해미생물을 제거하기 위하여 균을 접종하지 않고, 50℃에서 5일간 배양하였다. 그 후 각각 활성화 된 mould와 세균을 전체의 0.3%를 동시에 접종하여 충분히 혼합 후 8% 염을 바로 첨가하여 혼합하여 30℃에서 배양, 숙성시켰다. BL-2는 활성화한 세균 발효주를 증숙 대두 전체의 0.3%를 접종한 후 50℃에서 5일간 배양하였다. 이와 같은 콩 발효물에 mould 발효주를 전체의 0.3% 접종하고 8%의 소금을 첨가한 뒤 30℃에서 배양, 숙성시켰다.

③ Group III (CL-III)은 증숙 대두에 mould 발효주를 접종 후(콩 무게 대비 0.1%) 30℃에서 5일간 배양한 다음 그 발효물에 활성화된 세균 (전체 0.1%)을 접종하고, 8% 염을 넣은 후 30℃에서 배양하였다.

④ Group IV (SWM model)은 메주 공정을 도입하여 참여 기업의 증숙기를 이용하여 증숙한 대두(110℃, 30분)에 활성화한 mould와 세균 발효주를 전체의 0.1% 접종한 후 기존 공정에서 사용되는 설비를 이용하여 메주로 제조한 다음 50℃에서 3일간 걸말림한 후 으개서 30도에서 20일간 배양한 후 8% 염을 추가하여 숙성시켰다.

나. 공정 모델별 품질 특성

(1) Group I (AL-model)

Group I의 숙성 기간별 품질특성을 분석한 결과는 표 33과 같다. AL-1 (B1+M1), AL-2 (B1+M2), AL-3 (B2+M2) 모두 숙성 기간이 증가할수록 pH는 감소하였고 적정 산도는 증가하였다. 아미노태질소도 숙성 기간이 증가할수록 증가하였고, B1과 M1을 혼합한 AL-1군이 AL-2와 AL-3군 보다 33일 숙성시 아미노태 질소가 618.6mg%로 가장 높았다. 바이오제닉 아민은 AL-2와 AL-3군이 각각 2129.2와 2455.9 mg/kg으로 매우 높은 수치를 보인 반면 AL-1은 885.9mg/kg로 확인되었다. (바이오제닉 아민 함량은 위탁연구 결과 참조)

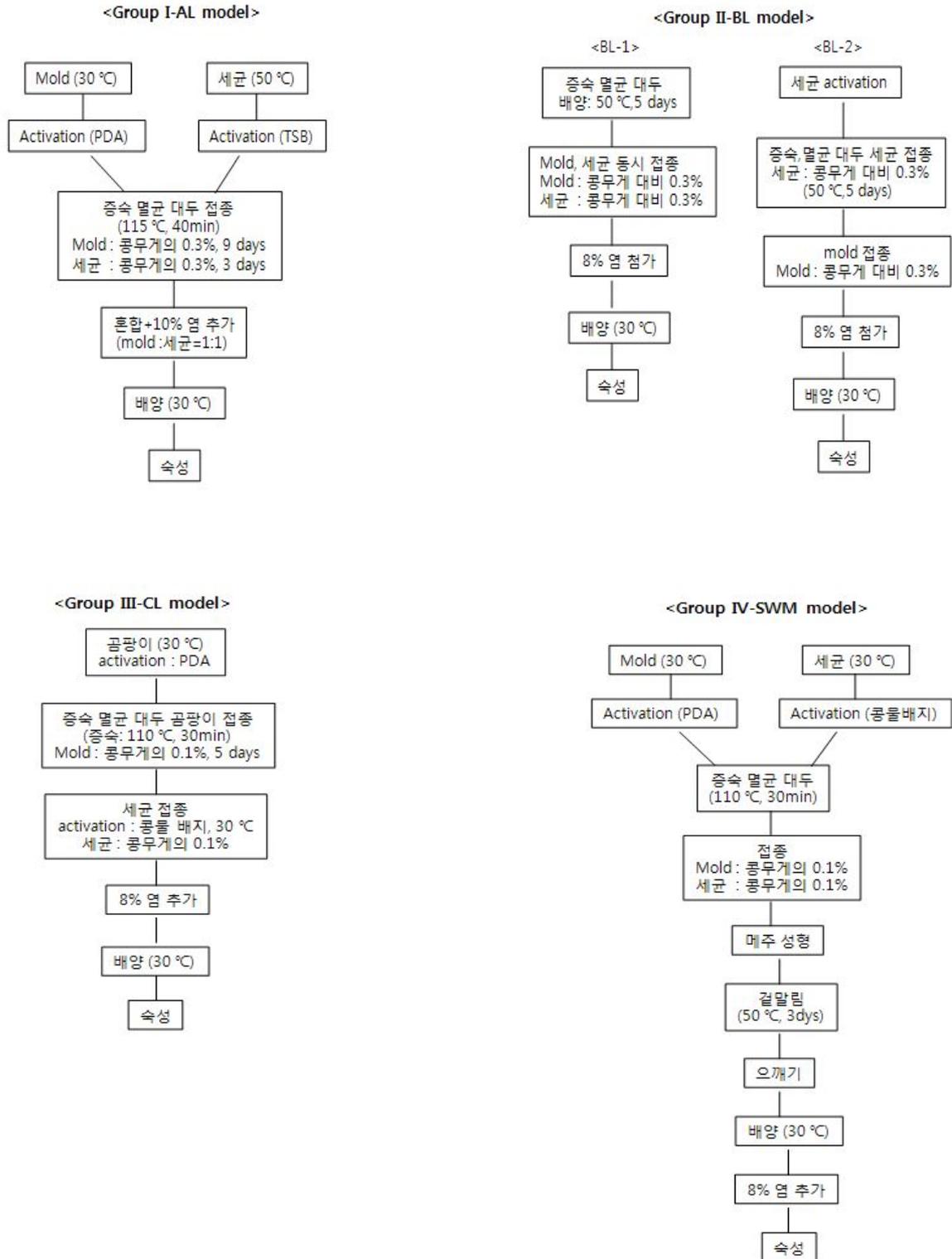


그림 24. 된장에서 분리된 발효주를 이용한 된장 시제품 공정안

표 33. AL model에 의해 제조된 된장 시제품의 이화학적 품질 특성

Group	Item	0d	18d	33d
AL-1 (B1+M1)	pH	6.75	6.08	5.85
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.62	1.33	1.97
	아미노태질소(mg%)	356.0	503.3	618.6
AL-2 (B1+M2)	pH	6.24	5.77	5.64
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.09	1.33	1.51
	아미노태질소(mg%)	370.3	464.2	495.6
AL-3 (B2+M2)	pH	6.14	5.81	5.81
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.76	1.41	1.71
	아미노태질소(mg%)	308.4	497.7	512.0

(2) Group II (BL-model)

초기 배양 온도인 50℃ 조건에서 세균과 mould를 동시에 접종하는 것과 세균 접종 후 mould를 접종하는 것에 따른 변화 유무를 확인하기 위하여 BL model을 고안하였다. 증숙, 멸균한 콩을 먼저 50℃로 배양하여 유해 미생물의 성장을 억제시키고 B1과 M1을 동시 접종한 BL-1군은 pH가 6.35-6.30으로 숙성 기간의 증가에 따른 변화가 나타나지 않았으나 발효주인 B1을 콩에 먼저 접종하여 50℃배양 한 후 M1 mould를 접종 한 BL-2군은 시간이 증가함에 따라 pH가 감소하였다. 두 개의 실험군 모두 숙성 기간이 늘어날수록 적정산도는 증가하였고 아미노태질소 역시 증가하였다. 특히 아미노태질소는 22일 배양까지는 비슷한 수준이었으나 83일 배양 후에는 BL-1이 1038.8mg%로서 BL-2보다 높은 수치를 보였다. 바이오제닉 아민 수치는 22일 배양 후 BL-1군이 682.9mg/kg에서 1532.7mg/kg로 66% 증가하였고 BL-2군이 760.4mg/kg에서 1141.4mg/kg로 44% 증가하였다 (표 34).

표 34. BL model에 의해 제조된 된장 시제품의 이화학적 품질 특성

Group	Item	0d	7d	22d	83d
BL-1 (B1+M1)	pH	6.35	6.24	6.28	6.30
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.10	1.66	2.11	3.20
	아미노태질소(mg%)	257.1	435.4	682.5	1038.8
BL-2 (B1+M1)	pH	6.80	6.60	6.51	6.19
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.00	1.54	2.10	2.81
	아미노태질소(mg%)	347.2	477.5	683.5	893.7

(3) Group III (CL-model)

발효주인 B1을 접종하여 배양 후 mould를 접종하는 BL 시료군과 제조 방법 차이에 따른 비교를 위하여 mould를 먼저 배양한 콩 발효물에 세균을 접종하는 CL model군을 만들어 아미노태질소, pH, 적정산도를 분석하였다 (표 35). CL-1(B1+M1), CL-2(B1+M2), CL-3(B2+M2) 시료군 모두 pH가 4.59-5.77로 AL 또는 BL군에 비해 상대적으로 낮았다. 적정 산도와 아미노태 질소는 숙성 기간이 증가할수록 증가하는 것으로 나타났고 CL-3 시료군이 37일 숙성 후 647.0mg%로 가장 높은 수치를 보였다.

표 35. CL model에 의해 제조된 된장 시제품의 이화학적 품질 특성

Group	Item	0d	13d	37d
CL-1 (B1+M1)	pH	4.79	4.71	5.77
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.01	1.67	2.89
	아미노태질소(mg%)	118.7	238.0	540.2
CL-2 (B1+M2)	pH	4.76	4.61	4.49
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.49	2.13	3.40
	아미노태질소(mg%)	177.8	348.0	608.6
CL-3 (B2+M2)	pH	4.96	4.79	4.59
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.11	2.23	3.43
	아미노태질소(mg%)	130.8	314.3	647.0

(4) Group IV (SWM model)

AL, BL, CL model의 실험 결과를 바탕으로 콩 무게 대비 0.1%의 mould와 발효주를 접종하고 메주 성형을 한 후 50℃ 걸말림을 하여 외부 오염균의 성장을 억제하는 방법을 최종적으로 결정하고 SWM 시료군을 제조하여 아미노태질소, pH, 적정산도 분석을 진행하였다. 제조된 된장 시제품의 안전성을 위하여 발효주의 활성화는 콩물 배지에서 진행하였다. 표 36에서 보는 바와 같이 SWM-1(B1)과 SWM-2(B1+M1)는 담근 직후 숙성 기간이 증가할수록 pH가 감소하는 것으로 나타났고 숙성 12일이 지난 후부터는 SWM-1은 4.88, 4.98, 4.92, SWM-2는 5.88, 5.49, 5.13으로 pH 변화가 거의 나타나지 않았다. 반면 SWM-3(B1+M2)은 숙성 21일 후 pH가 7.60으로 담근 직후 pH 6.40보다 증가하였고 21일 이후에는 다시 감소하였다. SWM-4(B2+M2)은 담근 직후부터 21일까지는 pH가 감소하였으나 숙성 21일 이후 증가하는 경향이 나타났다. 담근 직후 SWM-1, SWM-2, SWM-3, SWM-4의 아미노태질소는 각각 69.3, 34.3, 62.4, 45.0 mg%으로서 AL, BL, CL 시료군의 초기 아미노태질소 함량보다 낮았으며, 50℃에서 배양을 한 후 측정된 바이오제닉 아민 함량이 145.7, 118.3, 145.1, 108.1 mg/kg으로 비교적 낮았고 21일 숙성을 거친 후에

도 각각 834.9, 941.4, 1141.7, 729.1 mg/kg로서 다른 AL, BL, CL 시료군 보다 낮았다. 이것은 메주 성형을 거친 된장은 걸말림을 목적으로 50℃의 온도 조건하에서 배양을 해도 메주 내부 환경에는 영향을 주지 않기 때문에 나타난 결과로 예상된다.

표 36. SWM model에 의해 제조된 된장 시제품의 이화학적 품질 특성

Group	Item	0d	12d	21d	90d
SWM-1 (B1)	pH	6.63	4.88	4.98	4.92
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.37	2.63	2.20	2.87
	아미노태질소(mg%)	69.3	332.8	374.0	548.2
SWM-2 (B1+M1)	pH	6.50	5.88	5.49	5.13
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.23	1.07	1.47	2.63
	아미노태질소(mg%)	34.3	254.1	337.4	528.8
SWM-3 (B1+M2)	pH	6.40	7.95	7.60	5.62
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.39	0.40	0.60	2.63
	아미노태질소(mg%)	62.4	466.2	528.4	686.5
SWM-4 (B2+M2)	pH	6.36	5.11	4.92	6.60
	적정산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.35	1.70	1.87	1.54
	아미노태질소(mg%)	45.0	286.1	329.4	576.7

다. 발효 조건에 따른 바이오제닌 아민 함량

바이오제닉 아민(Biogenic amines, BAs)은 단백질을 함유한 식품의 유리아미노산이 저장 또는 발효, 숙성 과정에서 미생물이나 생화학적 활성으로 아미노산의 탈탄산 작용으로 생성되는 분해산물이다. 바이오제닉 아민은 어류제품, 낙동제품, 육류제품, 포도주, 등 다양한 식품에 함유되어 있다(Askar & Treptow, 1986; Brink 등, 1990). 바이오제닉 아민 생성과 관련되는 미생물은 *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* 등 많은 종이 있으며, 아시아 다양한 전통 발효 식품에서도 바이오제닉 아민이 검출되고 있다 (Stratton 등, 1991; Chin & Koehler, 1983; 식약청). 바이오제닉 아민은 신경활성이 있으며, 식품의 미생물에 의한 부패의 척도로도 사용되기도 한다. 바이오제닉 아민의 인체에 대한 위해 정도는 비교적 낮은 편이나, 다량 섭취 시 건강을 해칠 수 있다. 일단 바이오제닉 아민이 형성되면 살균이나 조리에 의해 파괴되지 않기 때문에 식품 제조과정에서 함량을 감소시키는 것이 중요하다고 알려져 있다.

전통 장류는 *Bacillus*, *Aspergillus*, 유산균 및 효모들의 복합적인 대사 과정으로 이루어져 있다. 장류 제조는 proteases 활성이 높은 *Bacillus*와 *Aspergillus* 속으로 단백질 함량이 높은 콩을 가

수분해하는 과정을 거치며, 적절한 증식 온도와 여러 미생물들의 상호 작용에 의한 발효가 이루어지기 때문에 biogenic amines이 생산되기 적당한 조건이다. 실제로 2006년 국내 유통 발효 식품 중에 biogenic amines 분포를 조사한 결과에 따르면 전통 된장의 putrescine 함량은 99.6 - 1453.7 (평균 462.6) mg/kg, histamine은 260.1 - 952 (평균 569.4) mg/kg, tyramine은 284.7 - 4143.7 (평균 669.5) mg/kg으로 한국인들이 주로 섭취하는 34종의 식품가운데 평균적으로 가장 높았고, 그 다음으로 멸치 젓갈, 현대식 간장, 재래식 간장, 현대식 된장 순이었다(Cho *et al.*, 2006). 바이오제닉 아민류 중 히스타민 등에 대해서는 EU 및 미국에서 관련 기준이 있지만, 은가다랑어 및 참치통조림에 대해 500 ppm이하로 규정하고 있다. 하지만 발효식품 등과 같이 발효 숙성 과정에서 자연적으로 생성되는 바이오제닉 아민에 대해서는 아직 명확한 기준은 없다. 하지만 간장, 된장, 액젓 등에서 발견되는 바이오제닉 아민의 함량은 섭취량 등을 고려시 생물학적 독성의 크기가 위해한 수준이 아닌 것으로 판단되고 있다 (식약청, 2010) 하지만, 식약청에서도 최적의 발효·숙성·저장조건에 따른 제조는 물론 우량균주의 선별을 통한 생성제어와 기타 제조과정 중의 첨가물 등을 통한 바이오 제닉 아민의 저감화를 권고하고 있다.

따라서 본 연구에서 공정 개발을 위해 처리 조건에 따른 된장 시제품의 바이오제닉 생성량을 분석하였다 (표 37). 모든 된장 시제품에서 histamine, serotonin, dopamine, spermine는 검출되지 않거나, 10 mg/kg 이하였고, 주로 검출되는 것은 tryptamine, phenylethylamine, putrescine, cadaverine, tyramine, spermidine 과 tyramine이었다. 발효기간이 증가할수록 바이오제닉 아민류의 화합물의 양은 증가하였으며, 초기값이 낮은 것일수록 함량도 낮았다. 초기 발효 온도가 높은 것이 초기 바이오 제닉 아민류 화합물의 양이 많았으므로, 낮은 발효 초기 온도를 선정하는 것이 바람직하다고 판단되었다. (위탁연구 결과, 첨부 자료)

표 37. Model별 제조된 된장 시제품의 바이오제닉 아민류 화합물 (mg/kg)

Group		0d	22d	33d
AL	AL-1 (B1+M1)	587.6	-	885.9
	AL-2 (B1+M1)	1830.2	-	2129.2
	AL-3 (B2+M2)	1492.9	-	2455.9
BL	BL-1 (B1+M1)	682.9	1532.7	-
	BL-2 (B1+M1)	760.4	1141.4	-
SWM	SWM-1 (B1)	145.7	834.9	-
	SWM-2 (B1+M1)	118.3	941.4	-
	SWM-3 (B1+M2)	145.1	1141.7	-
	SWM-4 (B2+M2)	108.1	729.1	-

라. 공정 모델별 된장의 감각적 품질 특성

공정 모델별로 제조된 된장 시제품은 focus group interview (FGI)에 의해 자유토론식으로 제시된 시료에 대해 토론하는 방법으로 관능검사가 진행되었다. 시료는 된장시제품과 이를 이용하여 만든 된장국으로 하였다. 된장 시제품 시료는 뚜껑이 있는 투명한 플라스틱 용기에 담아 실시하였고, 된장국은 뜨거운 물을 넣어 3%의 농도로 희석 후 뚜껑이 있는 사기 용기에 담아 밀폐시킨 후 제시하였다. 된장 시제품에서는 대부분의 시료에서 고소한 냄새가 났으며 이외에도 신내, 짠내, 간장내 등 다양한 냄새가 확인되었다. 발효물과 3% 농도로 희석한 콩발효물의 묘사분석 결과, 고소한 냄새가 있고 감칠맛이 확인된 SWM-1와 짠맛은 강하나 이미가 없는 SWM-3 시료군이 좋은 맛을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

표 38. 합의 프로파일(Consensus profiling)에 의한 90일 숙성한 SWM 시제품의 묘사분석

	B1 (SWM-1)	B1+M1 (SWM-2)	B1+M2 (SWM-3)	B2+M2 (SWM-4)
Sensory Attributes - Flavor				
된장시제품	고소한냄새 강함 간장냄새 강함 카라멜냄새 강함 메주냄새 약함 청국장냄새 약함 단내 약함 쓴내 약함 이취 약함	짠내 강함 신내 강함 고소한 냄새 강함 간장내 강함 단내 중간 쓴내 약함 청국장 냄새 중간	짠내 강함 고소한냄새 강함 단내 중간 국간장 냄새 중간 쓴내 중간 카라멜냄새 중간 이취 약함	덜삶은콩 풋내 강함 짠내 중간 청국장냄새 중간 단내 중간 이취 중간 메주냄새 중간 국간장 냄새 중간
된장국	고소한 냄새 강함 양조간장 강함 단내 중간 짠내 약함	짠내 강함 신내(상한 콩나물국 냄새)강함 이취(곰팡이내) 중간 양조간장냄새 중간 단내 중간 고소한냄새 약함	짠내 강함 고소한냄새 강함 단내 중간 국간장 냄새 중간 쓴내 중간 카라멜냄새 중간 이취 약함	덜삶은콩 풋내 강함 짠내 중간 청국장냄새 중간 단내 중간 이취 중간 메주냄새 중간 국간장 냄새 중간
Sensory Attributes - Taste				
된장시제품	고소한맛 강함 신맛 강함 단맛 중간 짠맛 중간 쓴맛 약함 조미료맛 중간	고소한맛 강함 단맛 강함 고소한맛 강함 짠맛 중간 쌈장맛 강함 청국장맛 강함 이미 중간	쓴맛 강함 짠맛 강함 국간장맛 중간 단맛 중간 고소한맛 중간	짠맛 강함 고소한맛 중간 신맛 중간 이미 중간 청국장 맛 강함 쓴맛 강함 화학약품맛 중간
된장국	고소한맛 중간 단맛 중간 조미료맛 중간 짠맛 약함 양조간장맛 약함 신맛 약함	신맛 강함 이미 강함 고소한맛 중간 단맛 중간 짠맛 중간 콩나물국 맛 강함	쓴맛 강함 짠맛 강함 국간장맛 중간 단맛 중간 고소한맛 중간	짠맛 강함 고소한맛 중간 신맛 중간 이미 중간 청국장 맛 강함 쓴맛 강함

마. 효모의 첨가에 따른 영향 평가

(1) 품질 변화

전통 된장으로서의 향미 개선을 위해서는 효모의 첨가가 필수적이다. 따라서 염을 첨가한 콩물 배지에서 높은 성장률이 확인된 Y1 (12-DJ-DD-15), Y2 (12-KO-DJ-4) Y3 (12-SW-DJ-3)를 숙성된 SWM시료에 첨가하여 아미노태질소, pH, 적정 산도의 변화를 확인하였다.

관능평가에서 좋은 맛을 가지고 있는 것으로 선정된 SWM-1 시료에 각각의 효모를 접종한 후 일주일 단위로 분석하여 변화 유무를 확인한 결과, 효모 첨가는 pH 수치를 증가시켰지만 산성 상태를 유지하였고 아미노태질소, 적정 산도에도 큰 영향을 미치지 않았다. 이것은 SWM-2, SWM-3, SWM-4에 효모 접종시에도 동일한 결과로 나타났다. 숙성 기간이 90일이 지나면 효모 또는 내부 미생물에 의한 콩 성분 변화는 더 이상 일어나지 않는다고 판단 된다. (표 39, 40).

표 39. 효모 첨가에 따른 SWM-1 시료의 이화학적 품질 특성

	Group	0d	7d	14d	21d	28d	32d
pH	SWM-1	4.92	5.10	5.02	4.99	5.03	5.06
	SWM-1-Y1	5.00	5.02	5.41	5.64	5.67	5.89
	SWM-1-Y2	4.82	6.87	5.12	5.28	5.40	5.47
	SWM-1-Y3	4.81	4.83	5.21	5.21	5.48	5.73
적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	SWM-1	2.87	3.55	3.85	3.55	3.23	3.93
	SWM-1-Y1	2.70	3.23	2.72	2.68	2.45	2.72
	SWM-1-Y2	2.99	3.06	3.03	2.60	2.59	3.03
	SWM-1-Y3	2.79	3.05	2.92	2.82	2.64	2.81
아미노태질소 (mg%)	SWM-1	548.2	639.8	638.2	699.7	614.6	766.7
	SWM-1-Y1	522.9	648.2	574.3	650.3	628.6	709.1
	SWM-1-Y2	477.4	539.0	417.3	543.3	569.8	609.0
	SWM-1-Y3	464.8	497.7	560.7	590.9	558.6	583.6
수분활성도	SWM-1	0.762	0.716	0.723	0.728	0.718	0.717
	SWM-1-Y1	0.769	0.718	0.730	0.723	0.712	0.733
	SWM-1-Y2	0.770	0.749	0.739	0.726	0.715	0.747
	SWM-1-Y3	0.772	0.755	0.733	0.728	0.717	0.742

SWM-1, B1; SWM-1-Y1, SWM-1+Y1; SWM-1-Y2, SWM-1+Y2; SWM-1-Y3, SWM-1+Y3

표 40. 효모 첨가에 따른 SWM-2~4 시료의 이화학적 품질 특성

	Group	0d	7d	21d	35d	42d	49d
pH	SWM-2	5.44	4.72	5.04	5.61	5.29	5.31
	SWM-2-Y3	5.38	5.02	5.09	5.59	5.31	5.32
	SWM-3	5.63	5.98	5.83	5.99	5.77	5.58
	SWM-3-Y2	5.82	5.68	6.02	6.13	5.84	5.92
	SWM-3-Y3	5.95	6.07	5.95	6.05	6.51	7.12
	SWM-4	5.95	6.03	6.41	6.41	6.62	6.56
	SWM-4-Y2	6.24	6.18	6.17	6.86	7.39	7.24
적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	SWM-2	2.16	2.63	2.31	2.03	2.25	3.79
	SWM-2-Y3	2.28	2.65	2.43	2.27	2.93	2.79
	SWM-3	2.33	2.02	1.68	1.95	2.39	2.46
	SWM-3-Y2	2.51	2.32	1.83	1.91	2.37	2.13
	SWM-3-Y3	2.51	1.95	1.95	2.01	1.78	1.22
	SWM-4	2.10	1.76	1.80	1.57	1.40	1.60
	SWM-4-Y2	1.96	1.83	2.26	1.36	1.25	1.32
아미노태질소 (mg%)	SWM-2	551.5	507.3	462.3	577.5	558.6	484.4
	SWM-2-Y3	562.8	476.0	477.4	595.7	653.7	623.2
	SWM-3	722.4	765.1	740.6	741.8	763.0	735.7
	SWM-3-Y2	706.3	736.1	765.8	786.1	760.2	798.7
	SWM-3-Y3	767.4	727.1	738.2	777.1	838.4	764.6
	SWM-4	542.6	534.1	634.9	648.1	628.7	653.8
	SWM-4-Y2	512.1	575.9	639.1	759.1	815.3	810.3
수분활성도	SWM-2	0.762	0.762	0.745	0.738	0.719	0.734
	SWM-2-Y3	0.769	0.769	0.742	0.733	0.721	0.721
	SWM-3	0.762	0.762	0.726	0.719	0.710	0.691
	SWM-3-Y2	0.769	0.769	0.724	0.704	0.700	0.683
	SWM-3-Y3	0.769	0.769	0.721	0.719	0.703	0.718
	SWM-4	0.762	0.762	0.734	0.755	0.752	0.726
	SWM-4-Y2	0.769	0.769	0.740	0.749	0.754	0.728

SWM-2, B1+M1; SWM-2-Y3, SWM-2+Y3; SWM-3, B1+M2; SWM-3-Y2, SWM-3+Y2;
SWM-3-Y3, SWM-3+Y3; SWM-4, B2+M2; SWM-4-Y2, SWM-3+Y2

(2) 감각적 특성

효모 첨가의 주된 목적인 향미 개선 여부를 확인하기 위하여 묘사분석을 실시하였다. 희석하지 않은 된장시제품과 3% 농도로 희석한 된장국의 묘사분석 결과는 표 41, 42와 같다. 첨가한 효모 종류에 따라 냄새와 향미에 대한 결과에 차이가 있는 것으로 나타났다. SWM-1 시료군은 된장 시제품에 비해 효모를 접종하지 않은 SWM-1가 가장 맛이 좋은 것으로 확인된 반면, 3% 농도로 희석한 된장국은 고소한 냄새가 강하고 전통 된장과 냄새가 비슷하면서 맛 역시 고소한 맛과 감칠맛이 있는 SWM-1-Y1 가 가장 좋은 평가를 받았다.

SWM-2, SWM-3, SWM-4에 각각의 효모를 접종한 경우에는 냄새에 있어서 짠내와 고소한 냄새가 강하게 나는 SWM-3-Y2 을 선호하였고 짠맛과 단맛이 강한 SWM-2-Y3 이 맛이 가장 좋

표 41. 합의 프로파일(Consensus profiling)에 의한 효모 첨가한 SWM-1 시제품의 묘사분석

	SWM-1-Y1	SWM-1-Y2	SWM-1-Y3
Sensory Attributes - Flavor			
된장 시제품	암모니아취 강함 쓴내 강함 짠내 강함 고소한 냄새 약함 단내 약함 메주내 약함	단내 강함 고소한내 중간 간장내(양조)중간 짠냄새 약함	간장(국)냄새 강함 암모니아취 중간 쓴내 중간 고소한냄새 중간 청국장 냄새 약함 단내 약함
된장국	고소한내 강함 암모니아취 강함 국간장 내 중간 승농냄새 중간 짠내 중간 단내 약함	청국장 냄새 강함 신내 강함 암모니아취 중간 고소한냄새 중간 짠내 중간 단내 약함 쓴내 강함	누룽지냄새 강함 고소한냄새 중간 암모니아취 중간 국간장냄새 중간 신내 중간 단내 약함
Sensory Attributes - Taste			
된장 시제품	쓴맛 강함 이미 강함 짠맛 강함 단맛 중간 청국장 맛 중간 고소한맛 약함	짠맛 강함 단맛 강함 고소한 맛 중간 이미 중간	짠맛 강함 고소한 중간 이미 중간 단맛 약함 쓴맛 약함 신맛 강함 조미료 중간
된장국	고소한맛 강함 조미료맛 강함 단맛 중간 짠맛 중간 구수한 맛 진하고 깊은 맛	청국장맛 강함 콩나물국 맛 강함 고소한 맛 중간 짠맛 약함 단맛 약함 이미약함	고소한맛 중간 짠맛 중간 조미료맛 중간 이미 중간 콩나물국 맛 약함 단맛 중간 국간장맛 약함 쓴맛 약함

은 것으로 나타났다. 그러나 전체적으로 효모를 첨가하지 않은 SWM-3이 고소한 냄새와 이미가 없기때문에 가장 선호하는 것으로 나타났다. 따라서 효모 첨가는 향미 변화를 유도하지만 전반적으로 효모를 첨가하지 않는 시료에 대한 선호도가 보다 높은 것을 확인할 수 있었다.

표 42. 합의 프로파일(Consensus profiling)에 의한 효모 첨가한 SWM-2-4 시제품의 묘사분석

	SWM-2-Y3	SWM-3-Y2	SWM-3-Y3	SWM-4-Y2
Sensory Attributes - Flavor				
된장	단내 강함	짠내 강함	이취 강함	곡물냄새 강함
시제품	짠내 중간	고소한내 강함	암모니아취 강함	메주냄새 강함
	간장냄새 중간	단내 강함	짠내 중간	고소한냄새 강함
	이취 약함	국간장냄새 강함	세제냄새 중간	콩가루냄새 강함
	카라멜냄새 중간	쓴내 중간	건어물 냄새 중간	이취 강함
	고소한냄새 중간	카라멜 냄새 중간	쓴내 중간	단내 강함
	메주냄새 중간	신내 약함	단내 중간	청국장분말 냄새 강함
			고소한냄새 중간	
		카라멜냄새 중간		
		신내 약함		
된장국	고소한내 강함	청국장내 강함	짠내 강함	락스냄새 강함
	메주내 강함	암모니아취 강함	고소한냄새 강함	암모니아취 강함
	짠내 강함	이취강함	단내 중간	신내 강함
	신내 강함	고소한내 약함	국간장 냄새 중간	쓴내 강함
	청국장냄새 중간	짠내 중간	쓴내 중간	고소한내 중간
	단내 중간	쓴내 중간	카라멜냄새 중간	단내 중간
		국간장냄새 중간	이취 약함	
Sensory Attributes - Taste				
된장	짠맛 강함	소금맛 강함	짠맛 시료중 가장 강함	쓴맛 시료중 가장 강함
시제품	단맛 강함	쓴맛 강함	쓴맛 강함	짠맛 강함
	고소한맛 중간	멸치육수 맛 중간	이미 중간	고소한 맛 강함
	짠맛 중간	이미 중간	고소한맛 중간	이미 강함
	쓴맛 중간	고소한맛 중간	조미료맛 중간	단맛 중간
	이미 중간		단맛 중간	청국장 맛 중간
				조개육수맛 강함
			조미료맛 중간	
된장국	짠맛 강함	고소한맛 강함	쓴맛 강함	짠맛강함
	청국장맛 강함	청국장맛 강함	짠맛 강함	신맛 강함
	단맛 중간	짠맛 중간	국간장맛 중간	이미 강함
	고소한맛 중간	이미 중간	단맛 중간	쓴맛 강함
	메주맛 중간	쓴맛 중간	고소한맛 중간	세제맛 강함
	양조간장맛 중간	단맛 강함		조미료맛 중간
	조미료맛 중간	표고버섯우린물맛 약함		생선비린맛 중간
	신맛 중간			고소한맛 강함
	짠맛 중간			고소한맛 중간
	쓴맛 약함			신맛 중간
	조미료맛 중간			이미 중간
				청국장 맛 강함
				쓴맛 강함
				화학약품맛 중간

바. 혼합 발효 공정 선정

다양한 방법으로 제조된 된장의 이화학 분석 결과와 묘사 분석 결과를 통해 효모 첨가를 통해 고소한 냄새 등이 증가하였지만, 고유한 된장 향으로 묘사하지 않아서, 본 연구에서는 효모의 첨가를 하지 않고, 세균과 mould를 이용한 발효 공정을 선택하였다. 하지만 암모니아취 같은 이취의 발생을 억제하기 위해 FL model 공정을 고안하고 이화학적 감각학적 검사와 더불어 기호도 검사를 수행하였다.

FL model은 각각 선발된 세균과 mould를 증숙공에 접종한 후 mould는 30℃에서 2일간, 세균은 30℃에서 1일간 단독 배양 후, 숙성 과정에서 발생하는 암모니아취등의 이취 발생을 최소화하기 위하여 15℃에서 2일간 건조하면서 수분을 증발시켰다. 그 후 건조된 콩을 분쇄하여 세균 발효공과 mould 발효 공을 9:1로 하여 혼합하여, 전체 무게와 동량의 물을 첨가 후 최종 농도가 8%가 되도록 염을 첨가하여 25℃에서 숙성하였다 (그림 25).

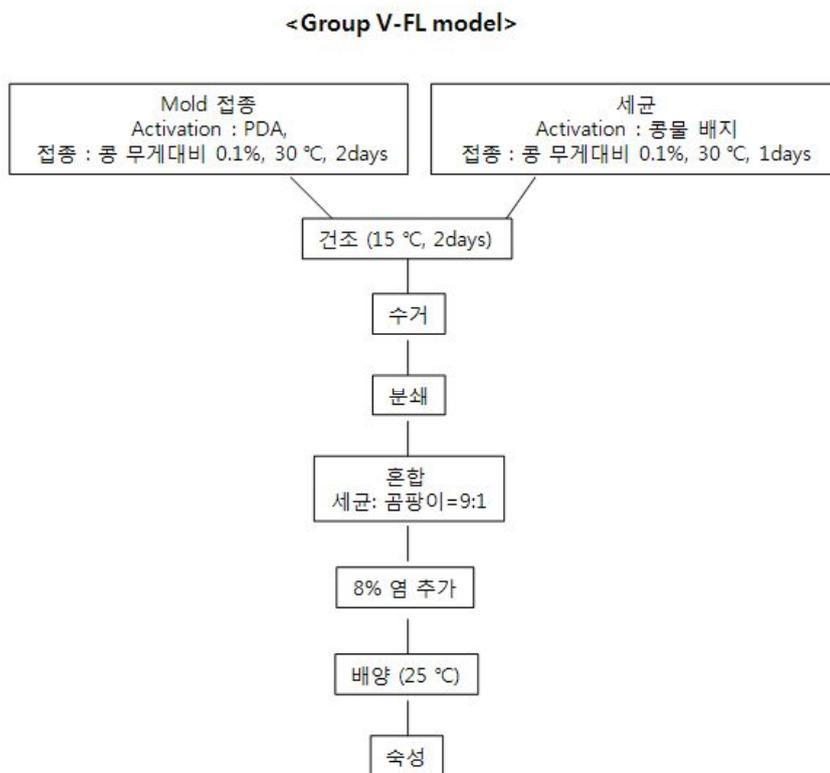


그림 25. 된장에서 분리된 발효주를 이용한 콩 발효물의 제조 공정

(1) 숙성 중 품질 변화

FL model을 통해 제조된 된장 시제품의 품질 분석 표 43과 같다. 각 처리구인 FL-1(B1), FL-2(B1+M1), FL-3(B1+M2), FL-4(B2+M2)의 pH는 담근 직후 6.24, 6.35, 6.21, 6.45에서, 숙성 기간의 증가에 따라 낮아졌으며, 적정 산도는 숙성 기간이 증가 할수록 증가하였다. 아미노태 질소 역시 숙성 기간이 증가할수록 증가하여, 25일 발효 후 FL-4는 350.7mg%까지 증가하였다.

표 43. FL model에 의해 제조된 콩된장 시제품의 품질 특성

Group		0d	14d	25d	40d	63d
FL-1 (B1)	pH	6.24	5.64	5.47	5.72	5.09
	적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.14	1.42	2.36	3.31	1.59
	아미노태질소(mg%)	144.9	248.4	223.9	266.5	385.0
	수분활성도	0.836	0.784	0.771	0.746	0.771
FL-2 (B1+M1)	pH	6.35	5.61	5.35	5.41	4.73
	적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	1.53	1.62	3.03	1.86	2.31
	아미노태질소(mg%)	135.2	273.8	307.3	311.2	392.7
	수분활성도	0.817	0.786	0.777	0.77	0.761
FL-3 (B1+M2)	pH	6.21	5.52	5.46	4.95	4.82
	적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.54	1.49	1.65	2.36	2.28
	아미노태질소(mg%)	79.0	194.0	275.2	332.7	380.1
	수분활성도	0.807	0.781	0.775	0.763	0.749
FL-4 (B2+M2)	pH	6.45	5.41	5.24	4.80	4.50
	적정 산도 (0.1N NaOH 소비 mL/g)	0.67	1.55	3.88	2.50	2.64
	아미노태질소(mg%)	103.3	306.2	350.7	562.1	456.4
	수분활성도	0.806	0.784	0.776	0.766	0.743

* Group FL-1, B1; FL-2, B1+M1; FL-3, B1+M2; FL-4, B2+M2

(2) 감각적 특성

선정된 혼합 발효 공정으로 제조된 된장 시제품 4종에 대해 감각적 특성 평가와 기호도 검사를 수행하였다. 관능검사는 된장 시제품 4종을 염도 0.7%의 농도로 되도록 95℃이상의 뜨거운 물 넣어 된장국을 제조한 후 한국식품연구원에 근무하고 있는 20-30대의 소비자 100명을 대상으로 관능검사실에서 실시하였다. 이때 시료 각각에 3자리 코드 (392, 243, 478, 172)를 붙인 뚜껑 있는 플라스틱 용기에 약 30ml씩 담아 뚜껑을 덮은 후 패널이 시료를 음용하기 직전에 따

뜻한 상태로 제시하여 7점법으로 평가하였다. 평가항목으로는 일반적인 된장 관련 이용실태, 관능검사자의 일반 사항 등을 조사하였다.

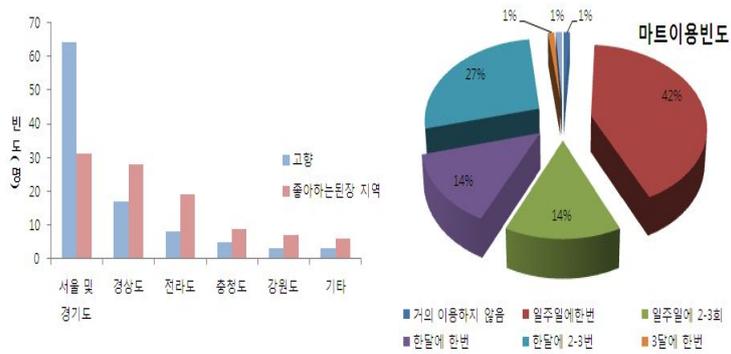
(가) 소비자 패널원 조사

실험에 참가한 대상의 소비자 패널원의 분포도 및 일반사항을 분석한 결과는 표 44 및 그림 26과 같다. 패널원의 연령은 20대 70명, 30대 25명, 40대 3명, 50대 2명으로 총 100명이었으며, 20-30대가 95%를 차지하였다. 가정에서 요리를 담당하는 사람은 24명이었고, 일주일에 아침과 점심식사는 거의하지 않고 주로 저녁식사를 집에서 하고 있었다. 마트 이용 빈도는 일주일에 한번이 42명, 한 달에 2-3번이 27명으로 많았다. 된장의 이용실태는 50% 이상이 된장을 마트에서 구입하며, 32%는 주위에서 제공을 받고, 된장은 3달(22%)이나 6개월(22%)에 한번 구매한다고 응답하였다. 또 된장 구매시 가장 고려하는 사항은 맛(60%), 원료의 원산지(20%), 브랜드(11%) 순으로 선호하였다. 된장을 주로 구입하는 장소는 대형 할인 매장 혹은 마트였고, 된장을 섭취 빈도는 일주일에 한번, 이틀이나 삼일에 한번 순으로 나타났다. 패널들은 집에서 섭취하고 있는 된장이 다른 가정과 비교해서 짠 정도가 보통이다라고 생각하였으며, 패널의 64%는 고향이 서울, 경기였으며, 선호하는 된장은 서울·경기가 31%, 전라도가 28%, 경상도가 19%, 기타 22%로 나타났다. 본 소비자 기호도 결과는 본 연구과제의 목표였던 젊은 세대 대상의 된장관련 이용실태와 일반 사항으로 20-30대의 생활 패턴을 예측할 수 있을 것으로 여겨진다.

한편 패널들의 구매의사를 물었을 때 각각의 대조구로 제공한 prototype 된장을 가장 많이 선호하였고, 그 다음이 B1+M1, B1+M2, B2+M2 순으로 나타나, 된장 시제품중 B1+M1 혼합발효 제품의 선호도가 가장 높았다.

표 44. 된장 시제품 검사에 참여한 소비자 패널의 분포도 및 일반 사항

		항목	빈도(명)	백분율(%)			항목	빈도(명)	백분율(%)
성별	남		13	13	요리담당	예	24	24	
	여		87	87		아니오	76	76	
연령	20대		70	70	식사준비 횟수 (회/주)	아침(0회)	67	67	
	30대		25	25		아침(1-3회)	21	21	
	40대		3	3		아침(4-7회)	12	12	
	50대		2	2		점심(0회)	64	64	
직업	학생		24	24	점심(1-3회)	33	33		
	회사원		76	76	점심(4-7회)	3	3		
가족 구성원수	1인		7	7	저녁(0회)	28	28		
	2인		8	8	저녁(1-3회)	44	44		
	3인		24	24	저녁(4-7회)	28	28		
	4인		50	50	20만원이하	59	59		
	5인		9	9	50만원이하	12	12		
	6인		2	2	90만원 이하	9	9		
					100만원이상	3	3		
					모름	17	17		



된장의 소비실태

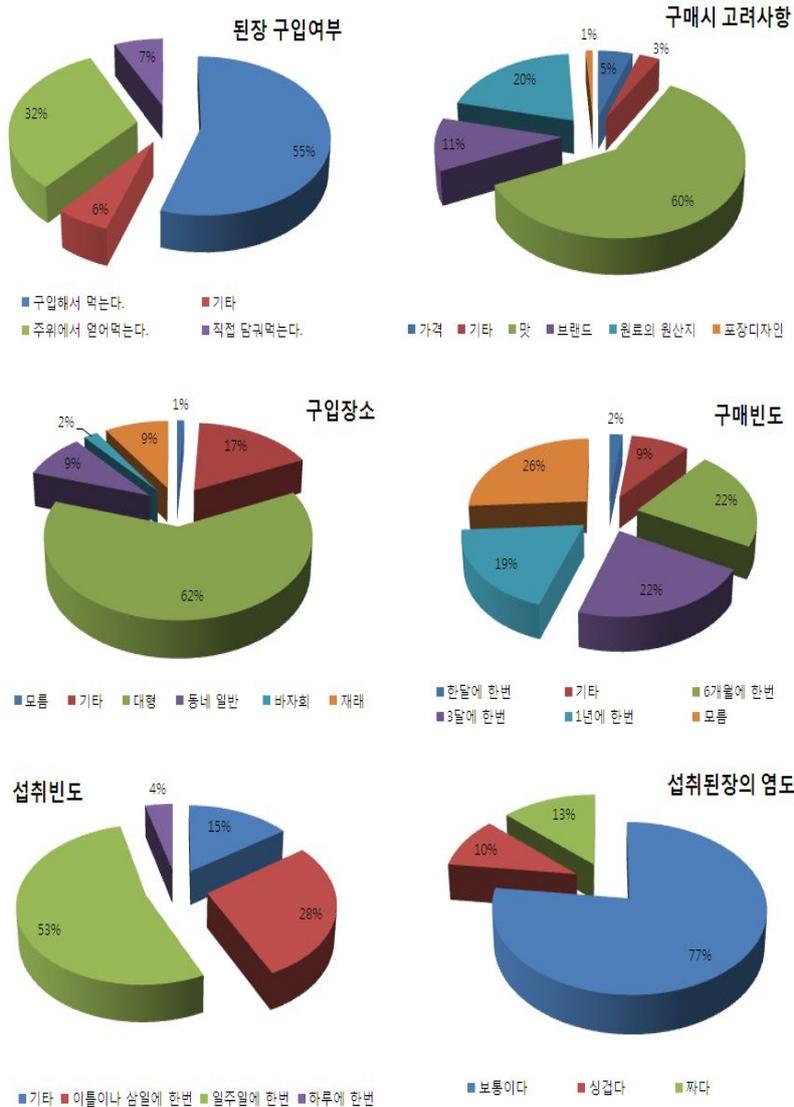


그림 26. 된장 시제품 검사에 참여한 소비자 패널 분석

(나) 소비자 기호도 검사

각 된장국 시료를 7점법으로 소비자 검사를 한 결과 색의 경우 prototype (SW) 된장을 가장 높게 평가하였고, 다른 세가지 된장 시제품은 4.10~4.30의 비슷한 점수로 평가하였다. 향에서는 prototype 된장이 가장 높았으며, 유사한 계열이 B1+M1 된장 시제품으로 분석되었다. 이 된장 시제품은 prototype 된장에서 분리된 종균으로 제조한 것으로 소비자 들이 본 과제에서 prototype 된장의 향과 감각적으로 유사하게 인지한다는 것을 확인하였다. 맛에서는 된장 시제품 모두 비슷한 점수를 받았으며, 이취는 B1+M2 시제품이 낮았다. 전반적인 기호도에서는 3가지 시제품 중 prototype에서 분리된 종균으로 제조된 B1+M1 된장이 가장 높았고, 그다음이 B1+M2, B2+M2순이었다.

표 45. 된장시제품으로 조제된 된장국의 소비자 기호도 검사

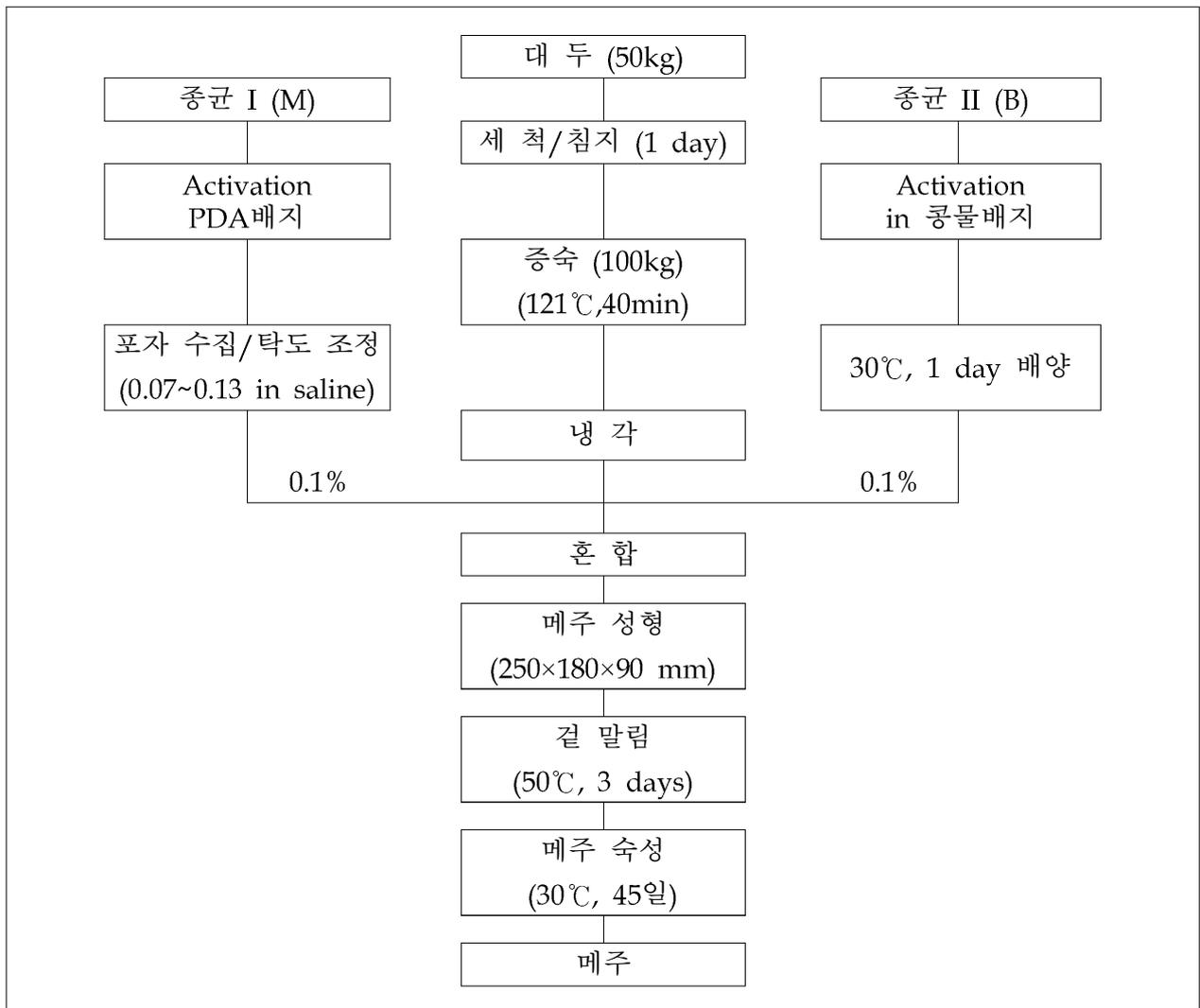
기호도	B1+M1	Prototype	B1+M2	B2+M2
색	4.30±1.25 ^b	4.92±1.17 ^a	4.10±1.20 ^b	4.11±1.21 ^b
향	4.41±1.39 ^{ab}	4.64±1.34 ^a	4.18±1.37 ^b	4.26±1.29 ^{ab}
맛	3.66±1.53 ^b	4.53±1.47 ^a	3.40±1.45 ^b	3.23±1.54 ^b
이취	3.84±1.51 ^{ab}	4.19±1.50 ^a	3.71±1.62 ^b	3.82±1.49 ^{ab}
전반적인기호도	3.93±1.51 ^b	4.66±1.41 ^a	3.66±1.44 ^{bc}	3.39±1.49 ^c
강도	B1+M1	Prototype	B1+M2	B2+M2
갈색정도	3.52±1.23 ^b	4.96±1.28 ^a	3.29±1.17 ^b	3.17±1.29 ^b
전통된장향	4.48±1.31 ^a	4.51±1.58 ^a	4.01±1.47 ^b	3.75±1.42 ^b
전통된장맛	4.00±1.39 ^{ab}	4.33±1.46 ^a	3.77±1.53 ^{bc}	3.48±1.38 ^c
이취강도	3.34±1.34 ^a	3.32±1.50 ^a	3.51±1.59 ^a	3.57±1.54 ^a

7. 된장 제조를 위한 공정 개발

최종 선발된 세균 2종 (세균B1, B2)은 대두추출액 및 동결건조 분말 형태로, 곰팡이 2종도 (M1, M2)도 보리에 배양하여, 건조 분말형태로 제조가 가능하기 때문에 유통이 가능하다. 또한 이들 종균을 이용하여 메주를 제조하여 고전적인 방법으로 된장을 제조할 수도 있으며, 속성으로 전통 된장의 향을 가진 된장 제조도 가능하다. 다음 그림은 대량으로 메주 제조 및 된장 제조를 위한 최적화 공정을 도식화 하였다.

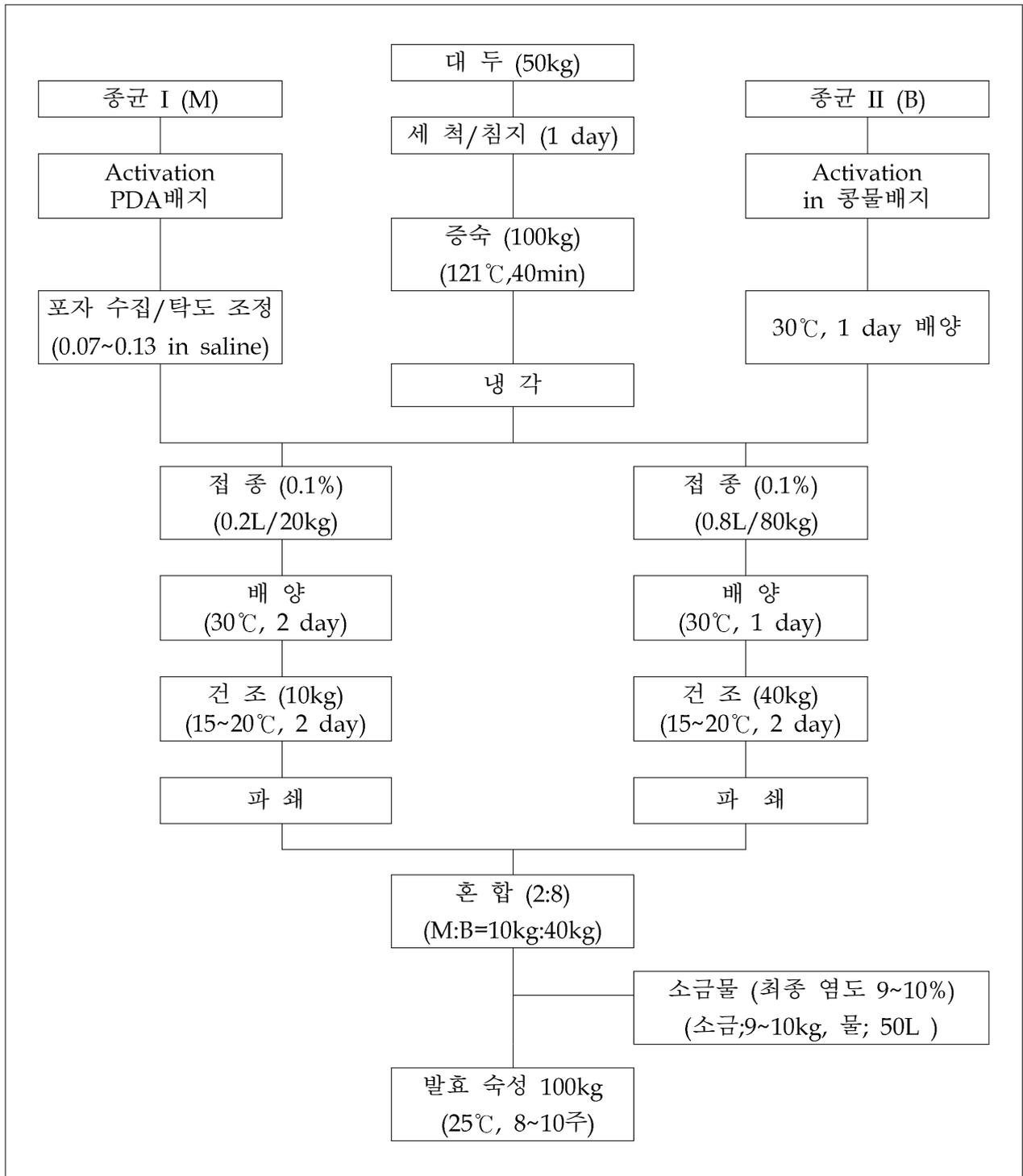
① 메주를 이용하여 된장을 제조하는 방법

원하는 종균을 증숙 대두에 0.1%씩 접종하여 충분히 혼합한 후 메주 모양을 성형하고, 걸말림, 발효 숙성 과정을 거쳐 약 50일 정도 발효 숙성을 시킨다. 종균으로 세균과 곰팡이를 같이 사용하거나, 세균만을 사용할 수 있다. 제조된 메주를 고전적인 방법으로 된장을 제조하거나, 분쇄하여 소금물을 넣고 25~30℃에서 4~6주 정도 숙성하면 된다.



② 숙성으로 된장을 제조하는 방법

원하는 종균을 증숙 대두에 0.1%씩 접종하여 충분히 혼합한 배양한 후 건조, 분쇄하여, 세균 단독 또는 세균 배양물과 곰팡이 배양물을 2:8로 섞고, 소금물을 최종 염도가 8~10%가 되도록 혼합하여 25℃에서 8~10주 배양하면, 된장 제조가 가능하다. 세균만을 이용하여 제조시 발효 속도가 느리기 때문에 10주는 숙성이 되어야 한다.



제 4 장 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

세부연구목표	연구개발 수행 내용	달성도 (%)
된장의 미생물 품질 평가 및 동태 분석	<ul style="list-style-type: none"> 된장의 위해미생물 오염도 분석 된장의 미생물적 동태 분석 및 발효미생물 수집 (세균, mould 등) 	100
된장의 발효미생물 분리 및 선정	<ul style="list-style-type: none"> 된장에서 fungi(39종)과 세균 (150종) 확보 환경에 따른 발효 미생물 영향 인자 분석 	100
Prototype 전통 된장의 선정 및 감각적 평가	<ul style="list-style-type: none"> 전통 된장의 감각적 평가 기호도 검사를 통한 prototype 된장 선발 	100
향기 기반 균주 선정 모델 시스템 작성	<ul style="list-style-type: none"> 발효 미생물 선발을 위한 공정 고안 및 된장 시제품 제조 및 감각적 평가 	100
향미성분 특성 도출	<ul style="list-style-type: none"> 단일 미생물을 이용한 된장 시제품 제조 및 화학적, 감각적 평가 혼합 발효로 된장 시제품 제조 및 평가 	100
복합 발효 조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> 미생물의 성장 특성을 고려한 복합 발효 조건 최적화 및 된장 시제품 제조 제조된 된장 시제품의 감각적 평가 	100
전통 된장의 화학적 향기 평가	위탁연구 결과 참조	100
전통 된장의 지표 향기 성분 도출		100
시제품의 향기 평가		100

제 5 장 연구개발 성과 및 성과 활용 계획

< 연구성과 >

- 논문
 - 전통 된장의 숙성 기간에 따른 감각·화학적 품질 특성. 한국식품영양과학회지 진행 중 (수정 후 채택)
- 산업지
 - Food Micro 2012 학회 참관 및 터키 발효 식품 조사. 2012년 25 (3) 292-296
- 학회 발표
 - Toxin gene profile and growth characteristics of *Bacillus cereus* isolates from *Doenjang* and *Meju*, Korean fermented soybean products. 2012.9.5 터키 이스탄불
- 기술이전
 - 서원농협전통장류가공공장, 2012-11-01~ 2017-10-31, 된장 제조용 발효미생물
- 홍보
 - 우리 전통 된장의 재발견. 2013년 6월 14일 (금) 식품 저널
- 특허 출원 : 3건 진행 중
 - 바실러스 서브틸리스 SW0307 및 이를 이용한 전통 된장의 보유한 된장의 숙성 제조방법
 - 바실러스 메틸로트로피쿠스 KOSM11 및 이를 이용한 전통 된장의 향미를 보유한 된장의 숙성 제조방법
 - 바실러스 리케미포미스 DJDD500 및 이를 이용한 전통 된장의 향미를 보유한 된장의 숙성 제조방법
- 유전자원 등록
 - 세균 3종과 곰팡이 2종에 대해 한국종균협회에 유전자원 등록

< 성과 활용 계획 >

- 된장 분리주의 향미 특성 DB화를 통해 소비자의 기호를 충족시킬 수 있는 향미를 가진 된장 생산 가능성 확인하여, 전통 된장의 시장 확대에 활용
- 전통 된장 제조를 위한 발효미생물 선발로 일정한 품질을 보유한 된장 제조 조건의 표준화 및 산업화에 활용
- 각기 고유의 특성화된 특징을 보유한 전통 발효 종균의 보존 및 계승

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

터어키 이스탄불에서 2012년 9월 3일부터 7일까지 개최되는 "International ICFMH Symposium Food Micro 2012"에 참석하여, 본 과제의 연구결과를 발표하고, 발효식품의 연구 동향 분석 및 정보를 습득하였음.

Food Micro 2012는 유럽지역에서 열리는 식품 미생물 관련 학회로 2년 마다 개최된다 (그림 참조). 이번 심포지움은 "Global Issues in Food Microbiology" 라는 주제 하에 Global Food Safety, Food Fermentation, Bioprotection, Food Biotechnology 등에 관한 연구 동향 및 결과가 발표되었다.

< 발효 관련 주요 내용 >

식품 발효에 관한 새로운 연구법으로 효과적인 발효 숙성을 유도하기 위한 Culture independent 방법, 발효식품에서 곰팡이 독소에 대한 노출을 최소화하기 위하여 synthetic receptor을 사용하는 방법 등이 제안되었으며, antifungal lactic acid bacteria을 이용한 biopreservatives 등의 내용이 발표되었다. 또한 발효 숙성 소시지 생산 과정 동안 다양하게 변화하는 환경 하에서의 병원균의 저감을 예측하기 위한 새로운 모델로 "Conferm"이 소개되었다. 또한 영양소 조성을 변화시켜 발효미생물의 발효 특성을 변화시키는 방법과 substratostat, automated and continuous fedbatch approach를 발효공정에 적용하는 방법도 소개되었다.

o Culture independent methods to assess the diversity and dynamics of microbiota during food fermentations

- Culture independent methods는 복잡한 미생물 ecosystems을 연구하기 위한 중요한 방법으로 1990년대 말 환경미생물학에서 처음으로 시작된 후 식품 발효 동안 미생물군의 변화를 연구하기 위해 식품 미생물학 분야에 적용되었다. Denaturation/temperature gradient gel electrophoresis (D/TGGE)는 최근 가장 많이 적용되는 기술이며, 이외에 single strand conformation polymorphism (SSCP), terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP), fluorescence in situ hybridization (FISH) 등도 사용되고 있다. DNA와 RNA 분석에 중점을 둔 분자생물학적 연구가 발효식품에서 정확한 미생물군의 profiling을 위한 target으로서 좀 더 적합한 것으로 보고되고 있다. 최근 culture independent 방법은 차세대 sequencing procedure로서 부각되어 졌으며, 거의 식품에서 microbial diversity를 프로파일 하기위한 방법으로서 유용하다.

- o The uses of synthetic receptors to reduce exposure to mycotoxins in fermented foods and beverages
 - Mycotoxin 오염은 영향을 농산물의 가치를 떨어뜨리고 소비자의 건강에도 나쁜 영향을 준다. Mycotoxin 영향을 최소화하기 위한 대중적 방법은 feed additive로 binding material을 사용하는 것이다. 활성탄 같은 흡착제가 농산물 특히 음료로부터 독소를 제거하기 위해 광범위하게 연구되었지만, 최근에는 합성물질로 대체되고 있다. Molecularly imprinted polymers와 cyclodextrin-based polymer (cyclodextrin polyurethane polymer) 등의 합성 흡착제는 더 단단하고, 흡착제 안에 분자 각인 부분이 통합되어있으며, SEM 분석 결과 다양한 크기의 channel을 가지는 smooth surface를 가지고 있어 제거 효율도 좋은 것으로 밝혀져서, 점차 그 활용도가 증가할 것으로 예상된다.
- o "Conferm"-a new tool to predict reduction of pathogens during production of fermented and matured sausages
 - 현재 소시지에서 사용되고 있는 *Salmonella*와 대장균에 대한 growth model과 non-thermal 모델은 일차적으로 수분활성도, sodium nitrite, pH, 온도 등의 static 영향에 중점을 두고 있다. 그러나 발효된 소시지가 생산되는 동안 계속적으로 변화하는 내부 인자와 온도 변화, 즉 dynamic condition 하에서 병원균의 감소를 예측하기 위한 모델을 발전시킨 것이 "Conferm" 모델이다. 대부분의 발효식품은 정지된 상태가 아니라 발효 숙성이 진행되면서 지속적으로 변화하기 때문에 앞으로 이런 dynamic condition 하에서 적용시킬 수 있는 모델의 개발 및 활용은 증가할 것이다.
- o Effect of nutrient depletion on parietal adsorption activity of *Saccharomyces cerevisiae* selected for winemaking
- o The substratostat, a novel automated and continuous fed-batch approach to fermentations, and its application in enology

식품에서 발효미생물의 multifunctional 기능에 관한 연구도 주요 본 학회의 주요 주제였다. 유산균들의 probiotic 기능 이외에, immune regulation, 비만 관련 기능 등이 소개 되었다.

- o Modulation of host microbiota, immune regulation and obesity related gene expression in a murine model, following dose dependent administration of putative probiotics from traditional fermented foods.
- o Multifunctional *Lactobacillus casei* strains as probiotics and cheese adjunct cultures

발효 식품의 풍미 및 효율 향상을 위해 두 가지 이상의 미생물을 이용하여 발효기법과 기능성을 향상시키는 분야에서도 많은 연구가 이루어지고 있었다. 이와 더불어 발효식품의 안전성 분야도 많은 연구 결과가 발표되었다.

- o Increasing of γ -aminobutyric acid production using a combination of two lactic acid bacterium strains
 - The use of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* cultures in the production of cabbage-carrot pickle fermentation
 - Inhibition of *Bacillus cereus* growth by bacteriocin producing *Bacillus subtilis* strains isolated from maari, a baobab seeds fermented condiment is substrate dependent
 - Influence of yeasts secondary flora on *Stilton* blue cheese aroma production

< 터키의 발효 식품 조사 >

터키는 이슬람교 국가이지만 다양한 전통주가 있다. 특히 “사자의 젖”이라고 불리는 터키의 국민주 라크(Raki)가 대표적이다. 이 술은 ‘메제’(Meze, 라크와 어울리는 차가운 안주들을 통칭하여 부르는 말)와 곁들여지는데 알콜 도수가 45도 정도로 독한 술로 물을 타서 얼음을 넣어 차게 먹는다고 한다.

야채 발효 식품인 투루슈(Tursusu) 는 우리나라의 장아찌와 비슷한 것으로 오이, 토마토, 고추 등을 이용하여 만들어진다. 재래시장 및 마트에서 다양한 제품이 판매되고 있었다.



< Turşusu, pickled vegetables founded all over Istanbul, Turkey >

유제품으로는 치즈와 음료가 있다. 터키의 치즈는 White 치즈, Kaşar 치즈, Tulum 치즈, Mihalic (Kelle) 치즈, Dil 치즈, Cerkez 치즈, Civil (Tel) 치즈, Van Otlu 치즈 등이 있으며, 질이 좋고, 짜지 않고, 부드러우면 신선한 것으로 유명하다. 유발효 음료는 양젖을 발효시켜 만든 아이란(Ayran)이 있다. 아이란은 발효된 요구르트를 물로 희석하여 소금과 얼음을 넣어 나는 음료이다. 이외에도 밀알, 옥수수, 보리 등을 발효시켜 만든 음료인 보자 (Boza)가 있다. 보자는 소량의 계피나 구운 콩 등과 함께 먹는 대중적인 겨울음료이다 .



< Turkish cheeses in Istanbul >

터키는 밀이 매우 우수한 것으로 알려져 있으며, 이 밀을 이용하여 만든 빵도 세계적으로 유명하다. 에크벡(Ekmek, 일반적인 흰 빵), 피데(Pide, 납작한 빵), 시미트(Simit, 깨를 뿌린 도너츠), 보렉(Boorek, 패스츄리) 등 다양한 빵류가 있으며, 특히 시미트는 길거리 가판에서도 자주 볼 수 있을 정도로 많다.

터키식 소세지인 수죽(Sucuk)은 건조하게 말린 매운 소시지로 발칸반도와 중동, 중앙아시아 지방에서 만들어 먹는다. 이 지역은 대부분 무슬림국가이기 때문에 돼지고기보다는 양고기나 말고기, 소고기로 만들고 무슬림국가가 아닌 경우 돼지로 만들기도 한다. 터키의 소시지는 대부분 맵고 짠데 그 이유는 만드는 과정에서 고추가루와 소금 마늘과 같은 매운 양념을 많이 하기 때문이다. 따라서 오래두고 먹을 수 있으며 저장음식이기도 하다. 시장에서는 소시지를 매달아 놓고, 필요한 만큼 잘라서 파는 모습이 인상적이었다



< Turkey sausage found in mark and traditional market >

제 7 장 연구시설·장비 현황
없 음

제 8 장 참고문헌

- Askar, A. & Treptow, H. 1986. Biogenic amine in Lebensmitteln. Vorkommen, Bedeutung und Bestimmung, Eugen Ulmer GmbH and Co, Stuttgart, Germany.
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.
- Brink, B., ten, Damink, C., Joosten H.M.L.J. & Huis in't Veld, J.H.J. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 11, 73-84.
- Carbone, I., & L.M. Kohn. 1993. Ribosomal DNA sequence divergence within international transcribed spacer 1 of the Selerotiniaceae. *Mycologia* 85: 415-427
- Chin, K.D.H. and koehler, P.E. 1983. Identification and estimation of histamine, tryptamine, phenylethylamine, and tyramine in soy sauce by thin layer chromatography of dansyl derivatives. *J. Food Sci.* 48, 1826-1828.
- Cho, T.Y., Han, G.H., Bahn, K.N., Son, Y.W., Jang, M.R., Lee, C.H., Kim, S.H., Kim, D.B., and Kim, S.B. 2006. Evaluation of biogenic amines in Korean commercial fermented foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38, 730 - 37.
- CLSI. 2011. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi; Approved Guideline, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA
- Hutchings JS. 1994. Instrumental specification. In Food colour and appearance. Blackie Academic & Professional, Bedford, U.K. p 217-223.
- Korea Foods Industry Association, Food Code. 2009. pp 549-551. Korean Foods Industry Association, Korea.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W. and Taylor, S.L. 1991. Biogenic amines in cheese and other fermented foods, A review. *J. Food Port.* 54, 460-470.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting , position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22, 4673-4680.
- White, T.J., T.D. Bruns, S.B. Lee, and J.W. Taylor. 1990. Amplycation and direct sequencing of fungal ribosomal DNA for phylogenetics, p.315-322 In M. A, Innis, D.H. Gelfand. J.J. Sninsky, and T.J. White(ed.) PCR protocols: a guide to the methods and applications academic Press, Inc., New York.

Yoon, J.H., Lee, S.T. & Park, Y.H. 1996. Inter-and intraspecific phylogenetic analysis of the genus *Nocardioides* and related taxa based on 16S rDNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, 187-194.

김혜경. 2009. 시판 된장의 관능적 특징 및 소비자 기호도. 이화여자대학교 석사학위논문

식품의약품안전청. 2010. 유해물질 총서- 바이오제닉 아민

황한준. 2008. 장류 중 바이오제닉 아민 저감화, 식품의약품안전청 연구보고서(주관연구기관: 고려대학교)

첨부 1. 된장의 소비 실태 및 관능검사 조사 양식 (1차)

- 된장의 prototype 선정시 진행

된장의 소비 실태 및 관능검사

안녕하십니까? 본 설문은 전통 된장의 품질 개선을 위하여 소비 실태와 관능평가를 하고자 합니다. 한 제품을 평가하신 후에는 물론 입을 행군 후 평가해 주세요. 바쁘신 중에도 본 설문에 참여해 주신 것에 진심으로 감사드립니다.
 2011년 월
 한국식품연구원 유통연구단 구경형

설문자 [* 해당 번호 난에 O를 해 주십시오]

설문자 연령 (1) 20~25세 (2) 25~30세 (3) 35~40세 (4) 40~45세 (5) 기타

설문자 연락처 [* 아래 빈칸을 기록하여 주십시오]

설문자 성명 : _____ 부서 ; _____

된장 관련 이용실태

- 귀하께서는 된장을 직접 담가 드시나요? 아니면 구입해서 드시나요?
 (1) 직접 담가 먹는다.
 (2) 구입해서 먹는다.
 (3) 주위에서 얻어먹는다.
 (4) 기타 ()
- 귀하는 된장을 얼마나 자주 구매하시나요?(구입해서 섭취한다면)
 한달에 한번 3달에 한번 6개월에 한번 1년에 한번 기타
- 귀하가 된장을 구매시 가장 중요하게 생각하는 사항은 무엇입니까 (1개만 선택)?
 맛 가격 원료의 원산지
 브랜드 프로모션(사은품, 할인 등) 포장 디자인
 포장 재질 광고 기타 _____
- 된장을 주로 구입하시는 곳은 어디인가요?
 (1) 동네 일반 슈퍼마켓 (4) 재래시장 - 찬가게
 (2) 대형 할인매장 혹은 마트 (5) 바자회 등과 같은 모임
 (3) 백화점 내 슈퍼마켓 (6) 기타
- 귀하는 된장을 얼마나 자주 섭취하시나요?
 매끼니마다 하루에 한번 이틀이나 삼일에 한번 일주일에 한번 기타
- 귀하께서는 섭취하고 있는 된장이 다른 가정과 비교해서 편 정도가 어느 정도라고 생각하십니까?
 (1) 상급다
 (2) 보통이다
 (3) 짜다

- 귀하의 고향의 어디입니까?
 (1)서울, 경기도 (2)강원도 (3)충청도 (4)전라도 (5)경상도 (6)기타
- 귀하께서 좋아하는 된장은 어떤 지방의 것이라고 생각하십니까?
 (1)서울, 경기도 (2)강원도 (3)충청도 (4)전라도 (5)경상도 (6)기타
- 덕에서 현재 같이 사는 가족은 총 몇 명인가요? 본인을 포함하여 말씀해 주세요.
 총 가족 수 () 명

| 제시된 전통된장으로 만든 된장국을 차례로 맛보신 후 아래 항목에 관하여 평가하여 주시기 바랍니다. (각 항목별 시료는 5개입니다.)

[기호도]					[특정장도]				
1) 색					1)갈색정도				
<input type="checkbox"/>									
대단히 싫음		보통		대단히 좋음	매우 약함		보통		매우 강함
2) 향					2)전통된장향				
<input type="checkbox"/>									
대단히 싫음		보통		대단히 좋음	매우 약함		보통		매우 강함
3) 맛					3)전통된장맛				
<input type="checkbox"/>									
대단히 싫음		보통		대단히 좋음	매우 약함		보통		매우 강함
4. 이취					3) 이취				
<input type="checkbox"/>									
대단히 싫음		보통		대단히 좋음	매우 약함		보통		매우 강함
* 전반적 기호도					* 의견				
<input type="checkbox"/>									
대단히 싫음		중지도 싫지도 않음		대단히 좋음					

첨부 2 된장의 소비 실태 및 관능검사 조사 양식 (2차)

- 된장 시제품 평가를 위해 진행

전통 된장의 소비 실태 및 관능검사

안녕하십니까? 본 설문은 신기술을 이용하여 제조된 전통 된장의 상품화를 위하여 기획된 것입니다. 귀하께서 작성해준 의견은 소중한 자료가 될 것이며 연구 목적 이외의 다른 용도로는 사용되지 않을 것입니다. 바쁘신 중에도 본 설문에 참여해 주신 것에 진심으로 감사드립니다.

2014년 1월
한국식품연구원 유통연구단 구경형

설문자 [* 해당 번호 내에 ○를 해 주십시오]

설문자 연령 (1) 20~25세 (2) 25~30세 (3) 35~40세 (4) 40~45세 (5) 기타

설문자 연락처 [* 아래 빈칸을 기록하여 주십시오]

설문자 성명 : _____ 부서 ; _____

된장 관련 이용실태

- 귀하께서는 된장을 직접 담가 드시나요? 아니면 구입해서 드시나요?
(1) 직접 담가 먹는다.
(2) 구입해서 먹는다.
(3) 주위에서 얻어먹는다.
(4) 기타 ()
- 귀하는 된장을 얼마나 자주 구매하시나요?(구입해서 섭취한다면)
 한달에 한번 3달에 한번 6개월에 한번 1년에 한번 기타
- 귀하가 된장을 구매시 가장 중요하게 생각하는 사항은 무엇입니까 (1개만 선택)?
 맛 가격 원료의 원산지
 브랜드 프로모션(사은품, 할인 등) 포장 디자인
 포장 체계 광고 기타 _____
- 된장을 주로 구입하시는 곳은 어디인가요?
(1) 동네 일반 슈퍼마켓 (4) 재래시장 - 찬가게
(2) 대형 할인매장 혹은 마트 (5) 바자회 등과 같은 모임
(3) 백화점 내 슈퍼마켓 (6) 기타
- 귀하는 된장을 얼마나 자주 섭취하시나요?
 매끼나매 마다 하루에 한번 이틀이나 삼일에 한번 일주일에 한번 기타
- 귀하께서는 섭취하고 있는 된장이 다른 가정과 비교해서 짠 정도가 어느 정도라고 생각하십니까?
(1) 싱겁다
(2) 보통이다
(3) 짜다

일반사항

- 성별 남 여
- 연령 20세 이하 21-30 31-40 41-50 51-60 61세 이상
- 귀하가 함께 거주하는 가족구성원은 몇명입니까? _____
- 귀하의 직업은?
 학생 공무원 회사원 자영업 전문직 주부 기타 _____
- 귀하는 가정에서 주 요리 담당하는 사람입니까? 예 아니요
- 일주일에 식사별 몇회정도 직접 식사를 준비하십니까?
 아침(____회) 점심(____회) 저녁(____회)
- 맛트를 얼마나 자주 이용하십니까?
 일주일에 2~3번 일주일에 한번 한 달에 2~3번 한 달에 한번
 3달에 한번 6개월에 한번 1년에 한번 거의 이용하지 않음
- 귀하는 식생활비(외식비 제외)로 한달에 얼마 정도 지출하십니까?

7. 귀하의 고향의 어디십니까?

(1)서울, 경기도 (2)강원도 (3)충청도 (4)전라도 (5)경상도 (6)기타

8. 귀하께서 좋아하는 된장은 어떤 지방의 것이라고 생각하십니까?

(1)서울, 경기도 (2)강원도 (3)충청도 (4)전라도 (5)경상도 (6)기타

9. 덕에서 현재 같이 사는 가족은 총 몇 명인가요? 본인을 포함하여 말씀해 주세요.

총 가족 수 () 명

앞에 제시된 신기술 이용 전통 된장으로 제조된 된장국을 차례로 맛보신 후 아래 항목에 관하여 평가하여 주시기 바랍니다. (각 항목별 시료는 4개입니다.)

	[기호도]	[특성강도]
1) 색	<input type="checkbox"/> 대단히 싫음 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 대단히 좋음	<input type="checkbox"/> 매우 약함 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 매우 강함
2) 향	<input type="checkbox"/> 대단히 싫음 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 대단히 좋음	<input type="checkbox"/> 매우 약함 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 매우 강함
3) 맛	<input type="checkbox"/> 대단히 싫음 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 대단히 좋음	<input type="checkbox"/> 매우 약함 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 매우 강함
4. 이취	<input type="checkbox"/> 대단히 싫음 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 대단히 좋음	<input type="checkbox"/> 매우 약함 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 매우 강함
※ 전반적 기호도		※ 의견
<input type="checkbox"/> 대단히 싫음 <input type="checkbox"/> 좋지도 싫지도 않음 <input type="checkbox"/> 대단히 좋음		

협동과제

요 약 문

I. 제 목 : 전통된장 산업화 공정개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

전국에서 수거한 된장에서 분리한 새로운 균주를 이용하여 전통된장의 깊은 맛을 재현하고 대량생산 할 수 있는 균주의 공급 방법을 개발하는데 그 목적이 있다.

2. 연구개발의 필요성

○ 우리나라의 전통식품 중 콩을 원료로 한 발효식품으로 간장, 된장, 고추장 그리고 청국장 등이 있다. 이것들은 모두 미생물에 의하여 발효시킨 식품으로 영양학적 우수성과 기호성 및 기능성을 갖춘 세계적인 식품이다.

○ 재래식 된장발효에 관여하는 미생물에 관한 연구가 많이 진행되었음에도 불구하고 국내에서 생산되는 된장은 대부분 일본에서 이용하는 균주와 기술을 전수 받아 생산하는 것이어서 우리 입맛에 맞는 전통 된장을 지속적으로 연구하여 발전시킬 필요가 있다.

○ 전통 된장에 대한 연구결과가 산업화에 도입되어 전통 된장을 고품질로 하거나 체계적이고 재현성 있는 품질관리시스템을 적용한 사례는 거의 없다고 하겠다.

○ 이에 본 연구는 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용할 수 있는 선발된 우수균주의 특성과 공급방법을 통하여 제조공정을 표준화시키고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정분석

가. 전국의 된장 수집 및 품질특성조사

- (1) 수집된 된장제품의 수분함량, 염도측정
- (2) 수집된 된장제품의 조단백질, 지방, 아미노태질소함량
- (3) 된장의 아미노산함량, 색도 측정

나. 전통된장 제조공정 비교분석

2. 대량생산을 위한 공정개발

- (1) 된장제품에서 우수균주 분리
- (2) 단백질과 전분 분해력이 우수한 균주선발
- (3) 선발된 균주를 이용한 된장제조 및 품질특성조사
 - 된장의 수분, 아미노태질소, 염도 등 분석
- (4) 단일 배양과 혼합 배양을 통한 된장제조실험

3. 종균의 대량배양 및 공급기술개발

- (1) 선발균주를 이용한 된장의 대량 제조조건 설정
 - 된장의 현장제조실험
- (2) 선발된 균주를 이용한 된장의 발효 중 품질특성 변화 조사
 - 된장의 발효 중 수분, 아미노태질소, 염도 등 분석
- (3) 종균의 공급 기술 개발
 - 선발된 균주의 생육특성조사
 - 스타터 개발을 위한 제조 조건설정

IV. 연구개발결과

1. Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정분석

가. 전국에서 맛이 우수하다고 알려진 전통된장과 개량식 된장 10건을 수거하여 품질 특성을 조사하였다. 제품의 품질을 좌우하는 수분, 아미노태질소, 아미노산, 색도 등을 분석하여 품질특성을 규명하였다.

나. 개량식된장인 HJD(448.2mg%), HJ(352.6mg%)보다 전통방식으로 제조된 KK(861.3mg%), SW3(926.3mg%)등이 높은 아미노태질소 함량을 보였다. 이것은 전통된장은 대두를 100%사용하여 제조하기 때문에 단백질분해에 의하여 아미노태질소 함량이 개량식된장보다 높고 개량식된장은 소맥분과 쌀, 대두를 주로 이용하여 제조하기 때문이다.

다. 전통된장 제조공정과 개량식 제조공정의 주요 차이점은 첫째로 전통식은 주로 짚을 이용하여 성형한 메주를 발효시키고 개량식은 단일 및 혼합균주를 사용하여 원료를 발효시킨다는 차이점이다. 둘째로 전통식은 발효실은 있으나 온도, 습도조절이 불가능하여 품질이 불균일하다. 개량식은 제국실을 이용하여 발효하므로 발효균주의 최적생육조건을 맞출 수 있어 단기간에 발효숙성이 가능하고 품질관리가 가능하다.

2. 대량생산을 위한 공정개발

가. 전통된장에서 분리된 101종의 세균들 중에 단백질분해력과 전분분해력이 높은 균주를 선발하기 위하여 clear zone 크기를 통하여 선발하였다.

나. 감각화학적 분석과 효소활성 등 세부과제와 협의를 거쳐 1차로 세균 5종과 곰팡이 2종을 선발하여 단일 및 혼합균주로 17종의 된장 시료균을 제조하여 발효속성 시킨 후 품질평가를 하였으며 시료균에 따라 품질차이가 많았다.

다. 세부과제와 협동과제를 통하여 최종적으로 세균 SW-37(*Bacillus subtilis*), KOSM-11(*Bacillus methylotrophicus*)과 곰팡이 DJSW-31 (*Eurotium* sp), DJKO-35(*Aspergillus* sp) 4종을 선정하였다.

라. 현장에서 사용할 4개의 균주 혼합 실험균은 첫째, 메주형태로 제조한 균과 둘째 알콩 형태에 균을 직접 접종 혼합하여 제조한 알콩메주균 형태로 제조하여 총 8개의 실험균을 만들어 품질변화를 측정하였다.

마. 메주형태로 제조된 4개의 된장시료를 품질평가 하였다. 4개의 시료균 모두 전통된장으로서의 품질규격을 모두 만족하였고 풍미도 우수하였다. 세균 2종과 곰팡이 2종을 이용하여 다양한 조합으로 전통된장을 제조할 수 있을 것이다.

메주형 된장과 알콩메주형 된장의 glutamic acid 함량비교 시 메주형된장 함량이 우수하였다. 알콩메주형 된장은 건조공정과 대두분쇄공정이 더 필요 할 것으로 사료된다.

3. 종균의 대량배양 및 공급기술개발

가. 최종적으로 선정된 세균 SW-37(*Bacillus subtilis*), KOSM-11(*Bacillus methylotrophicus*)과 곰팡이 DJSW-31 (*Eurotium* sp), DJKO-35(*Aspergillus* sp) 4종의 생육조건을 설정하였다.

나. 분리한 두 균주 SW-37, KOSM-11의 배지원료 조성을 실험한 결과 대두추출 물과 효모분 0.3%에서 가장 생육활성이 좋은 것으로 나타났다.

산업체 현장에서 계속적으로 용이하게 저렴한 비용으로 공급한다면 간편하고 비용이 적게 드는 효모분말(식품첨가물용)을 이용하여 제조하고 액상으로 공급하는 방법이 좋을 것이다.

다. SW-37과 KOSM-11 균주의 원활한 공급을 위하여 동결건조 후의 생육활성을 본 결과 SW-37균이 KOSM-11보다 동결건조 후에도 생육활성이 양호하였으나 두 균 모두 9-10 log cfu/mL로 검출되어 액체 및 동결건조하여 공급 가능함을 확인하였다.

라. 분리한 곰팡이의 곡물배지 원료에 따른 균주활성 결과를 보았다. 곡물배지별 균주 배양결과 DJSW-31은 쌀 원료, DJKO 35는 보리원료에서 9 log cfu/mL로 가장 생육활성이 좋은 것으로 나타났다. 곡물원료 배지를 이용한 두 균주의 보존활성을 본 결과 열풍건조와 동결건조 후에도 생육활성이 양호하였고 작업성과 경제성을 고려하여 열풍건조 후 균주를 공급하는 것이 좋을 것이다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구성과

1. 기술컨설팅

서원농협가공공장 (전통된장 제조용 세균과 곰팡이 이용 및 품질관리 방법)

2. 특허 출원 계획

우수균주(세균과 곰팡이)를 이용한 전통된장 제조방법

제 2절 성과 활용계획

1. 참여기업에 대해 우선적으로 기술이전을 실시 할 계획이며 다음으로 장류관련업체에 기술이전을 실시할 계획임
2. 선발된 균주의 산업체 기술이전으로 다양한 전통된장 생산 및 매출에 기여
3. 대두원료를 이용한 제품다양화로 지역농업 활성화에 기여
4. 전통발효식품 과학화로 많은 중소기업들의 참여확대가능
5. 우리 맛을 내는 우수 발효균주 확보 및 보급가능

SUMMARY

I. Title

A study on the Process Development for Commercialization in Traditional *Doenjang*.

II. Objective and Necessity

1. Objective

The objective is to reproduce *Doenjang's* own unique taste by using newly strains isolated from *Doenjang* that has been collected nationwide and furthermore to develop how to supply that strains for mass production of it.

2. Necessity in research and development

Soybean processed fermented food include soysauce, *Doenjang*, *Gochujang* and *Chungkukjang* among our Korean traditional food. All of these foods fermented by strains are internationally noted for its own nutritional excellency, preference and functionality.

The study on the strains involved with the fermentation of traditional *Doenjang* has been conducted a lot. But *Doenjang* product domestically produced depended heavily on the old version strains and technology invented by Japan. In terms of that there's need to continue research and improve the traditional *Doenjang* that fits into our preference.

We can say there's very few case to apply the systematic and reproducible quality control system as well to make traditional *Doenjang* higher quality, as a result of study on it.

This study is conducted to standardize the making process through the advantage of selected superior strains and how to supply it so the traditional *Doenjang's* own unique and deep taste can be reproduced and then applied into food industry.

III. Research Contents and Scope

1. Quality properties and process analysis on prototype *Doenjang*.

Doenjang collection in nationwide scale and investigation on its own quality characteristic

- (1) Moisture and salinity in collected *Doenjang* product.
- (2) Crude protein, lipid and amino-type nitrogen for collected *Doenjang*
- (3) Measuring color and amino acid content in *Doenjang*

Comparison by analysis for making process of traditional *Doenjang*.

2. Process development for mass production

- (1) Superior strains isolation from *Doenjang*
- (2) Strains selection that's specialized by decomposition power for both protease and Amylase
- (3) *Doenjang* making and investigation on quality attributes by using the selected bacillus.
 - Analysis on moisture, amino-type nitrogen and salinity of *Doenjang*
- (4) Making trial of *Doenjang* through single cultivation and mixed cultivation

3. Mass cultivation of mother strains and development on supplying technology

- (1) Optimization on mass manufacturing parameters of *Doenjang* by using selected strains
 - Making trial in production scale of *Doenjang*
- (2) Investigation on quality attributes change during *Doenjang* fermentation by using selected strains
 - Analysis on moisture, amino-type nitrogen and salinity during *Doenjang* fermentation
- (3) Development on supplying technology of mother strains
 - Investigation on the growth characteristic of selected strains.
 - Establishment on manufacturing parameters for starter development.

IV. Results

1. Quality properties and process analysis of prototype *Doenjang*

10 kinds of traditional and modified *Doenjang* were collected that're famous for their own outstanding taste from nationwide and investigated in quality attributes.

Moisture, amino-type nitrogen, amino acids and color difference that determine a product quality have been conducted and quality attributes were clarified.

Compared to modified *Doenjang* like HJD(448.2mg%), HJ(352.6mg%) the traditionally made one showed higher level of amino-type nitrogen. This is because the traditional *Doenjang* such as KK(861.3mg%), SW3(926.3mg%) made from 100% of soybean has higher than the modified *Doenjang* in amino-type nitrogen by proteolysis while the modified *Doenjang* are made from soybean mixing with wheat flour and rice.

The difference between traditional and modified *Doenjang* : Firstly, traditional one rely on the fermentation way by using *Meju* (pillow shaped steamed soybean cake) while the modified one depend on the other process that single or mixed strains ferment the mixed materials.

Secondly, the traditional one has the fermentation room with little success of controlling temperature and humidity meaning ununiformed quality control.

The modified one is fermented under fermentation room(controlled air temperature and humidity),which enable to adjust the optimal growth condition of fermentation related strains and to take shorter in fermentation ageing and to perform even quality control.

2. Process development for mass production

101 kinds of strains isolated from the traditional *Doenjang* have been selected through clear zone size to screen the strains that have higher decomposition power for both protein and starch.

Five kinds of bacillus and two kinds of mould were first selected in combination of subsidiary projects like sensory chemical analysis and enzyme activity and then single or mixed strains from first selected strains are planted to make 17 kinds of *Doenjang* samples, *Doenjang* are ageing by fermentation, evaluated in quality and found to have a big quality difference according to the characteristic of *Doenjang* samples group.

With cooperation of subsidiary projects SW-37(*Bacillus subtilius*), KOSM-11(*Bacillus*

methylophilus) and 4 kinds of mould like DJSW-31 (*Eurotium* sp.), DJKO-35(*Aspergillus* sp). have been finally selected.

4 kinds of mixed strains used for production trial were firstly planted into *Meju* form and secondly planted into soybean grain form to make 8 kinds of the samples group. After that, the change in quality are measured.

4 kinds of *Doenjang* samples manufactured in *Meju* form were evaluated in quality. 4 kinds of samples group that's considered a traditional *Doenjang* met the quality specification and showed the excellent taste and flavor and expected to contribute to make the traditional *Doenjang* in various combination of two kinds of bacillus and two kinds of moulds.

As a result of comparing the glutamic acid contents between *Doenjang* in *Meju* form and the other one in soybean grain form, *Doenjang* in *Meju* form was observed to get better results. *Doenjang* in grain form is considered to need additional drying process and crushing process in soybean.

3. Mass cultivation of mother strains and development in the technology on how to supply.

Growth condition for finally selected 4 kinds of SW-37(*Bacillus subtilis*), KOSM-11(*Bacillus methylophilus*)and moulds like DJSW-31 (*Eurotium* sp.), DJKO-35(*Aspergillus* sp.) have been established.

As a result of making trial for media suited to two isolated strains like SW-37, KOSM-11, soybean extracts and 0.3% of yeast powder substance were found to show the best growth activity.

In order to achieve more activated supply for two kinds strains like SW-37과 KOSM-11 the growth activity after freeze drying was observed, as a results of that, SW-37 showed better growth activity than that of KOSM-11. But both of strains were detected in the rate of 9-10 log cfu/ml, which enabled to supply them in the form of liquid and freeze drying.

The result on whether the isolated strains showed the activity according to the change in cereal media has been monitored. As a results of strains cultivation according to the change in cereal media, DJSW-31 was found to show the best activity in a rice, while DJKO 35 in a barley, representing 9 log cfu/ml.

As a result of storage activity for two strains cultivated with cereal media, both of them were found to show a good growth activity after hot air drying and freeze drying and consequently, the strains treated with hot air drying are recommended to supply in terms of considering operation and cost saving.

V. Achievement and Application Plan

Chapter 1. Achievement

1. Technology consulting

1) Participation company : Processing factory in Seowon Nonghyup

Title : How to use in bacillus and mould for manufacturing a traditional

Doenjang and how to perform quality control.

2. The plan for applying patent

1) How to manufacture a traditional *Doenjang* by using an excellent strains

- The plan for applying patent on how to manufacture a traditional *Doenjang* by using two kinds of strains like SW-37(*Bacillus subtilius*), KOSM-11(*Bacillus methylotrophicus*) and two kinds of mould like DJSW-31(*Eurotium cristatum*), DJKO-35(*Aspergillus oryzae*).

Chapter 2. Achievement Application Plan.

1. First, we plan transference of the techniques for participant business, secondly, planing transference of the techniques for business related company

2. Contribution to produce various type of traditional *Doenjang* and increase sales volume by transfer the technology on how to select the excellent strains to the industry.

3. Contribution the activation in the local farm industry through product variety using soybean materials.

4. The likelihood for small firm to participate through scientific approach in a traditional fermented foods.

5. The likelihood to achieve and spread the excellent strain involved with making the traditional *Doenjang's* own unique taste

CONTENTS

SUMMARY(Korean)	101
SUMMARY(English)	105
CONTENTS	110
Chapter 1. Summary of projects	112
Section 1. Purpose	113
Section 2. Necessity	115
Section 3. Objective and contents	115
Chapter 2. Status of technical development inside and outside of nation	118
Chapter 3. Results and discussion of project	120
Section 1. A study on the Process Development for Commercialization in Traditional <i>Doenjang</i>	120
1. Introduction	120
2. Materials and method	121
3. Results	124
A. Quality properties and process analysis of prototype <i>Doenjang</i>	124
B. Process development for mass production	132
(1) Making trial in production of <i>Doenjang</i>	132
(2) Chemical compositions of <i>Doenjang</i>	134
(3) Measuring color in <i>Doenjang</i>	134
(4) Sensory evaluations of <i>Doenjang</i>	135
(5) Making trial in production scale of <i>Doenjang</i>	138
C. Development on supplying technology of strains	150
(1) Bacillus	150
(2) Mould	156
(3) Mass cultivation of mother strains	159
D. Investigation condition on manufacturing of traditional <i>Doenjang</i>	161
Chapter 4. The degree of accomplishment of the research	166
Chapter 5. Plan for the application of the result	168
Chapter 6. Information of scientific technique from abroad	169
Chapter 7. References	173

목 차

요 약 문	101
SUMMARY	105
CONTENTS	110
목 차	111
제 1 장 연구개발 과제의 개요	112
제 1절 연구개발의 목적	113
제 2절 연구개발의 필요성	115
제 3절 연구개발의 목표 및 내용	115
제 2 장 국내외 기술개발 현황	118
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	120
제 1절 전통된장 산업화 공정개발	120
1. 서론	120
2. 재료 및 실험방법	121
3. 실험결과	124
가. Prototype 된장의 화학적 품질평가	124
나. 대량생산을 위한 공정개발	132
(1) 감각 화학적 지표와 효소활성을 이용하여 선발된 균으로 된장제조	132
(2) 단일 및 혼합균주를 이용하여 제조한 된장시료군의 일반성분 분석	134
(3) 된장 시료군의 색도 분석	134
(4) 된장숙성 후 관능검사 결과	135
(5) 감각화학적 방법으로 선정된 균주를 주발효균으로 된장제조 실험	138
다. 종균의 공급기술개발	150
(1) 세균	150
(2) 곰팡이	156
(3) 종균 대량배양 방법	159
라. 전통식 장류 제조공장 현황 조사	161
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	166
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	168
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	169
제 7 장 참고문헌	173

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

우리나라의 전통식품 중 콩을 원료로 한 발효식품으로 간장, 된장, 고추장 그리고 청국장 등이 있다. 이것들은 모두 미생물에 의하여 발효시킨 식품으로 영양학적 우수성과 기호성 및 기능성을 갖춘 세계적인 식품이다.

장류 중 가장 우리 식문화를 좌우해 온 된장은 원료에 따라 다양하게 나눌 수 있다. 자가 소비를 목적으로 가정에서 재래방법으로 제조하여 사용한 전통된장은 주로 메주 원료인 대두를 이용하여 만들고 판매를 목적으로 공장에서 대량생산하는 개량식된장은 주로 소맥분을 이용하여 제조한다.

예전에는 재래방법으로 만들어진 된장소비량이 많았으나 소비자들의 식문화 변화에 따라 전통 식품임에도 불구하고 공장에서 대량생산하는 된장 소비가 점점 늘고 있는 추세이다. 현재 우리나라에서 소비되는 된장을 비교해 보면 공장에서 대량생산되는 비율이 점차 증가하고 있고 공장 공급률이 60%대를 이루고 있는 실정이다.

개량식 된장은 일본에서 들어온 제조방법으로 우리의 입에 길들여지고 있는 추세지만 구수한 맛이 떨어져 대부분의 소비자들은 전통방식으로 제조한 대두 100% 한식된장을 찾고 있다.

우리의 전통된장은 오래 전부터 메주를 이용해 만들어 왔으며 위생성과 안전성이 검증된 식품으로 장류에 대한 오랜 역사에도 불구하고 계속적이고 과학적인 연구와 산업화가 부족하여 일본식 된장, 간장에 비하여 체계화되지 못한 실정이다.

전통된장의 원료는 대두를 주로 이용하였으나 해방 후 밀가루, 보리가루 혹은 쌀가루 같은 탄수화물 원료를 사용하여 순한 맛을 내기 시작하였다. 재래식 된장발효에 관여하는 미생물에 관한 연구가 많이 진행되었음에도 불구하고 국내에서 생산되는 된장은 대부분 일본에서 이용하는 균주와 기술을 전수 받아 생산하는 것이어서 우리 입맛에 맞는 전통 된장을 지속적으로 연구하여 발전시킬 필요가 있다. 하지만 전통 된장에 대한 연구 결과가 산업화에 도입되어 전통 된장을 고품질로 하거나 체계적이고 재현성 있는 품질관리 시스템을 적용한 사례는 거의 없다고 하겠다. 이에 본 연구는 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용하여 체계적으로 생산, 관리할 수 있는 선발된 우수균주들을 이용하여 전통적인 맛과 제조공정을 표준화시키고자 하는데 그 목적이 있다.

제 2절 연구개발의 필요성

전통 발효식품의 산업화를 위해서는 전통의 특징을 유지하면서, 다양한 현대인의 구미에 맞도록 다양화, 현대화 및 국제화함으로써 발전적으로 변신할 필요성이 있음.

- 전통된장은 개인의 연령, 취향 등에 따라 기호도에서 큰 차이를 보이기 때문에 다양한 향미를 가진 된장을 생산할 수 있는 기반 연구가 요구됨.
- 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용할 수 있는 선발된 우수균주의 특성과 공급방법을 통하여 제조공정을 표준화시키고자 한다.

1. 국내·외 현황

가. 국내 현황

○ 된장은 청국장, 쌈장, 고추장 등과 더불어 콩을 발효시켜 만든 한국의 전통 발효식품으로, 곡류 단백질에서 부족 되기 쉬운 필수아미노산, 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양학적 우수성을 지녔다. 그러나 된장의 국내시장은 소비자 식문화 변화와 대량으로 생산되는 개량식된장의 증가로 품질이 불균일한 전통식 된장의 증가가 저조한 실정이다.

○ 된장의 공장 공급률은 2010년 기준으로 61%로 고추장의 85%, 간장의 70%에 비하여 낮은 수준이다.(한국장류협동조합 '12) 이는 산업체 된장 제품의 품질이 소비자들의 요구에 미치지 못하고, 가정에서 만들어 먹기 때문이다. 품질이 균일하고 맛이 우수한 전통된장 제조기술이 확보된다면 시장잠재력은 증가할 것이다.(식품유통연감 '08)

○ 최근 전통 장류시장에 낫토, 미소된장 등 일본 발효식품이 점점 판매가 증가하고 있다. 이들은 일본 음식 특유의 부담이 가지 않는 담백한 맛을 장점으로 과거 일식당에서나 맛 볼 수 있었던 것들이 가공식품으로 일반 가정 식탁에 오르기 시작한 것이다. 아직은 국내 제품에 비교하여 시장규모는 작지만 국내 장류 시장이 정체 현상을 보이는데 반해 일본 식품은 급성장하고 있다는 점과 미래 소비자인 젊은 계층이 이들 식품과 친숙하다는 점을 고려할 때, 그 격차는 점점 줄어들 것으로 예상되고 있다.

○ '12년 장류전체시장 추이를 보면 된장은 약 589억, 고추장은 1,808억대의 판매현황을 보이고 있다.(AC닐슨 Retail index기준, 2012)

최근에는 소비자들의 식생활 변화에 따라 된장에 멸치, 양파, 마늘 등 다양한 양념을 첨가하여 된장찌개를 손쉽게 끓일 수 있는 간편 가정식(HMR)된장이 출시되고 있고 향

후 된장시장은 편의성을 추구하고 1-2인 가정증가에 따라 조리가 쉽고 간편한 제품들이 많이 출시될 것이다.

○ 전통된장과 관련된 연구로 초기에는 제조 및 담금 방법에 대한 연구가 주를 이루었으나, 최근에는 생리활성에 대한 연구와 기능성을 높이는 된장 제조방법에 대한 연구가 많이 수행되었다. 오늘날 외식산업의 발달과 사용하는 식재료에 따라 소비자들의 입맛이 달라지고 식생활의 글로벌화로 개량식 된장소비가 증가추세에 있지만 식문화의 회귀와 향수로 인하여 젊은층에서도 구수한 형태의 된장을 선호한다는 통계자료가 있어 구수한 형태의 전통된장 산업화가 시급하다고 볼 수 있다.

나. 국외현황

○ 미국, 유럽 등 각국에서는 아시아의 낮은 관상동맥 질환과 콩 관련 제품의 섭취와의 관련성이 규명되면서, 대두 가공제품 및 대두 발효제품에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 현재, 성인병 예방의 차원에서 식물성 단백질 섭취를 권장하고 있으며, 학교 급식과 군용식품에 대두 단백질을 첨가하고 있다.

○ 일본은 자국의 전통 장류에 대한 체계적인 연구를 통해 다양한 생리활성(항암, 고혈압, 혈중 콜레스테롤 저하 등)을 홍보하고 있으며, 미소 섭취량과 사망률에 대한 역학조사 결과를 근거로 일본 된장국 섭취빈도를 높이도록 권고하고 있다. 일본의 발표에 따르면 미소 된장국을 매일 먹은 사람은 모든 종류의 암, 동맥 경화성 심장 질환, 고혈압, 위십이지장 궤양, 간경변 등의 의한 사망률이 낮아진다고 하였다.

○ 일본은 현재 약 1,200개 일본 된장 제조업체가 있다. 그러나 각 회사 제품마다 사용하는 누룩이 다르고 이에 색과 맛이 달라 제각기 독특한 향미를 소유하고 있다. 일본에서는 소화 59년 당시 일본 문부성의 특정 연구를 기회로 세계에 앞서서 식품 기능의 개념이 수립되었고, 기능성 식품이 학술적으로 정의되었다. 식품의 기능을 3개로 나누어 기능성 식품으로 정의하였다. 영양소로서 기능(1차 기능), 인간의 오감에 관련되는 감각 기능(2차 기능) 및 건강·신체 능력·심리상태에 관련되는 생체조절기능(3차 기능)이라고 정의하였다. 된장을 이런 3가지 기능을 만족하는 기능성식품으로 인정을 받아 현재도 연구가 활발하게 진행되고 있다.

○ 우리나라의 전통 된장은 우리국민이 수천 년간 섭취해온 자연 발효 전통식품으로, 일본, 인도네시아 등의 콩 발효식품과는 큰 차이를 가지고 있다. 일본은 높은 온도와 습도로 인해, 우리나라와 같은 제법으로 제조하면 원하지 않는 발효, 즉, 부패가 됨으로 미리 코지균을 증자된 쌀에서 키워, 콩과 섞어 일본식 된장, 미소를 만든다. 다양한 종류가 있지만 발효숙성기간이 대부분 한 달 이내이다. 인도네시아의 대표적인 콩 발효식품인 템페도 곰팡이균인 라이조프스균을 이용하여 제조하는 것으로 발효기간은 2~3일이다.

○ 우리나라의 전통 된장은 메주를 만들어 1차 발효를 하고, 메주를 소금물에 염지-혼합-숙성의 과정을 거쳐 다시 숙성을 한다. 따라서 된장은 메주 제조부터 시작하면 최소한 1년 이상의 긴 기간이 요구되며, 곰팡이, 효모, 세균 등 다양한 미생물들의 긴밀한 상호작용으로 탄생된다. 현재 우리나라의 산업화된 된장은 일본식 된장의 제조 공정이 많이 도입되어, 발효숙성기간이 60일 정도로 짧고, 맛과 향도 전통된장과 차이를 보임에 따라 시장의 수요가 제한적이었다. 최근 들어 업체에서도 이를 타개하기 위하여 전통 메주를 이용한 한식 된장의 생산을 시작하고 있다.

○ 하지만 아직 우리나라 전통된장의 발효과정 및 발효미생물의 역할에 대해서는 많은 연구가 이루어 지지 못하고 있다. 우리나라 된장은 지역마다 다른 맛과 향을 가지고 있으며, 같은 지역에서도 담그는 해에 따라 맛과 향이 차이를 보이고 있다. 하지만 아직 그 원인을 규명하지는 못하고 있으며, 단지 담금 환경에 따라 발효 미생물에 의한 발효 과정이 변화된 것으로 간주하고 있다.

○ 현재까지 산업화된 우리나라 전통된장은 대부분 소맥분, 대두, 통밀 등에 *Aspergillus*속의 균주를 접종하여 제국 후 대두와 식염을 혼합하여 제조한 것으로 전통장류와는 맛에서 차이를 보이고 있다. 메주를 대량생산하여 된장을 제조하는 경우에는 지역 및 제조업체 마다 된장이 맛이 일정하지 않으며, 같은 업체가 제조한 것이라 하더라도 시기에 따라 맛에 차이를 보여 일정한 맛을 유지하는 균질한 된장 생산 공정은 아직 산업화 되지 못하고 있다.

○ 전통된장은 개인의 연령, 취향 등에 따라 기호도에서 큰 차이를 보이기 때문에 다양한 향미를 가진 된장을 생산할 수 있는 기반 연구가 절실하다. 이에 본 연구는 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용할 수 있는 선발된 우수균주의 특성과 공급방법을 통하여 산업화 공정개발을 시키고자 한다.

제 3절 연구개발의 목표 및 내용

본 연구에서는 전국에서 맛이 우수한 전통 된장류를 선정하고 품질분석을 통하여 우수미생물을 선발한다. 선발된 균주를 이용하여 단독 또는 혼합균주를 사용하여 구수한 전통된장 맛을 구현한다. 그리고 균주의 특성을 조사하여 공장현장에서 대량생산이 가능토록 하고자 한다.

○ 우리의 전통 된장은 오래 전부터 메주를 이용해 만들어 왔으며 위생성과 안전성이 검증된 식품이라 할 수 있다. 전통 된장의 독특한 풍미와 구수한 맛은 주로 발효, 숙성 과정 중 미생물의 효소작용에 의한 콩 단백질의 분해로부터 생성된 아미노산들의 맛에

기인하므로 분리한 균주들의 효소력을 비교 측정하여 선발할 것이다.

○ 전통된장의 원료는 대두를 주로 이용하였으나 해방 후 밀가루, 보리가루 혹은 쌀가루 같은 탄수화물 원료를 사용하여 순한 맛을 내기 시작하였다. 재래식 된장발효에 관여하는 미생물에 관한 연구가 많이 진행되었음에도 불구하고 국내에서 생산되는 된장은 대부분 일본에서 이용하는 균주와 기술을 전수 받아 생산하는 것이어서 우리 입맛에 맞는 전통 된장을 지속적으로 연구하여 발전시킬 필요가 있다. 하지만 전통 된장에 대한 연구 결과가 산업화에 도입되어 전통 된장을 고품질로 하거나 체계적이고 재현성 있는 품질관리 시스템을 적용한 사례는 거의 없다고 하겠다. 이에 본 연구는 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용하여 체계적으로 생산, 관리할 수 있는 제조공정의 표준화를 이루고자 하였다.

○ 전통 된장은 여러 복합 균주가 작용하여 생성되는 발효식품으로 유익한 균과 유해한 균들이 혼재되어 발효되므로 원하지 않는 발효가 진행될 수도 있다. 따라서 전통장 맛에서 벗어난 장류가 만들어질 수 있으므로 본 연구에서는 선발된 우수균주들을 이용하여 전통적인 맛과 제조공정을 표준화시키고자 하는데 그 목적이 있다.

○ 전국에서 맛있는 된장을 수거(시료 10건)하여 품질평가를 한다. 된장에서 분리한 균주들의 단백질과 탄수화물분해력을 통하여 균주를 선발(분리균주 110종)한다.

선발된 균주를 이용하여 실험용된장을 제조하여 품질특성을 분석한다. 최종적으로 균주를 선발(분리균주 4종)하여 단독 또는 혼합균주를 사용하여 현장에서 메주와 된장 제조 실험을 한다.

현장에서의 실험은 두 가지 형태(사각메주형, 알콩메주형)로 메주를 제조한 후 된장의 품질변화를 측정한다. 분리된 균주의 특성을 조사하고 대량배양 보급할 수 있는 배지원료 조건을 설정하여 품질이 균일하고 맛이 다양한 된장제품이 생산되게 하는 것이다. 선별된 균주를 이용하여 된장을 제조하고 대량생산이 가능하게 균주의 생육환경 조건을 설정한다. 그리고 산업체에 접목하기 쉽게 우수균주를 분리 배양하고 공급하는 방법을 통하여 맛있는 전통된장의 품질고급화를 이루고자 한다.

이러한 목표를 달성하기 위하여 다음과 같은 연구를 수행할 것이다.

- (1) 국내 시판 중인 된장제품의 수집 및 이화학적 품질분석
- (2) Prototype 된장의 이화학적 품질 평가
- (3) 분리 미생물에 대한 효소 활성 평가
- (4) 참여기업과 전통된장 제조공정 비교분석

(5) 대량생산을 위한 공정 개발

- 발효 조건 및 특성에 따른 이화학적 특성 분석
- 종균의 접종 방법 및 규모에 따른 품질평가
- 단일 배양과 혼합 배양의 현장 적용 실험

(6) 종균의 대량 배양 및 공급 기술 개발

- 선발 균주를 이용한 된장의 대량 제조 조건 최적화
- 스타터 개발을 위한 제조 조건 설정
- 종균의 공급 기술 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

전통메주의 표면에는 유용곰팡이인 *Mucor*속, *Rhizopus*속, *Aspergillus*속이 주류를 이루고 메주내부는 *Bacillus*속 세균이 주도적인 발효를 하여 전통장류의 독특한 맛과 향을 나타내는 것으로 알려져 있다.(1,2) 정은 재래식 간장에서 처음으로 세균을 분리 동정하여 6종을 확인하였다.(3) 즉 *B. pumilus*, *B. subtilis* var. *aterinus*, *B. licheniformis*, *B. citreus* var. *soya*, *Sarcina maxima*와 *Pediococcus acidilactici*이다. 박등은 전국 여러 도시에서 채취한 메주를 표면, 표면안쪽 및 중심부로 나누어 미생물 분포상황을 조사한 결과 총 균수의 99% 이상이 세균이고 곰팡이는 한 시료의 표면에서 33%가 분포하고 있을 뿐 거의 1%이하였고 효모는 일부 시료에서만 검출되었다고 하였다.(4)

전통메주의 표면에는 *Mucor*속, *Rhizopus*속 및 *Aspergillus*속과 같은 곰팡이가 주류를 이루고 메주내부는 *Bacillus*속 세균이 주도적인 발효를 하여 전통장류의 독특한 맛과 향을 나타내는 것으로 알려져 있다.(5)

조등이 한국 재래식 메주의 발효 미생물을 분류 및 생태학적으로 조사한 것을 보면 곰팡이는 메주 덩어리의 표면층 부분에만 존재하며, 그 종류는 복잡하여 주요균종을 알기 어려우나 실험결과 3종의 *Mucor*, 2종의 *Penicillium*, 각 1종의 *Scopulariopsis* 및 *Aspergillus*를 분리 할 수 있었다. 세균은 메주덩어리 전체에 골고루 조밀하게 분포되어 있었으며, 특히 덩어리 내부에는 세균만이 존재하였다고 한다. 세균은 단순하여 *B. subtilis*와 *B. pumilus*가 한국메주의 거의 모든 세균군을 형성하고 있어 한국메주의 발효 속성은 세균군의 발효에 의한 것이 아닌가 보고하고 있다.(6)

전통식 된장은 발효 중에 *Bacillus* sp.과 *Mucor* sp.이 향기성분의 생성과 품질특성에 관여하기 때문에 개량식된장에 국균 koji의 일부를 *Bacillus*속을 이용한 koji로 대체하거나 *Rhizopus oryzae* koji를 혼합하기도 한다.(6-9)

가정에서 제조된 된장 16점으로부터 60℃에서 성장하는 *Bacillus*속 균주 63주를 분리하였으며 이로부터 내열성 protease를 생산하는 *Bacillus licheniformis* 균주를 선발하였다.(10)

전통 된장제조에 가장 중요한 접종원으로서 벧짚에 존재하는 세균 군집을 문수준에서 확인했을 때 상대적 군집비율로 1% 이상의 분포를 보였던 4종류는 *Proteobacteria*(71%), *Actinobacteria*(20.6%), *Bacteroidetes*(4.2%), *Firmicutes*(1.3%)문이었다. 메주내 상위 11위까지 우점을 이루던 세균종들 중 10종이 숙성된 된장에서 우점종을 형성하여 메주 미생물들이 숙성 후 된장발효까지 영향을 준다는 보고도 있다.(11)

그 외에 많은 연구자들이 전통메주 발효 중 성분변화에 관한연구(12,13)를 통하여 전통장류 제조공정을 산업화하고자 많은 노력을 기울이고 있다.

지미성분 강화를 위하여 glutamic acid분해를 유도하는 것이 좋고 쓴맛은 대두단백질의 분해산물인 Methionine, Isoleucine, Leucine 등의 유리아미노산과 Peptide에 의해 주로 좌우되므로 맛의 조화면에서 적당한 고미를 유지할 필요가 있다. 감미는 threonine, serine, glycine, alanine, lysine와 같은 유리아미노산과 sucrose, maltose, glucose, galatose, fructose와 같은 유리당에 의해 좌우되는데 감미를 특히 강화하기 위해서는 전분질 원료의 첨가가 바람직하다는 보고가 있다(14, 15).

된장은 주로 된장찌개 및 국으로 끓여서 먹기에 이들의 메탄올추출물이 된장과 관련될 수 있는 발암물질인 aflatoxin을 이용하여 항돌연변이 활성을 나타내는지 연구한 결과 여러 부재료를 넣은 된장찌개의 경우 메탄올 추출물에서 항돌연변이활성이 있다고 보고하였다.(16)

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 전통된장 산업화 공정개발

1. 서론

우리나라의 전통식품 중 콩을 원료로 한 발효식품으로 간장, 된장, 고추장 그리고 청국장 등이 있다. 이것들은 모두 미생물에 의하여 발효시킨 식품으로 영양학적 우수성과 기호성 및 기능성을 갖춘 세계적인 식품이다.

장류에 대한 기원을 고서 등에서 살펴보면 후한시대의 왕충(王充)이 저술한 논형(論衡)에 두장(豆醬)이라는 말이 처음으로 사용된 이래 논어의 향당편(鄉黨編)에 “不得已醬不食”이라는 말이 있다. 이것으로 보아 이미 기원전에 장류가 존재하고 있었음을 알 수 있다(17).

우리나라 장류의 역사는 기록상으로 삼국사기 8권에 ‘신라 본기 제 8대 신문왕 3년(683년) 2월초에 폐백 중 간장, 된장’이 포함된 것으로 미루어 통일신라시대 초기에 이미 만들어져 식용되었음을 알 수 있다. 그 후 조선시대 명종 9년(1554년)의 구황촬요, 광해군(1613년)의 동의보감, 숙종41년(1715년)의 산림경제와 유증임의 증보산림경제(1760년), 그 뒤 규합총서(1820년)등 문헌에 의해 장류의 식용이 밝혀지게 되고 일반가정에 의해 계속 발전해 온 것을 알 수 있겠다. 그러나 우리나라는 전통 장류에 대한 오랜 역사에도 불구하고 계속적이고 과학적인 연구와 산업화가 부족하여 일본식 된장, 간장에 비하여 체계화되지 못한 실정이다.

장류 중 가장 우리 식문화를 좌우해 온 된장은 원료와 제법에 따라 다양하게 나눌 수 있다. 가정에서 재래방법으로 제조하여 사용한 전통된장은 주로 메주의 원료인 대두를 이용하여 만들고 판매를 목적으로 공장에서 대량생산하는 개량식된장은 주로 소맥분, 통밀, 쌀 등을 이용하여 제조한다.

예전에는 재래방법으로 만들어진 된장소비량이 많았으나 소비자들의 식문화 변화에 따라 전통 식품임에도 불구하고 공장에서 대량생산하는 된장 소비가 점점 늘고 있는 추세이다. 현재 우리나라에서 소비되는 된장을 비교해 보면 공장에서 대량생산되는 비율이 점차 증가하고 있고 공장 공급률이 60%대를 이루고 있는 실정이다.

개량식 된장은 일본에서 들어온 제조방법으로 우리의 입에 길들여지고 있는 추세지만 구수한 맛이 떨어져 대부분의 소비자들은 전통방식으로 제조한 대두 100% 한식된장을 주로 찾고 있는 실정이다.

우리의 전통 된장은 오래 전부터 메주를 이용해 만들어 왔으며 위생성과 안정성이

검증된 식품이라 할 수 있다. 전통 된장의 독특한 풍미와 구수한 맛은 주로 발효, 숙성 과정 중 효소작용에 의한 콩 단백질의 분해로부터 생성된 아미노산들의 맛에 기인한 것이다. 소금에 의한 짠맛과 탄수화물에 의한 단맛이 조화되어 전통 된장은 오래 전부터 국, 찌개용으로 널리 애용되어 왔다.

전통된장의 원료는 대두를 주로 이용하였으나 해방 후 밀가루, 보리가루 혹은 쌀가루 같은 탄수화물 원료를 사용하여 순한 맛을 내기 시작하였다. 재래식 된장발효에 관여하는 미생물에 관한 연구가 많이 진행되었음에도 불구하고 국내에서 생산되는 된장은 대부분 일본에서 이용하는 균주와 기술을 전수 받아 생산하는 것이어서 우리 입맛에 맞는 전통 된장을 지속적으로 연구하여 발전시킬 필요가 있다. 하지만 전통 된장에 대한 연구 결과가 산업화에 도입되어 전통 된장을 고품질로 하거나 체계적이고 재현성 있는 품질관리 시스템을 적용한 사례는 거의 없다고 하겠다. 이에 본 연구는 전통 된장의 깊은 맛을 재현하고 이를 산업화에 적용하여 체계적으로 생산, 관리할 수 있는 제조공정의 표준화를 이루고자 하였다.

전통 된장은 여러 복합 균주가 작용하여 생성되는 발효식품으로 유익한 균과 유해한 균들이 혼재되어 발효되므로 원하지 않는 발효가 진행될 수도 있다. 따라서 전통장 맛에서 벗어난 장류가 만들어질 수 있으므로 본 연구에서는 선발된 우수균주들을 이용하여 전통적인 맛과 제조공정을 표준화시키고자 하는데 그 목적이 있다.

전국 각지에서 된장을 수거하여 맛이 우수한 된장을 선정한 후 선정된 된장에서 우수균주를 선별한다. 선별된 균주를 이용하여 된장을 제조하고 대량생산이 가능하게 균주의 생육환경 조건을 설정한다. 그리고 산업체에 접목하기 쉽게 우수균주를 분리 배양하고 공급하는 기술을 통하여 전통된장의 품질고급화를 이루고자 한다.

2. 재료 및 실험방법

가. 일반성분

시료의 일반성분 분석은 신의 방법에 따라 수분함량은 105°C 건조법, 조지방은 soxhelt추출법, 식염은 시료 5 mL를 취하여 50배 희석하고 이 액 10 mL를 취하여 100 mL 삼각플라스크에 넣고 여기에 2% K₂CrO₄용액 1 mL를 지시약으로 가한 다음 0.1 N AgNO₃ 용액으로 옅은 오렌지색이 될 때까지 적정하여 식염의 양을 계산하였다.(18-20) pH는 pH meter(Orion. U.S.A.)로 측정하였다.

나. 조단백질

조단백질 성분 분석은 Kjeltac auto 1035 analyzer system (Foss Tecator AB, Sweden)을 이용하였다. 시료 약 1~2 mL를 취하여 진한 황산용액 12 mL와 분해촉진제를 넣고 420°C에서 분해시키고, Kjeltac system 1035 distilling unit를 사용하여 증류

한 후 0.1 N HCl용액으로 적정하여 소비된 0.1 N HCl의 mL수를 총질소로 환산하여 양을 구하였다.(20)

다. 아미노태 질소

아미노태질소 분석은 포르말 적정법을 이용하였다. 전처리액 20 mL에 증류수 80 mL를 넣은 다음 0.1 N NaOH를 첨가하여 pH 8.4까지 조절한 후 중성 포르말린 20 mL를 넣고 다시 0.1 N NaOH로 pH meter를 이용 pH 8.4까지 적정하여 이때 소비된 0.1 N NaOH mL를 아래의 계산식에 대입하여 그 함량을 산출하였다. 여기에서 상수 1.4는 0.1 N NaOH 1 mL에 해당하는 아미노태 질소의 mg이다.(20)

$$\text{아미노태질소(mg\%)} = \frac{(\text{시료적정 mL} - \text{공시험 mL}) \times 1.4 \times F}{\text{시료 (g)}} \times 100$$

라. 유리아미노산분석

시료10g에 85% 에탄올 200ml를 넣어 homogenizer로 균질화(80℃ 욕조에서 1000r/min, 5min)한 후 여과하여 여과액을 취한 후 다시 남은 잔사에 85% 에탄올 200ml를 넣어 균질화 한다. 이 여액을 진공 농축한다. 이 수용성 농축액을 분액 여두에 옮긴 후 Diethyl ether 70ml로 3회 세척 후 수용층을 분액여두에 모은 후 0.1N HCl로 pH 2.2로 조절한 후 200ml로 정용한다. 0.45µm membrane filter로 여과 한 후 Table 1. 조건으로 HPLC(Agilent technologies 1200series)를 사용하여 Injector Program으로 분석하였다.(20)

Table 1. Instrument and operating conditions for amino acid analysis

Instrument	Agilent technologies 1200 series
Column	Zorbox Eclipse XDB, 4.6*150mm,5µm
Temp	40℃
Mobile phase	A: 20mM Na ₂ HPO ₄ pH 7.8
	B: ACN: MeoH: Water=45: 45: 10
Flow rate	2ml/min
Detector	FVD : 338nm, 10nm bw, reference 390nm, 20nm bw

마. 유리당

당 분석 측정은 액체크로마토그래프에 의한 방법으로 Table 2.조건으로 측정하였다. 표준용액은 fructose, glucose, sucrose, maltose의 표준품을 각각 100 mL용 메스플라스크에 정밀히 달아 물 50 mL로 녹인 후 아세토니트릴로 100 mL까지 채운다.

시험용액은 검체 약 5 g을 50 mL 메스플라스크에 정밀히 달아 물 25 mL를 가하여 녹인 후 아세토니트릴로 50 mL까지 채운다. 이를 0.45 μm의 membrane filter로 여과한 것을 시험용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 각각 10 μL씩 주입하여 얻은 피크의 넓이 또는 높이를 구하여 검량선을 작성한 후 시험용액의 당질의 농도(μg/mL)를 구하고, 다음 식에 의해 검체 중 당의 함량(mg/100 g)을 산출한다.(20)

$$\text{당함량(mg/100 g)} = S \times \frac{a \times b}{\text{검체채취량(g)}} \times \frac{100}{1,000}$$

S : 시험용액중의 당질의 농도(μg/mL)당분석

Table 2. Instrument and operating conditions for Free sugar analysis

Instrument	Agilent technologies 1200 series
Column	Asahipak NH2P-50 4E
Temp	30°C
Mobile phase	ACN: Water=75:25
Flow rate	1.0ml/min
Detector	RID

바. Aw

수분활성도는 Nobasina(Aw-center, 스위스)수분활성 측정기를 이용하여 측정하였다.

사. 색도

색도변화는 chromameter CR 500(Minolta, Japan)을 이용하여 Hunter의 L(lightness)값, a(redness)값, b(yellowness)값을 측정하였다.

아. 무기질

무기질 분석은 시료를 황산-질산 습식 분해법으로 유기물을 분해한 후 일정용액으로 정용하여 ICP Spectrometer(Genesis FES, Spectro사, Germany)로 분석하였다.(20)

자. 효소활성측정

(1) 균주 전처리

NB배지에 분리균 1백금이 접종하여 세균 37℃에서 24시간, 곰팡이 28℃에서 48시간 진탕배양(120rpm)하여 배양액을 원심분리 (13,000rpm, 15min)하여 얻은 상등액을 분석시료로 사용하였다.

(2) 세포의 효소 분비능 측정

Amylase 분비능은 R2A Agar(yeast extract 0.5g, protease peptone 0.5g, casamino acids 0.5g, dextrose 0.5g, soluble starch 0.5g, sodium pyruvate 0.3g, dipotassium phosphate 0.3g, magnesium sulfate 0.05g, agar 15.0g)에 amylase 생성 유도물질인 0.5% soluble starch를 첨가하여 실온에서 고화시키고, 지름 2mm 정도의 구멍을 뚫은 후, 배양액 15 μ l를 분주하여 배양한 후 Gram's iodine 용액(Iodine crystal 0.1g, Potassium iodine 0.2g, D.W 30ml)으로 염색하여 starch 분해활성을 관찰하였다 (21).

Protease 분비능은 R2A Agar에 1% skim milk를 첨가하여 실온에서 고화시키고, 지름 2mm 정도의 구멍을 뚫은 후, 배양액 15 μ l를 분주하여 배양한 후 분리균을 접종한 후, clear zone을 관찰하였다.

3. 실험결과

가. Prototype 된장의 화학적 품질평가

(1) 수분(%)

전국에서 수집된 10종 전통된장의 수분함량 분석 결과를 Fig 1에 나타내었다. 전통된장은 메주를 이용하여 제조하고 자연조건에서 항아리나 플라스틱 용기에 넣어 발효 숙성하므로 수분함량변화가 심하다. 시료군들의 수분함량은 51 - 57.6%까지 차이가 있는 것을 볼 수가 있다. 메주제조와 숙성된장의 관리가 지역별로 차이가 있고, 제조사별로 설정한 품질기준이 다르기 때문에 차이가 있는 것으로 사료된다.

수분함량은 품질을 좌우하는 중요한 요소이기 때문에 균일한 품질관리를 위하여 최종 제품 출하 시에는 설정한 규격내의 제품만 출고 될 수 있도록 관리 한다.



Fig. 1. Moisture contents of *Doenjang* collected from several regions

(2) 수집된 된장의 염도

전국에서 수집된 된장의 염도를 측정한 결과를 Fig 2.와 같이 나타내었다. 수집된 된장의 염도는 11.9~15.7%로 제품별로 차이가 큰 것을 볼 수 있다. 염은 된장의 맛을 좌우하는 요소로 장기간 된장을 숙성시키기 위해서는 필수 불가결한 첨가물로 지역별, 제조사별로 제품별 특성과 품질관리 차이로 변화가 있다. 개량식 된장의 경우 대개 11%대의 염 함량을 보이는 반면 재래식된장의 경우 대개 13%대의 높은 염 함량을 보이는 데 이것은 장기간 보관, 유통 중에도 품질변화를 억제하기 위하여 제조에서부터 염 함량을 조정한 것으로 볼 수 있고 숙성 중에 수분증발로 인하여 염 함량이 다소 높아지는 것으로 볼 수 있다.



Fig. 2. Salinity of *Doenjang* collected from several regions

(3) 수집된 된장의 조지방 함량

수집된 된장의 조지방 함량은 Fig. 3과 같이 나타내었다. 대두에 있는 지방함량이 대두 증숙과 메주 발효 숙성과정을 거치고 장담기 과정을 거치면서 1%이하의 지방함량을 나타낸 것으로 보인다. 가장 조지방 함량이 많은 것은 JB시료로 0.352%로 나타났고 나머지 시료는 0.05 - 0.17%의 낮은 함량을 나타내었다.

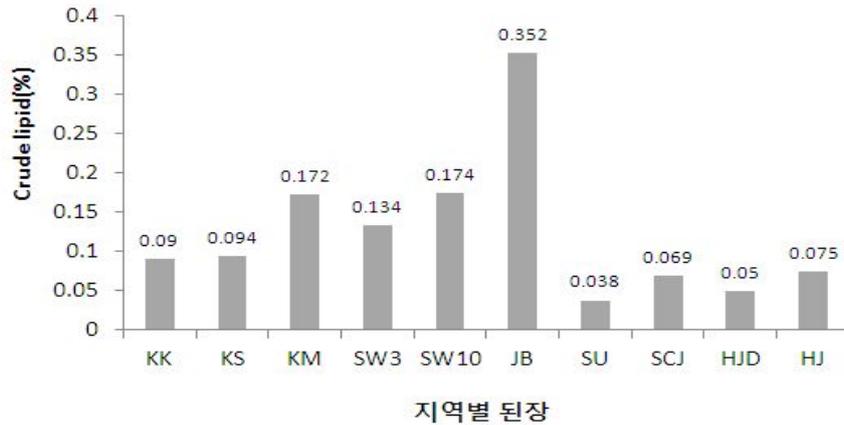


Fig. 3. Crude lipid contents of *Doenjang* collected from several regions

(4) 수집된 된장의 조단백질함량

전국에서 수집된 된장의 조단백질 함량은 Fig. 4에 나타내었다. 조단백질 함량은 시료별로 11.7 - 16.9%의 큰 차이를 나타내었다. 대두에 많이 함유되어있는 단백질은 미생물 분해에 의하여 펩타이드성분 등 감칠 맛내는 성분으로 분해되어 된장 고유의 맛과 향미를 낸다. 식품기술의 발달로 단백질 분해능이 우수한 미생물을 이용하면 좀 더 빠른 시간 내에 전통 발효식품을 산업화 할 수 있을 것이다.

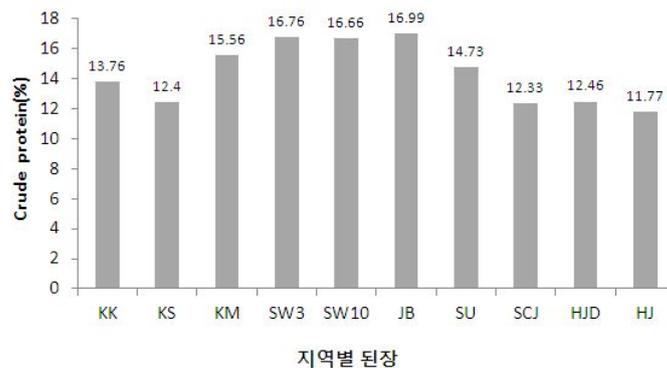


Fig. 4. Crude protein contents of *Doenjang* collected from several regions

(5) 수집된 된장의 수분활성도

수집된 된장의 수분활성도를 Table 3에 나타내었다. 수분활성도는 제품의 유통기한과 밀접한 관련이 있어서 산업체에서는 수분활성도를 통하여 유통 중 미생물 활성이 있을 것인지 여부를 간접적으로 측정한다. 된장의 수분활성도는 대개 0.75 - 0.85로 곰팡이와 세균, 효모가 생육할 수 있는 조건과 가까우므로 살균공정과 품질관리가 중요하다고 볼 수 있다. 안정적인 보관 유통을 위하여 된장은 공정 중에 살균공정과 주정첨가 등 기본적으로 11% 대의 염도를 가지고 있지만 저온살균과 수분함량 조절을 통하여 수분활성도를 낮추어야 한다.

Table 3. Water Activity of *Doenjang* collected from several regions

KK	KS	KM	SW3	SW10	JB	SU	SCJ	HJD	HJ
0.77	0.80	0.78	0.79	0.77	0.85	0.75	0.76	0.79	0.78

(6) 수집된 된장의 유리당 함량

된장의 유리당함량을 Table 4에 나타내었다. 유리당은 전분질원료가 미생물에 의하여 분해되어 제품에 단맛을 제공하는 성분으로 시료별로 0.28~11.0%까지 차이가 많이 있었고 개량식 된장류인 HJ, HJD, SCJ의 당 함량이 높았다.

Table 4. Free sugar contents of *Doenjang* collected from several regions

(단위 : %)

	KK	KS	KM	SW3	SW10	JB	SU	SCJ	HJD	HJ
Fructose	0.286	-	-	-	0.399	0.688	1.219	0.973	0.577	1.047
Glucose	-	0.355	0.249	0.279	-	1.447	1.067	6.980	4.545	9.962
계	0.286	0.355	0.249	0.279	0.399	2.135	2.286	7.954	5.122	11.009

(7) 수집된 된장의 아미노태질소함량

수집된 된장의 아미노태질소 함량을 Fig 5에 나타내었다. 전통된장은 대두를 100%사용하여 제조하기 때문에 단백질분해에 의하여 아미노태질소 함량이 개량식된장보다 높다. 개량식된장은 대부분 소맥분과 쌀, 대두를 이용하여 제조하기 때문에 전분질성분에 의한 단맛은 우수하나 구수한 맛이 전통된장 보다는 약하다고 볼 수 있다.

개량식인 HJD(448.2mg%), HJ(352.6mg%)보다 전통방식으로 제조된 KK(861.3mg%), SW3(926.3mg%)등이 높은 아미노태질소 함량을 보이는 것도 이 때문이라고 볼 수 있다.

전통적인 방법으로 제조된 된장은 대두함량이 높으므로 단백질분해력이 높은 효소를 분비하는 우수균주를 선발하려는 연구가 계속 진행되고 있고, 옛날부터 전해 내려오는 짚을 이용한 방법을 산업화하기 위하여 짚 속에서 단백질분해력이 좋은 *Bacillus* 계통의 균주들을 분리 연구하고 있다.

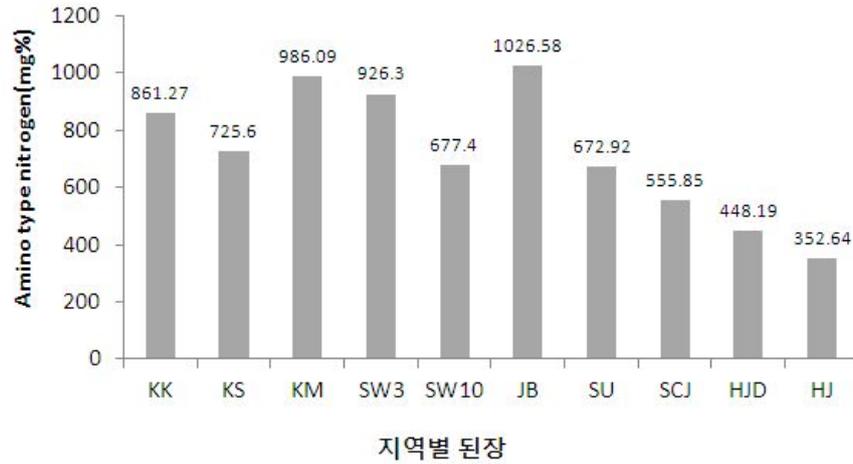


Fig. 5. Amino-type nitrogen contents of *Doenjang* collected from several regions

(8) 수집된 된장의 색도(L, a, b)

수집된 된장의 색도를 보기 위하여 Table 5에 L, a, b값으로 나타내었다. 색도를 수치화하여 비교하기 위한 방법으로 된장의 짙은 황색과 갈색정도를 나타낸 것이다. L값은 시료의 명도를 나타내는 것이며 수치가 작아질수록 흰색계통에서 검은색 계통을 나타내는 것이고, a값(redness)은 green계통의 색상에서 수치가 커질수록 붉은색 계통의 색상을 나타내는 것이다.

b값(yellowness)은 blue계통의 색상에서 수치가 커질수록 노란색을 나타내는 것으로 주로 개량식된장(HJD, HJ)이 노란색계통의 색상을 나타낸다고 볼 수 있다.

수집된 된장 중에 L값이 가장 큰 것은 51.66으로 SCJ제품이고, a값이 큰 것은 HJD로 7.61, b값은 20.22로 SCJ제품이 가장 크게 나타났다. SW10제품이 전반적으로 가장 어두운 갈색의 된장색상을 나타내었다.

Table 5. Hunter's color values of *Doenjang*(L, a, b)

	KK	KS	KM	SW3	SW10	JB	SU	SCJ	HJD	HJ
L	35.735	36.72	33.53	37.08	32.42	46.21	43.87	51.66	45.04	48.55
a	4.29	3.63	2.04	3.9	1.33	4.25	6.48	4.18	7.61	4.66
b	8.385	9.07	3.78	6.44	2.46	14.14	15.13	20.22	17.82	18.27
a/b	0.51	0.4	0.54	0.61	0.54	0.3	0.43	0.21	0.43	0.26

(9) 수집된 된장의 무기물과 아미노산함량

된장의 무기물은 대두에서 유래된 것과 천일염에서 유래된 것으로 크게 나눌 수 있다. 된장의 무기물 함량을 Table 6에 나타내었다. SW10, SU시료가 총 무기물 함량

이 5443.2mg%, 4987.2mg%로 높았고 나트륨은 KK, SW10시료가 4011.4, 4297.9mg%로 높았다. 칼슘은 JB, SW10시료가 129.65mg%, 124.3mg%로 높았다. 인은 SW3, HJ가 각각 439.74mg%, 439.64mg%로 높았다. 철은 SU, SW10이 각각 13.83, 7.9mg%로 높았다.

수집된 된장의 유리아미노산 함량은 Table 7에 나타내었다. 유리아미노산은 SW3, SU, JB 시료 순으로 총아미노산 함량이 29,637.8mg/kg, 28,299.07mg/kg, 27,262.65mg/kg 순으로 높게 나타났고, 된장의 지미를 향상시켜주는 glutamic acid 함량은 SW3, SCJ, SU순으로 2,120.48mg/kg, 1,555.04mg/kg, 1,536.84mg/kg순으로 나타났

Table 6. Mineral contents of *Doenjang* collected from several regions.

(단위 : mg%)

	KK	KS	KM	SW3	SW10	JB	SU	SCJ	HJD	HJ
Na	4011.4	3298.8	2785	2787.2	4297.9	2684.7	3765.3	3089.2	3420.2	3571.4
Ca	93.35	103.9	106.95	112	124.3	129.65	85.4	93.3	93.55	90.5
Fe	3.615	3.96	2.764	4.075	7.9	4.783	13.835	4.283	4.283	5.06
K	528.3	375.7	562.7	493.2	720.5	537.7	858.5	504	602.1	499.5
P	167.75	155.73	207.29	439.74	292.61	368.58	264.19	196.32	202.92	439.64
계	4804.4	3938.1	3664.7	3836.2	5443.2	3725.4	4987.2	3887.1	4323.1	4606.1

Table 7. Free amino acid contents of *Doenjang* collected from several regions.

(단위 : mg/kg)

시료 A.A	KK	KS	KM	SW3	SW10	JB	SU	SCJ	HJD	HJ
L-Asp	751.27	0	952.71	1181.87	403.60	480.04	774.44	826.55	550.77	506.56
L-Ser	1559.68	3387.74	1811.45	4699.15	858.95	2288.41	3641.30	2617.24	2771.11	2035.73
L-Glu	1384.07	9.56	1280.86	2120.48	557.68	421.82	1536.84	1555.04	1110.31	1026.37
L-His	504.14	3780.80	811.56	355.29	-	-	549.12	134.58	172.89	289.83
Gly	1398.95	689.03	1721.41	1041.51	497.64	1824.36	713.47	762.17	687.72	437.19
L-Thr	1536.95	375.51	1995.37	1567.95	666.42	221.31	1230.12	997.23	767.49	694.25
L-Arg	8361.67	6503.80	1.20	-	891.58	-	3103.91	2804.59	1533.02	2489.48
L-Ala	-	232.04	-	2940.97	1468.37	5858.07	1729.28	1829.18	1565.86	118.80
L-Tyr	643.15	484.40	697.14	871.26	265.07	2793.60	674.62	773.60	763.50	685.35
L-Val	2044.27	1570.91	2509.97	2332.33	782.75	2519.13	1887.45	1335.45	1194.60	1076.05
L-Met	303.73	217.78	202.18	344.39	151.96	302.96	111.54	216.34	442.34	129.75
L-Trp	149.94	244.38	292.91	417.62	-	163.39	283.40	175.78	-	145.97
L-Phe	1266.34	-	1739.08	2389.32	468.80	1470.71	2146.50	1296.69	1655.57	1138.78
L-Ile	2326.19	1486.52	2764.49	2756.29	727.02	2406.28	2426.75	1392.62	1370.17	68.97
L-Leu	-	-	3630.21	3917.4	996.12	3233.58	4602.96	2227.59	-	2171.77
L-Lys	1.15	2196.13	3377.21	2702.01	1072.90	3278.99	2887.37	2455.36	1.16	35.04
계	22,232	21,179	23,788	29,638	9,809	27,263	28,299	21,400	14,5867	13,050

*L-Aspartic acid, L-Serine, L-Glutamicacid, L-Histidine, Glycine, L-Threonin, L-Arginine, L-Alanine, L-Tyrosine, L-Valine, L-Methionine, L-Tryptophan, L-Phenylalanine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Lysine

(10) 전통된장에서 분리된 미생물의 효소활성 비교 실험결과

(가) 분리된 세균류의 효소활성 비교

전통된장에서 분리된 미생물들 중에 단백질 분해력과 전분분해력이 높은 균주를 선발하기 위하여 Fig.6의 clear zone 크기를 통하여 선발하였다. Table 8은 세균류의 clear zone 크기를 나타낸 것으로 분리된 세균 101개 중에서 Amylase, Protease 효소활성이 우수한 균주를 선발하기 위하여 세포의 효소분비능 측정을 통하여 clear zone 수치가 큰 것을 활성이 큰 것으로 선발하였다. Protease 활성이 큰 것으로는 SOSM-11, SOSM-7, KO-31, KO-312, MCM-4 시료들이 좋은 활성을 보였다. Amylase 활성은 SW-37, SOSM-1, SOSM-20, KO-310, SWM-14들이 좋은 활성을 나타내었다.

Table 8. Proteolytic and amyloclastic activity of the strains isolated from *Doenjang*

(Unit : cm)

Isolates		Formation of clear zone(cm)		Isolates		Formation of clear zone(cm)	
		Amylase	Protease			Amylase	Protease
SO-SM-1	경기	2.675	1.88	KO-SM-9	전남	—	1.225
SO-SM-2	경기	1.925	1.93	KO-SM-10	전남	—	—
SO-SM-3	경기	1.625	1.8	KO-SM-11	전남	1.925	2.9
SO-SM-4	경기	2.3	2	KO-SM-12	전남	—	1
SO-SM-5	경기	1.325	2.15	KO-SM-13	전남	—	1.1
SO-SM-6	경기	2.3	2	KO-SM-14	전남	—	1.3
SO-SM-7	경기	1.4	2.78	KO-SM-15	전남	—	—
SO-SM-8	경기	—	1	KO-03-1	전남	2.325	3.075
SO-SM-9	경기	1.3	1.8	KO-03-2	전남	1.525	1.025
SO-SM-10	경기	2.325	1.725	KO-03-3	전남	0.95	0.875
SO-SM-11	경기	1.7	3.175	KO-03-4	전남	1.625	1.3
SO-SM-12	경기	2.025	1.725	KO-03-5	전남	1.675	1.4
SO-SM-13	경기	2.1	2.55	KO-03-6	전남	1.25	1.25
SO-SM-14	경기	1.7	1.7	KO-03-7	전남	1.975	1.425
SO-SM-15	경기	2.2	2.025	KO-03-8	전남	1.775	1.375
SO-SM-16	경기	1.85	2.175	KO-03-9	전남	1.65	1.95
SO-SM-17	경기	1.925	1.925	KO-03-10	전남	2.875	—
SO-SM-18	경기	2.15	1.675	KO-03-11	전남	1.2	1.4
SO-SM-19	경기	1.925	2.125	KO-03-12	전남	1.35	2.525
SO-SM-20	경기	4.25	1.825	MC-M-1	강원	0.85	1.975
KO-SM-1	전남	2.25	1.925	MC-M-2	강원	1.925	2.125
KO-SM-3	전남	—	—	MC-M-3	강원	1.475	1.75
KO-SM-5	전남	—	—	MC-M-4	강원	0.625	2.525
KO-SM-6	전남	1.975	1.475	MC-M-5	강원	0.9	1.45
KO-SM-7	전남	2	1.325	MC-M-7	강원	—	1.5
KO-SM-8	전남	—	—	MC-M-8	강원	2.075	2.5

(표 8 계속)

Strains		Formation of clear zone(cm)		Strains		Formation of clear zone(cm)	
		Amylase	Protease			Amylase	Protease
MC-M-9	강원	1.5	1.475	SW-M-16	강원2	1.425	1.625
MC-8-1	강원	1.375	1.575	SW-M-17	강원2	1.6	1.55
MC-8-3	강원	—	1.475	SW-M-18	강원2	1.7	1.475
MC-8-5	강원	1.2	2.45	SW-M-19	강원2	1.3	1.55
MC-8-7	강원	1.35	2.15	SW-M-20	강원2	1.6	1.4
MC-8-8	강원	1.8	1.75	SW-03-1	강원22	2	0.75
MC-8-9	강원	1.725	1.9	SW-03-2	강원2	0.575	0.825
MC-8-10	강원	1.625	—	SW-03-3	강원2	1.65	1.3
MC-8-11	강원	1.4	1.775	SW-03-4	강원2	3.25	1.3
SW-M-1	강원2	1.175	1.55	SW-03-5	강원2	1.625	1.45
SW-M-2	강원2	1.6	1.55	SW-03-6	강원2	1.25	1.025
SW-M-3	강원2	1.7	1.575	SW-03-7	강원2	2.725	1.325
SW-M-4	강원2	0.775	1.375	SW-03-8	강원2	1.375	1.675
SW-M-5	강원2	1.425	1.45	SW-03-9	강원2	3	1.975
SW-M-6	강원2	1.4	1.475	SW-03-10	강원2	1.5	1.5
SW-M-7	강원2	1.6	1.7	SW-03-11	강원2	1.025	1.275
SW-M-8	강원2	1.425	1.5	SW-03-12	강원2	0.725	1.225
SW-M-9	강원2	1.525	1.45	SW-03-13	강원2	2.6	1.65
SW-M-10	강원2	1.25	1.525	SW-03-14	강원2	1.85	1.5
SW-M-11	강원2	1.7	1.625	SW-03-15	강원2	0.575	1.025
SW-M-12	강원2	1.8	1.475	SW-03-16	강원2	1.025	0.9
SW-M-13	강원2	1.55	1.55	SW-03-17	강원2	1.175	0.925
SW-M-14	강원2	3.3	1.775	SW-03-18	강원2	1.7	1.525
SW-M-15	강원2	1.55	1.625	SW-03-19	강원2	1.1	1.475
				SW-03-20	강원2	1.35	1.3

(나) 분리된 곰팡이의 효소활성 비교

분리된 곰팡이 9개 중에서 Amylase, Protease 효소활성이 우수한 균주를 Table 11에 나타내었다. 효소분해력이 좋은 균주를 우선 선발하기 위하여 세포의 효소분비능 측정을 통하여 clear zone 수치가 큰 것을 활성이 큰 것으로 보고 선발하였다. Protease활성이 큰 것으로는 DJDD-N8, DJSW-32 시료들이 좋은 활성을 보였고, Amylase 활성은 DJKO-37, DJSW-34 시료들이 좋은 활성을 나타내었다.

Fig. 6. Clear zone shape of the strains activity

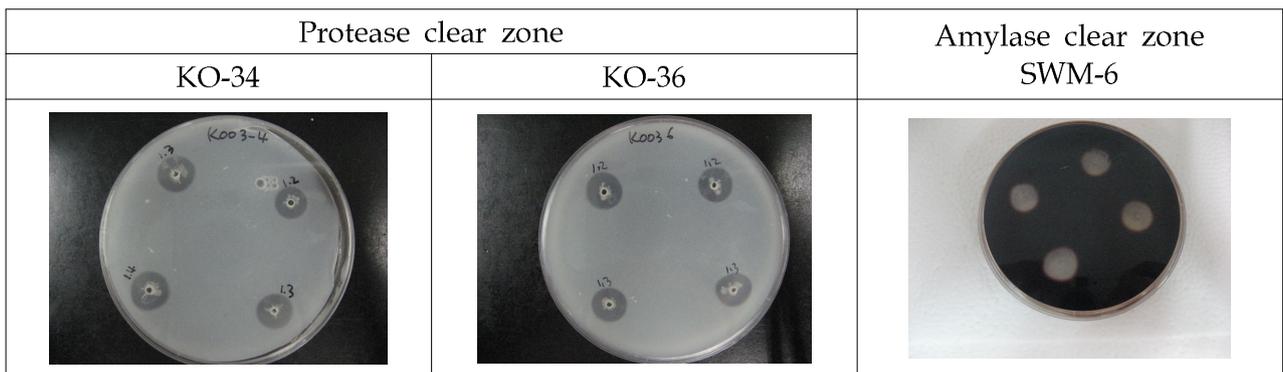


Table 11. Proteolytic and amyloclastic activity of the strains isolated from *Doenjang*

Strains		Formation of clear zone(cm)	
		Amylase	Protease
DJDD-N-8	경기	1.925	1.825
DJHL-4	제주	—	0.75
DJKO-35	전남	1.9	—
DJKO-37	전남	2.15	—
DJSW-31	서원	—	1.25
DJSW-32	서원	—	1.55
DJSW-33	서원	2	—
DJSW-34	서원	2.02	—
DJSW-36	서원	1.55	—

나. 대량생산을 위한 공정개발

(1) 감각 화학적 지표와 효소활성을 이용하여 선발된 균으로 된장제조

세부과제의 감각화학적 지표 연구결과와 효소활성 등을 통하여 최종적으로 같이 세균 5종 (SW-37, SW-39, KOSM-11, DJKO-5%, DJDD-5%)과 곰팡이 2종 (DJSW-31, DJKO-35)을 선정하여 Table 12와 같은 혼합비율로 균주를 혼합처리하여 된장을 제조하였다.

Table 12. Sample of single and mixed strains

No	Division	Isolates
1	Bacteria (단일균)	SW-37
2		SW-39
3		KOSM-11
4		DJKO-5%
5		DJDD-5%
6	Mould (단일균)	DJSW-31
7		DJKO-35
8	세균+곰팡이 (DJSW-31)	SW-37 + DJSW-31
9		SW-39 + DJSW-31
10		KOSM-11 + DJSW-31
11		DJKO-5% + DJSW-31
12		DJDD-5% + DJSW-31
13	세균+곰팡이 (DJKO-35)	SW-37 + DJKO-35
14		SW-39 + DJKO-35
15		KOSM-11 + DJKO-35
16		DJKO-5% + DJKO-35
17		DJDD-5% + DJKO-35

(가) 단일 및 혼합균주 접종 방법 및 시간

실험에 사용한 대두는 강원도 횡성산을 사용하였고 소금은 정제소금(순도98%)을 사용하여 실험하였다. 대두는 일정시간 침지, 탈수 후 사용하였고, 멸균한 대두(121℃, 30분) 200g을 삼각플라스크에 보관하면서 실험에 사용하였다.

단일균(세균, 곰팡이)시료는 증숙대두에 0.1%의 액체균주를 첨가하여 30℃에서 10일간 배양한 후 정제소금을 첨가한 후 된장발효를 거쳐 시료로 사용하였다. 혼합균은 Fig. 7과 같은 제조방법으로 세균과 곰팡이를 혼합 접종하여 실험하였다.

혼합균처리 방법은 우선 세균을 증숙 대두량의 0.1%을 접종한 후, 5일 경과 후 곰팡이를 접종(0.1%)하고 5일 발효시킨 후 정제소금을 11%농도가 되게 배합한 후 7일간 발효(30℃)한 후 시료로 사용하였다.

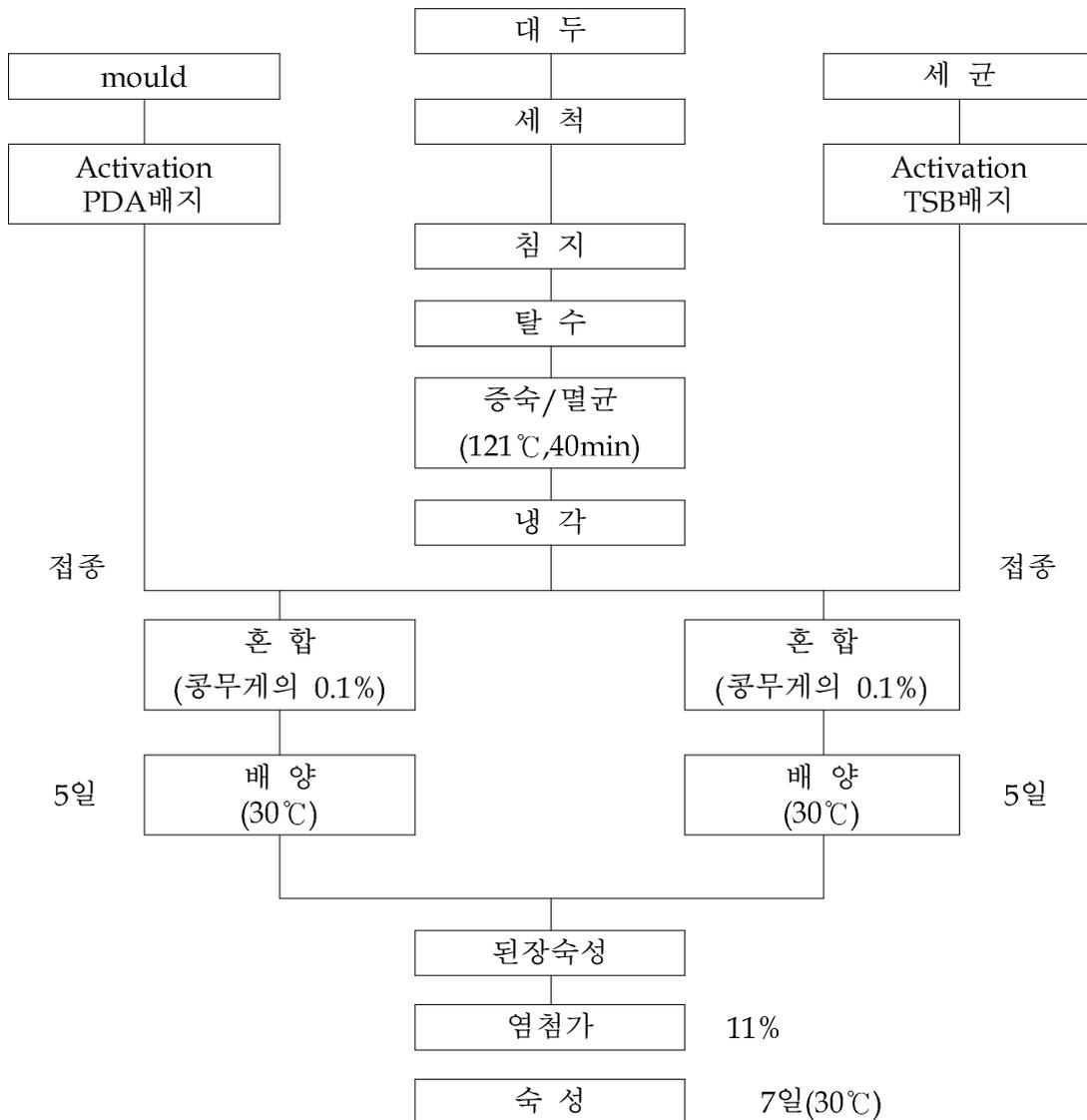


Fig. 7. Process of *Doenjang* manufacture

(2) 단일 및 혼합균주를 이용하여 제조한 된장시료군의 일반성분 분석

실험실에서 단기간에 우수균주를 접종하여 제조한 된장시료들의 분석결과를 Table 13에 나타내었다. 수분함량은 평균 59.4%를 나타내었고 일반적인 된장 수분함량 48-50%대 보다 높은 편이었다. 이것은 초기수분이 많았고 수분 조절없이 단기간에 제조하여 수분함량이 높게 나온 것으로 사료된다.

pH는 보통 6-7로 일반적인 된장들 보다 다소 높은 수치를 보였고 아미노태질소 함량은 평균 811mg%로 특히 아미노태질소 함량이 높은 시료는 단일세균을 접종한 1, 4번 시료군이 1,008.5mg/kg, 1,017.5mg/kg으로 발효가 잘 된 것으로 나타났고 혼합균주로는 12번 시료 1,098 mg/kg으로 발효가 잘 된 것으로 나타났다.

Table 13. Chemical composition of Doenjang fermented by selected strains

Sample	수분 (%)	pH	산도(%)	아미노태질소 (mg%)	조단백질 (%)
1	58.87	7.70	0.30	1008.5	14.59
2	59.32	7.88	0.38	926.8	22.56
3	58.27	7.82	0.24	541.2	13.23
4	58.54	7.66	0.34	1017.5	13.52
5	53.05	6.08	0.57	31.2	12.58
6	65.88	6.23	1.08	851.2	11.28
7	62.36	6.19	1.62	923.5	12.70
8	59.89	7.34	1.08	950.0	13.54
9	59.17	7.51	0.35	940.1	13.12
10	58.13	7.70	0.42	592.5	13.12
11	65.45	6.11	1.38	800.6	10.90
12	58.91	7.42	0.64	1098.5	13.58
13	59.10	7.46	0.88	912.0	11.36
14	59.00	7.41	0.73	976.9	13.12
15	58.50	7.43	0.51	526.0	12.78
16	59.08	7.43	0.71	763.2	12.18
17	56.94	7.40	0.65	939.6	11.60

(3) 된장 시료군의 색도 분석

된장시료군의 색도를 보기 위하여 Table 14에 L, a, b값으로 나타내었다. 색도를 수치화하여 비교하기 위한 방법으로 L값은 시료의 명도(lightness)를 나타내는 것이며 수치가 작아질수록 흰색계통에서 검은색 계통을 나타내는 것이고, a값(redness)은 green계통의 색상에서 수치가 커질수록 붉은색 계통의 색상을 나타내는 것으로 1, 2,

8, 13번 시료가 약간 붉은색을 나타내었다고 볼 수 있다. b값(yellowness)은 blue계통의 색상에서 수치가 커질수록 노란색을 나타내는 것으로 주로 1, 2, 3번 등의 시료가 노란색계통의 된장에 속한다고 볼 수 있다.

Table 14. Hunter's color value of *Doenjang* fermented by selected strains

	색도		
	L	a	b
1	43.67	+5.93	+18.15
2	42.60	+5.11	+18.64
3	45.94	+3.97	+19.40
4	39.75	+4.89	+16.46
5	53.27	+2.18	+15.42
6	29.02	+1.31	+7.30
7	26.25	+0.32	+4.54
8	36.96	+5.71	+15.75
9	36.36	+4.44	+16.65
10	38.88	+3.01	+16.94
11	24.43	+0.16	+5.75
12	34.04	+4.77	+15.01
13	36.12	+5.10	+16.58
14	35.48	+4.49	+15.66
15	38.89	+3.28	+17.10
16	35.56	+4.77	+16.81
17	35.20	+4.49	+16.79

(4) 된장숙성 후 관능검사 결과

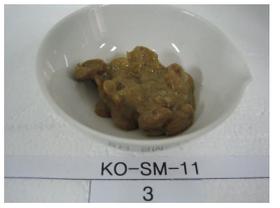
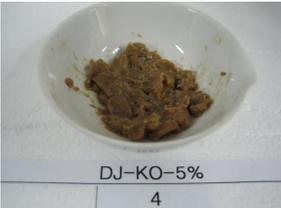
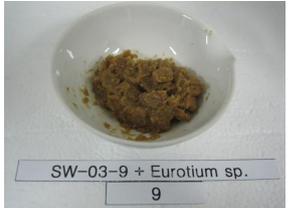
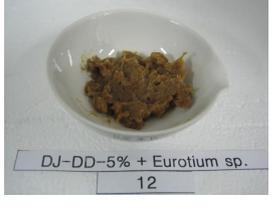
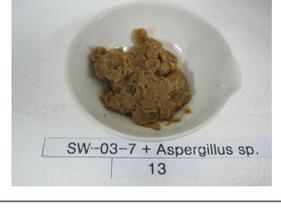
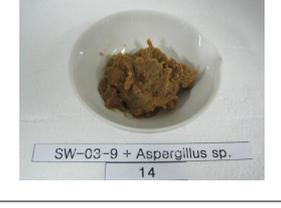
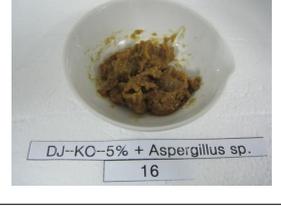
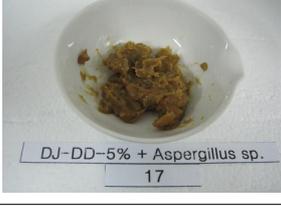
관능검사는 잘 훈련된 관능검사요원 10명을 대상으로 향미와 맛을 평가하여 가장 높은 점수는 5점 그리고 가장 낮은 점수는 1점으로 하여 평균값의 유의적 차이($p < 0.05$)를 분석하여 Table 15에 나타내었다. SW-37, SW-39, DJDD-5%+DJSW-31, SW-39+DJKO-35, DJKO-5%+DJKO-35, DJDD-5%+DJKO-35 시료군들이 좋은 결과를 나타내었다. 제조된 된장 사진을 Fig. 8에 나타내었다.

Table 15. Sensory evaluation of *Doenjang* fermented by selected strains

NO.	Sample	Flavor	Taste	비 고
1	SW-37	4.5 ^{a*}	4.7 ^a	구수한 된장냄새
2	SW-39	4.2 ^a	4.5 ^a	구수한 냄새
3	KOSM-11	4.0 ^b	3.2 ^c	구수하나 암모니아냄새, 진생김
4	DJKO-5%	4.0 ^b	4.2 ^b	구수한 냄새
5	DJDD-5%	3.9 ^b	2.4 ^c	단내, 단맛강함
6	DJSW-31	3.5 ^c	3.4 ^c	냄새양호, 구수한향 약함
7	DJKO-35	3.5 ^c	3.6 ^c	냄새양호, 구수한향 약함
8	SW-37 + DJSW-31	4.1 ^a	4.2 ^b	효모냄새 맛 양호
9	SW-39 + DJSW-31	3.4 ^c	3.4 ^c	암모니아냄새
10	KOSM-11 + DJSW-31	2.6 ^c	3.6 ^c	버섯냄새. 진생김
11	DJKO-5% + DJSW-31	3.4 ^c	1.6 ^d	냄새양호, 구수하지않음
12	DJDD-5% + DJSW-31	4.5 ^a	4.6 ^a	구수한냄새
13	SW-37 + DJKO-35	4.2 ^a	4.2 ^a	구수한냄새와 쓴맛
14	SW-39 + DJKO-35	4.6 ^a	4.8 ^a	구수한 냄새
15	KOSM-11 + DJKO-35	3.6 ^c	3.6 ^c	진생김. 구수한냄새
16	DJKO-5% + DJKO-35	4.7 ^a	4.3 ^a	구수하며 암모니아냄새
17	DJDD-5% + DJKO-35	4.6 ^a	4.3 ^a	구수한 된장냄새

*The same superscripts in each column are not significantly different among group by Ducan's multiple range test in one way ANOVA(p<0.05)

Fig. 8. Doenjang fermented by single and mixed strains

SW-03-7(1)	SW-03-9(2)	KO-SM-11(3)
 SW-03-7 1	 SW-03-9 2	 KO-SM-11 3
DJ-KO-5%(4)	DJ-DD-5%(5)	Mould I: DJ-SW-03-1(6)
 DJ-KO-5% 4	 DJ-DD-5% 5	 DJ-SW-03-1 (Eurotium sp.) 6
Mould 2: DJ-KO-03-5 (7)	SW-03-7 + M1 (8)	SW-03-9 + M1 (9)
 DJ-KO-03-5 (Aspergillus sp.) 7	 SW-03-7 + Eurotium sp. 8	 SW-03-9 + Eurotium sp. 9
KO-SM-11 + M1 (10)	DJ-KO-5% + M1 (11)	DJ-DD-5% + M1 (12)
 KO-SM-11 + Eurotium sp. 10	 DJ-KO-5% + Eurotium sp. 11	 DJ-DD-5% + Eurotium sp. 12
SW-03-7+M2 (13)	SW-03-9 + M2 (14)	KO-SM-11 + M2 (15)
 SW-03-7 + Aspergillus sp. 13	 SW-03-9 + Aspergillus sp. 14	 KO-SM-11 + Aspergillus sp. 15
DJ-KO-5% + M2 (16)	DJ-DD-5% + M2 (17)	
 DJ-KO-5% + Aspergillus sp. 16	 DJ-DD-5% + Aspergillus sp. 17	

(5) 감각화학적 방법으로 선정된 균주를 주발효균으로 된장제조 실험

(가) 선발균주를 이용한 현장 제조실험

감각화학적 방법으로 선정된 균주를 단독 및 혼합하여 현장 제조라인을 통하여 적용 실험을 하였다. 대두 1톤을 12시간 침지하고 탈수하여 N/K증자관으로 증숙하였다. 증숙된 대두에 균주(10^8 cells/mL)를 0.1%씩 스프레이방식으로 접종하였다.

균주는 감각화학적 방법을 통하여 선정된 세균 2종 SW-37(*Bacillus subtilis*), KOSM-11(*Bacillus methyilotrophicus*)과 곰팡이 2종 DJSW-31(*Eurotium cristatum*), DJKO-35(*Aspergillus oryzae*)을 단독 및 혼합처리하여 Table 16과 같이 실험군을 만들어 현장에서 사용하였다. 현장에서 제조한 실험군은 2가지 형태로 제조하였다.

첫째 대두를 증숙한 후 각각 아래 Table 16과 같이 실험군별로 균주를 접종하여 메주형태로 제조한 균으로 NK증자관에서 증숙된 콩을 냉각한 후 균주를 각각 접종 혼합한 후 메주성형기를 통하여 전통방식대로 사각메주(250×180×90mm)를 제조하였다. 메주를 걸말리기 한 후 30℃에서 45일간 발효 숙성하고 실험에 사용하였다. 사각메주를 이용한 된장은 메주를 직접 분쇄하여 염수에 혼합하여 발효 숙성하였고, 시료의 수분함량 50%, 염도 10%가 되도록 제조하였다.

둘째 알콩 형태에 균을 직접 접종 혼합하여 제조한 균으로 공장발효실에서 발효, 숙성시켰다. 알콩메주를 이용한 된장시료군은 알콩에 세균 0.5% 접종 후 4일 후에 곰팡이균을 접종하였다. 실험군은 아래 Table 16.과 같이 세균접종 알콩메주와 곰팡이접종 알콩메주를 각각 1 : 1로 혼합하였고 염도를 10%로 조정하여 항아리에 넣어 상온에서 발효·숙성하였다.

Table 16. Experimental group of Doenjang

구분 No.	실험군	전체량(kg)	실험 1	실험 2
			사각메주형(kg)	알콩메주형(kg)
Sample 1	SW-37	200	100	100
Sample 2	SW-37 + DJSW-31	200	50+50	50+50
Sample 3	SW-37 + DJKO-35	200	50+50	50+50
Sample 4	KOSM-11+DJKO-35	200	50+50	50+50

※ 50+50 : 두 균주를 각각 접종한 메주의 혼합량(kg)

※ 메주형태 크기 : 250×180×90mm(직육면체)

(나) 사각메주 형태로 제조된 된장의 성분변화

① 사각메주 형태로 제조된 된장의 수분함량(%) 변화

사각메주형으로 된장을 제조한 시료는 염수를 첨가하여 수분함량이 50% 되게 제조된 시료로 30℃ 항온기에서 발효, 숙성하여 Fig. 9와 같은결과를 나타내었다. 46.5-48.7%의 수분함량을 나타내었고 발효 숙성기간이 길어질수록 일반적으로 용기와 뚜껑에 따라 위 표면 건조가 심하게 일어나기도 하고 발효기간이 길어 수분증발로 인한 수분감소 현상이 있어난다. 실험실 항온기에 보관하면서 발효 숙성하여 실외에서 발효숙성 한 것보다 수분변화는 미미한 것으로 나타났다.

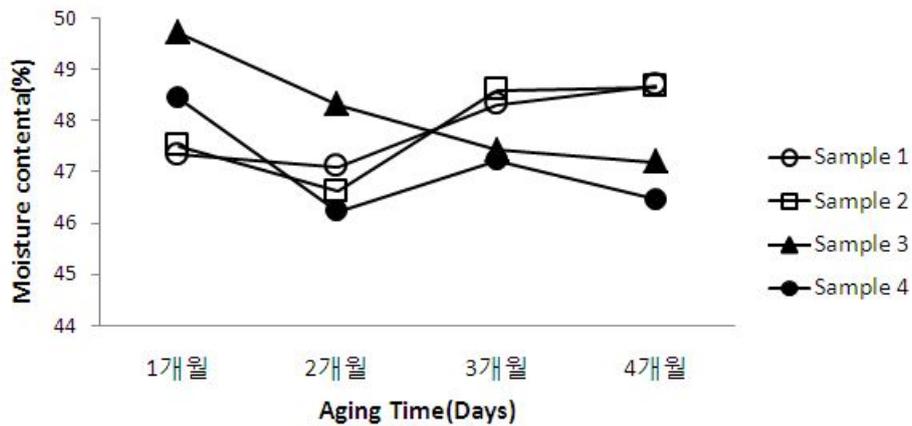


Fig. 9. Changes in Moisture contents of *Doenjang* made from Traditional *Meju*

Sample 1 : Sample made with Traditional *Meju* inoculated with SW-37

Sample 2 : Sample made with Traditional *Meju* inoculated with SW-37+DJSW-31

Sample 3 : Sample made with Traditional *Meju* inoculated with SW-37+DJKO-35

Sample 4 : Sample made with Traditional *Meju* inoculated with KOSM-11+DJKO-35

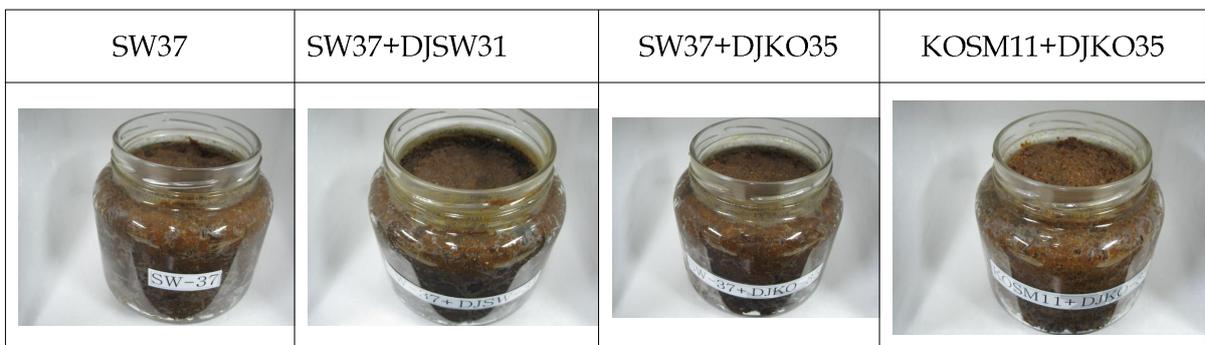


Fig. 10. *Doenjang* made from Traditional *Meju*(Quadrangle)

② 사각메주 형태로 제조된 된장의 아미노태질소 변화

사각메주형으로 제조한 된장의 아미노태질소 함량 변화를 Fig. 11에 나타내었다. 아미노태질소는 된장의 숙성정도를 알 수 있는 성분으로 원료에 따라 차이는 있지만 보통 잘 숙성된 된장은 보통 400mg%정도 이상이나 실험군은 1개월 만에 SW37 + SW31 혼합군은 913.33mg%를 나타내었고, SW37 + DJKO35군도 492.6mg%를 나타내었다. 숙성기간이 길어질수록 함량은 높아지나 큰 폭의 상승은 없는 것으로 보아 초기 발효 숙성이 빨리 일어나는 것으로 나타났다.

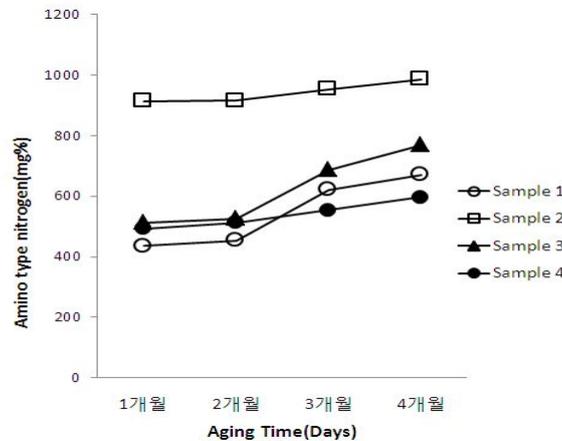


Fig. 11. Changes in Amino-type nitrogen contents of *Doenjang* made from Traditional *Meju* - See footnotes on Fig. 9.

③ 사각메주 형태로 제조된 실험군의 색도(L, a, b) 변화

된장의 색도변화를 보기 위하여 Fig. 12, 13, 14에 L, a, b값으로 나타내었다. L값은 시료의 명도(lightness)를 나타내는 것으로 숙성초기 밝은 색상에서 발효 숙성이 진행되면서 약간 어두운 색상을 나타내었다.

a값과 b값은 붉은색과 노란색계통 색상을 나타내는 것으로 시료 1, 4는 초기상태를 유지하는 수준으로 진행하였고 2, 3번 시료는 2개월까지는 색상이 유지되다가 3개월 이후부터는 붉고 노란색 계통이 약해지면서 갈변이 진행되고 있었다.

④ 사각메주 형태로 제조된 된장의 조단백질(%), pH와 적정산도 변화

숙성 중 조단백질 함량변화를 Fig. 15에 나타내었다. 단백질함량은 11.16-13.18%로 숙성 중 변화는 거의 없는 것으로 나타났고 수분함량의 변화로 인하여 다소 높아지는 경향은 있을 것이다.

된장 숙성 중 미생물에 의한 발효산물과 밀접한 관계가 있는 pH와 적정산도의 변화는 Fig.16와 Fig. 17에 나타내었다. pH는 숙성이 진행되면서 초기 6.2-6.8에서 4.6-4.8로 저하되었으며 산도는 초기 1.3-1.7에서 3.7-5.2로 증가하는 추세를 보였다. 이는 접종 균주별 콩알메주 배합비를 달리한 된장의 품질특성 연구결과와 유사하였다.(22)

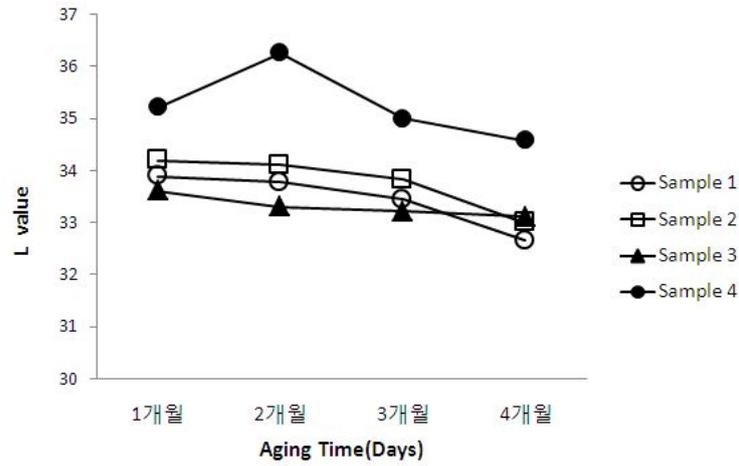


Fig.12. Changes in Hunter's color(L)of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
 - See footnotes on Fig. 9.

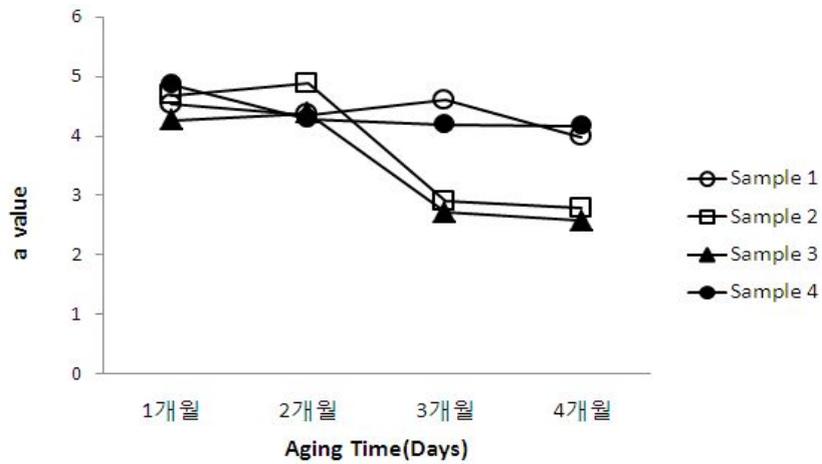


Fig.13. Changes in Hunter's color(a)of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
 - See footnotes on Fig. 9.

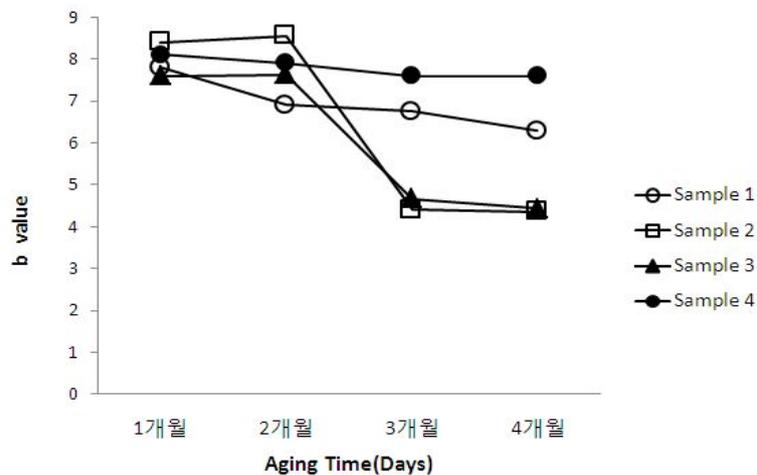


Fig.14. Changes in Hunter's color(b)of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
 - See footnotes on Fig. 9.

메주 제조 시 *Bacillus subtilis*의 첨가가 재래식 된장의 발효에 미치는 영향 연구결과와 비교하여(23) pH는 본 연구 결과가 4.6-4.8으로 다소 낮게 나타났다. 산도는 3.7-5.7로 높게 나타났다. 일반적인 된장의 산도와 비교하여 연구시료의 산도가 낮게 나타내었다.

아미노산함량은 Table 17에 나타내었다. 시료 SW-37+DJSW-31와 SW-37 + DJKO-35가 각각 40,947mg/kg, 45,005mg/kg으로 높은 함량을 나타내었고 특히 지미에 영향을 미치는 성분인 glutamic acid함량도 7,135.53mg/kg, 7,837.47mg/kg으로 두 시료가 높게 나타났다. 수집된 된장의 glutamic acid함량보다 4-5배 정도 많이 함유된 것을 알 수 있었다.

유리당 함량은 Table 18에 나타내었다. SW-37 시료는 4개월 숙성 중 가장 높은 함량을 나타내었고, 혼합균주를 사용한 SW-37+DJSW-31와 SW-37+DJKO-35시료는 1개월 부터 2101.5mg%, 1923.2mg%로 높게 나왔고, KOSM-11+DJKO-35시료는 1748mg%로 다소 낮은 함량을 나타내었다. 메주균을 달리한 숙성된장의 유리당조성 비교연구(24)와 비교하여 비슷한 경향을 나타내었다.

무기물 함량은 Table 19에 나타내었다. 소금첨가로 인한 Na 함량이 가장 많았고 K, P, Ca, Fe순으로 무기물을 함유한 것으로 나타났다.

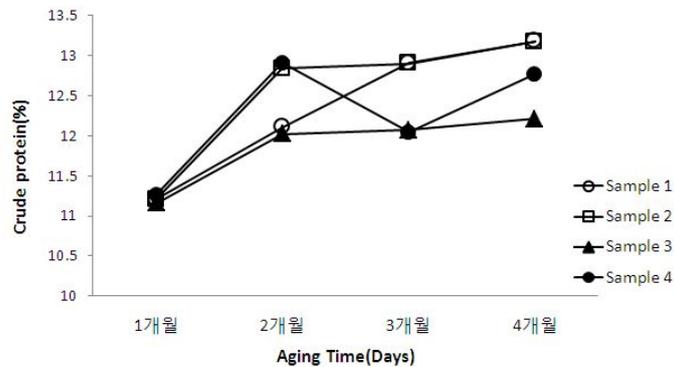


Fig.15. Changes in Hunter's color(L)of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
- See footnotes on Fig. 9.

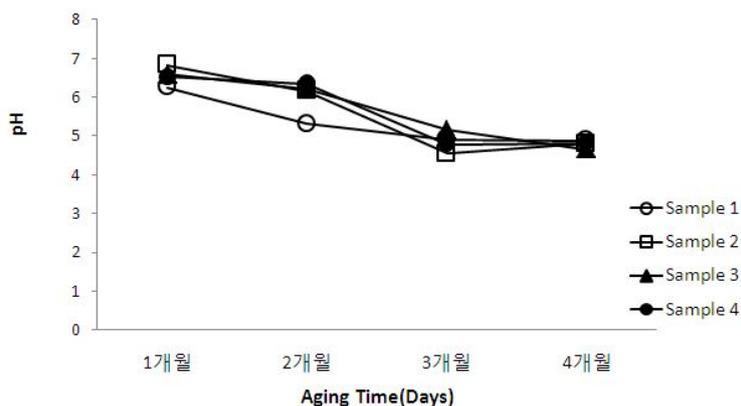


Fig. 16. Changes in pH of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
- See footnotes on Fig. 9.

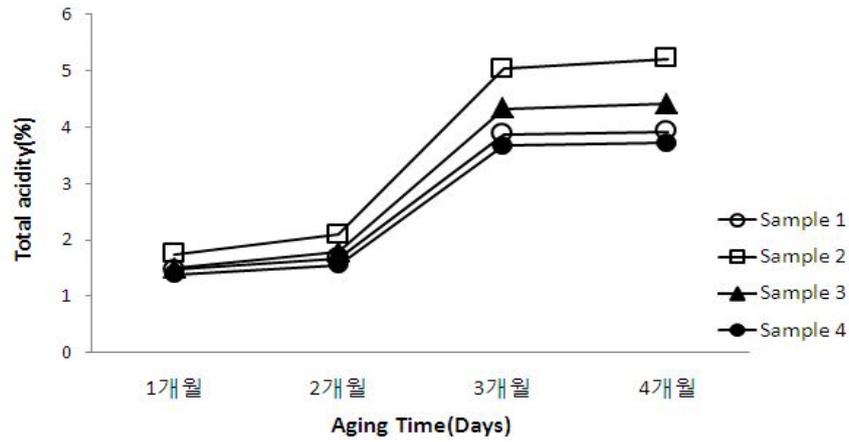


Fig. 17. Changes in Total acidity of *Doenjang* made from Traditional *Meju*
 - See footnotes on Fig. 9.

Table 17. Free Amino acid contents of *Doenjang* made from Traditional *Meju*

Amino acid (mg/kg)	SW-37	SW-37+DJSW-31	SW-37+DJKO-35	KOSM-11+DJKO-35
Aspartate acid	2183.67	2162.47	2575.81	1923.63
Glutamic acid	5389.06	7135.53	7837.47	6974.42
Asparagine	132.77	865.05	1005.49	644.77
Serine	1695.15	2579.52	2846.46	2353.91
Glutamine	0.00	0.00	0.00	0.00
Glycine	982.57	1336.72	1564.16	1094.70
Histidine	896.20	1139.48	1226.62	1022.23
Arginate	306.38	325.26	336.16	333.13
Threonine	1527.12	2157.68	2381.75	1944.13
Alanine	1769.68	2591.56	2832.32	2224.08
Proline	1311.97	2470.35	2495.64	1962.22
Tyrosine	1032.36	1103.14	1143.17	1095.00
Valine	2082.55	2883.73	3158.05	2611.26
Methionine	585.63	886.37	965.80	760.51
Cystine2	84.30	115.13	117.92	128.29
Isoleucine	1900.66	2671.35	2963.08	2283.79
Leucine	2972.99	3862.32	4435.46	3612.01
Phenylalanine	2026.19	2388.05	2561.25	2458.76
Trptophan	1710.24	2255.71	2367.96	2128.11
Lysine	1733.83	2017.99	2190.96	2005.62
계	30,323.31	40,947.40	45,005.53	37,560.55

Table 18. Free sugar contents of *Doenjang* made from Traditional *Meju*

숙성기간 실험군		(Unit : mg%)			
		1개월	2개월	3개월	4개월
SW-37	fructose	450.24	297.65	149.69	950.90
	glucose	107.29	272.71	155.41	196.17
	sucrose	111.38	159.90	110.85	92.82
	maltose	566.68	597.31	723..51	892.00
	계	1,235.59	1,327.57	1,138.95	2,131.89
SW-37 + DJSW-31	fructose	503.61	892.56	440.29	-
	glucose	795.30	682.99	619.07	339.03
	sucrose	341.06	274.21	284.71	447.82
	maltose	461.60	783.29	1091.79	809.31
	계	2,101.57	2,633.05	2,435.86	1,596.16
SW-37 + DJKO-35	fructose	416.23	952.76	738.45	678.73
	glucose	723.15	662.07	525.49	673.83
	sucrose	209.45	140.91	147.68	215.56
	maltose	574.38	840.47	1078.21	999.65
	계	1,923.21	2,596.21	2,489.83	2,567.77
KOSM-11 +DJKO-35	fructose	626.36	404.54	-	-
	glucose	687.32	295.55	267.74	437.62
	sucrose	100.87	195.88	274.17	138.11
	maltose	333.46	714.91	563.49	921.40
	계	1,748.01	1,610.88	1,105.4	1,497.13

Table 19. Mineral contents of *Doenjang* made from Traditional *Meju*

(Unit : mg/kg)

시료 무기물	SW 37	SW 37+DJSW 31	SW 37+DJKO 35	KOSM 11+ DJKO 35
Na	40,272.64	41,465.54	35,359.35	34,135.60
Ca	729.50	687.85	627.93	538.92
Fe	35.39	26.80	33.09	33.80
K	8,612.94	9,072.20	8,273.88	7,445.51
P	3,960.86	4,796.03	4,009.60	3,798.52

(다) 알콩메주 형태로 제조된 된장의 성분변화

시료는 현장에서 제조한 후 실험실 항온기에서 30℃로 발효 숙성하였다. 알콩메주형으로 제조한 된장시료의 수분함량을 Fig. 18에 나타내었다. 초기 55%의 수분함량이 숙성되면서 47-51.62%로 감소하였다. 위 부분은 수분증발로 굳어지는 현상으로 수분감소가 많이 일어났고 실외 항아리에서 발효 시에는 수분증발로 인한 수분감소 현상이 더욱 심하게 발생한다.

아미노태질소함량 변화는 Fig. 19에 나타내었다. 세균 단독으로 접종한 SW-37 시료군이 초기부터 753.8mg%로 높았고 숙성 중의 함량변화는 적었다. 나머지 시료는 초기 1개월 발효 중에 384.8-494.9mg%의 함량을 나타내었고 4개월 발효 숙성까지의 함량 증가 속도는 완만하였다.

조단백질함량 변화는 Fig. 20에 나타내었다. 초기 8.5-9.46%에서 발효가 진행되면서 14.6-16.3%로 증가하였다. 조단백질은 발효숙성 중에도 거의 변화가 없는 성분으로 일부 시료 채취 및 수분증발로 인한 약간의 증가는 있으나 본 실험에서는 2개월 이후 조단백질 함량이 크게 높아지는 현상이 발생하여 시료 채취로 인한 오차와 수분증발로 인한 증가로 사료된다.

된장의 색도변화를 L(명도), a(적색도), b(황색도)값으로 Table 21에 나타내었다. 세균단독으로 접종한 SW-37군의 L값이 63으로 가장 검은색계통을 나타내었고 나머지 시료는 44.6-52.12로 나타났다. 초기 1개월 발효 중에 색상변화가 많이 진행되었고 이후 변화는 정체수준 이었다. 접종군주별 알콩메주 배합비를 달리한 된장의 품질특성(18))과 비교하여 갈변이 심한 것으로 나타났고, a값은 4.3-4.8수준으로 붉은색 정도가 다소 낮았고, b값은 12-16수준으로 황색정도는 비슷한 수준을 나타내었다. 전체적인 색상면에서는 KOSM-11+DJKO-35 시료군이 가장 색상이 좋은 된장시료로 나타났다.

무기물 함량은 Table 22에 나타내었다. 소금첨가로 인한 Na 함량이 가장 높게 나왔고 K, P, Ca, Fe 순으로 무기물을 함유하였고 사각메주형 된장과 비교하여 함량의 차이는 있지만 유사한 경향을 보였다.

아미노산함량은 최종 숙성된 시료를 사용하여 Table 23에 나타내었다. Glutamic acid 함량을 비교하였을 때 사각메주형 실험군과 비교하여 발효가 상당히 적게 된 것을 알 수 있었다.

사각메주형 된장의 glutamic acid는 5,389~7,837mg/kg이고 알콩메주형 된장은 4개월 발효·숙성이 진행됐음에도 108-1,682mg/kg으로 낮은 함량을 나타내었다. 여러가지 원인이 있을 수 있으나 우선 알콩메주 자체를 충분히 발효시킨 후 혼합하여야 하나 균주 접종 후 바로 혼합하여 발효조건이 갖추어지지 않은 것 같다. 그리고 알콩메주를 발효 후 건조하여 사용하는 방법과 발효 후 부분 파쇄하여 미생물 작용을 용이하게 할 필요가 있을 것이다. 알콩메주형이 균주접종 후 혼합공정을 거쳐 발효숙성이 원만히 이뤄지고 맛과 품질에 좋은 결과를 나타낸다면 단기간에 된장을 제조할 수 있어 제조공

정의 단축화를 고려해 볼 수 있었으나 좀 더 연구가 필요할 것으로 사료된다.

pH변화는 Fig. 21에 나타내었다. 발효가 진행될수록 pH가 낮아지는 경향은 사각메주형 된장과 유사한 결과를 나타내었고 Fig. 22에 나타낸 산도는 사각메주형 된장과 마찬가지로 발효가 진행될수록 높아지는 결과를 나타내었다.

유리당 함량은 Table 24에 나타내었다. SW-37시료가 1개월째부터 가장 높은 함량을 나타내었고, 혼합균주를 사용한 SW-37 + DJSW-31와 SW-37 + DJKO-35 시료는 사각메주형 시료군과 비교하여 다소 낮은 함량을 나타내었다. 메주균을 달리한 숙성된장의 유리당조성 비교연구(20)에서는 곰팡이 접종균이 2.63%로 가장 높은 함량을 나타내었고 세균접종균은 0.87로 가장 낮은 함량을 나타낸 것과 비교하여 상이한 결과를 나타내었다.

Table 20. *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*

숙성실 내부	항아리 뚜껑관리	SW-37	SW-37+DJSW-31
			
SW-37+DJKO-35	KOSM11+DJKO35		
			

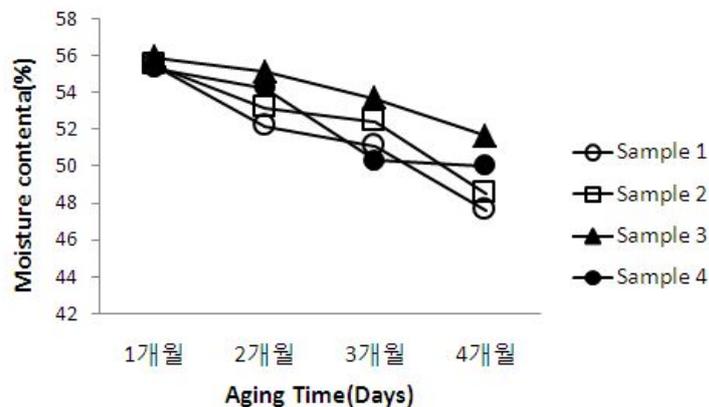


Fig. 18. Change in Moisture contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*.

Sample 1. Sample made with whole soybean *Meju* inoculated with SW-37

Sample 2. Sample made with whole soybean *Meju* inoculated with SW-37+DJSW-31

Sample 3. Sample made with whole soybean *Meju* inoculated with SW-37+DJKO-35

Sample 4. Sample made with whole soybean *Meju* inoculated with

KOSM11+DJKO35

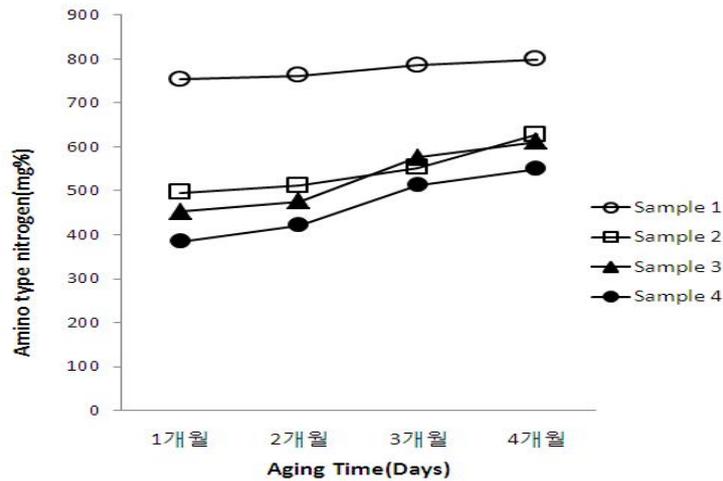


Fig. 19. Change in Amin type nitrogen contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*(See footnotes on Fig. 18.)

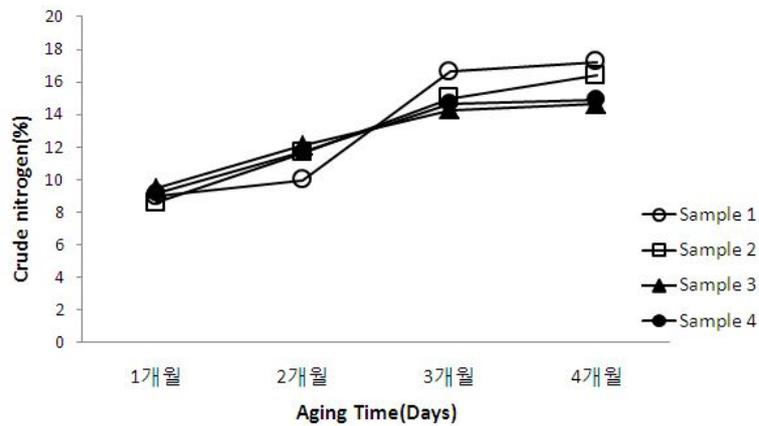


Fig. 20. Change in Crude Protein contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*(See footnotes on Fig. 18.)

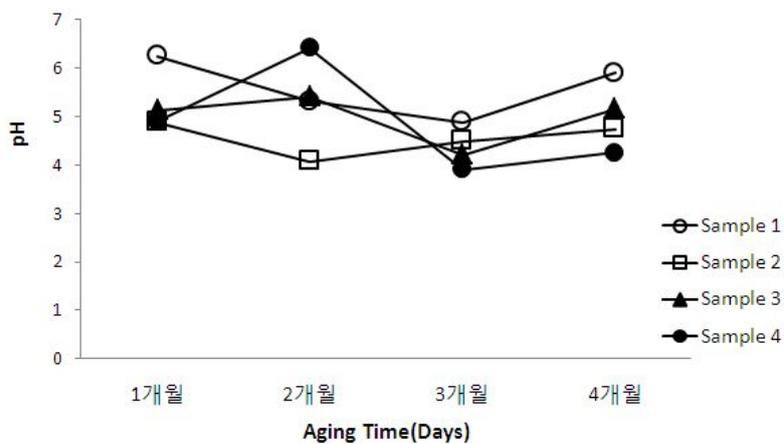


Fig. 21. Change in pH of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*
- See footnotes on Fig. 18.

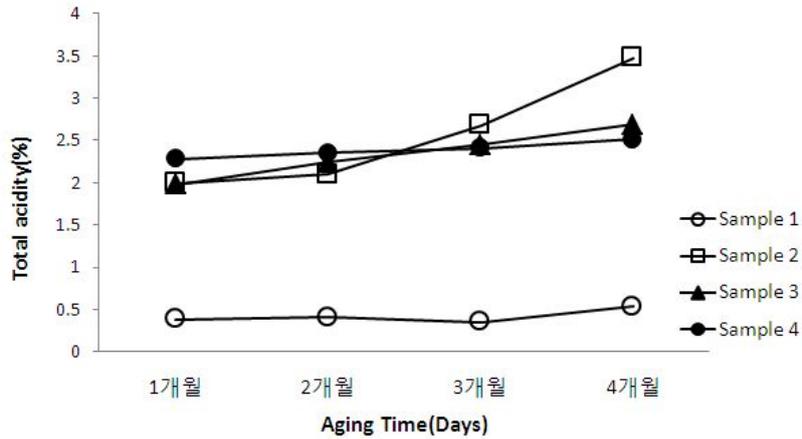


Fig. 22. Change in Total Acidity of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*
 - See footnotes on Fig. 18.

Table 21. Change in Hunter's color of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*

숙성기간 실험군	1개월			2개월			3개월			4개월		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
SW-37	64.43	4.84	19.09	64.98	4.46	18.6	63.78	4.36	17.6	63.58	4.32	16.1
SW-37 + DJSW-31	54.63	5.77	17.27	54.22	5.98	16.49	53.13	4.69	15.29	52.12	4.39	14.26
SW-37+ DJKO-35	53.25	6.16	16.68	53.96	6.33	16.05	52.69	5.98	15.96	51.26	4.89	14.23
KOSM-11+ DJKO-35	48.65	6.06	14.47	48.13	5.96	14.13	47.98	4.86	13.87	46.59	4.76	12.95

※ Value are mean(n=3)

Table 22. Mineral contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*

(Unit : mg/kg)

시료 무기물	SW-37	SW-37+DJSW-31	SW-37+DJKO-35	KOSM-11+DJKO-35
Na	30,779.06	33,171.84	24,803.31	41,795.49
Ca	225.64	325.38	293.61	356.85
Fe	18.05	16.78	17.08	18.985
K	5,928.16	6,549.50	5,873.11	6,831.26
P	2,697.63	3,212.02	2,545.55	3,033.22

- See footnotes on Fig. 17.

Table 23. Free Amino acid contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*

	(mg/kg)			
	SW-37	SW-37+ DJSW-31	SW-37+ DJKO-35	KOSM-11+ DJKO-35
Aspartate acid	721.75	476.50	38.70	55.86
Glutamic acid	1672.60	1562.88	568.54	108.65
Asparagine	226.24	239.25	201.89	104.23
Serine	432.89	441.70	542.67	60.55
Glutamine	110.34	152.89	229.70	81.87
Glycine	251.99	234.22	315.48	33.94
Histidine	294.49	297.88	302.85	78.33
Arginate	531.41	812.31	1007.22	953.47
Threonine	491.12	490.46	580.78	89.51
Alanine	757.98	699.28	2599.26	200.16
Proline	481.79	452.18	601.66	66.17
Tyrosine	654.00	510.13	561.05	72.98
Valine	832.41	666.62	834.57	97.17
Methionine	206.15	154.61	205.07	28.96
Cystine ²	0.00	0.00	0.00	0.00
Isoleucine	563.22	383.91	476.15	55.86
Leucine	1201.42	812.89	951.57	91.02
Phenylalanine	855.16	552.40	476.98	71.95
Trptophan	343.95	218.42	97.20	17.18
Lysine	903.65	874.59	1013.09	94.78
계	11,532.54	10,033.12	11,604.42	2,362.66

Table 24. Change in Free sugar contents of *Doenjang* made from Whole Soybean *Meju*

숙성기간 실험군		(Unit : mg%)			
		1개월	2개월	3개월	4개월
SW-37	fructose	1703.03	1343.78	1485.17	1043.42
	glucose	481.55	591.79	975.11	788.00
	sucrose	-	-	-	-
	maltose	263.95	322.85	134.33	283.45
	계	2,448.53	2,258.42	2,594.61	2,114.87
SW-37 + DJSW-31	fructose	668.26	579.65	372.04	439.00
	glucose	567.69	296.72	388.47	220.24
	sucrose	-	-	-	-
	maltose	682.24	591.35	854.04	1090.93
	계	1,918.19	1,467.72	1,614.55	1,750.17
SW-37 + DJKO-35	fructose	821.02	795.35	673.42	348.36
	glucose	629.17	480.88	387.83	354.28
	sucrose	-	-	-	-
	maltose	175.36	253.26	253.97	905.00
	계	1,625.55	1,529.49	1,315.22	1,607.64
KOSM-11 + DJKO-35	fructose	816.00	905.16	739.98	892.39
	glucose	319.15	404.52	505.46	396.48
	sucrose	-	-	-	-
	maltose	264.72	522.99	356.45	966.34
	계	1,399.87	1,832.67	1,601.89	2,255.21

다. 종균의 공급기술개발

(1) 세균

(가) SW-37, KOSM-11의 최적생육조건

선발된 균주의 생육적정온도를 측정하기 위하여 TSB(Tryptic Soy Broth)배지를 이용하여 각 온도별로 130rpm, 18hr 배양하면서 배양액의 탁도(660nm, O.D값)을 측정한 결과 Fig. 23과 같다. SW-37, KOSM-11균 모두 30℃가 최적생육온도로 나타났다. 메주에서 많이 발견되는 *Bacillus licheniformis*균의 최적 생육온도가 30℃인 것과 같은 온

도대인 것을 알 수 있었다.

pH가 두 균주에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 24에서 보여주는 바와 같이 SW37 균의 생육최적 pH는 5.0 - 5.5, 7.0 - 7.5범위로 다양한 범위에서 생육이 가능한 것으로 나타났다. KOSM-11균은 pH 6.0-6.5 범위가 가장 좋은 생육을 나타내었고 pH 7.5에서는 급격히 생육이 저하되는 것으로 나타났다.

메주를 이용하여 된장을 제조할 경우 반드시 식염을 첨가하게 되는데 두 균주가 식염에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 25에서 보는바와 같이 SW-37균의 최적염도는 0.5-1%였고 염이 없는 조건에서도 잘 생육하는 것으로 나타났다. KOSM-11균은 control 균이 가장 생육이 잘된 것으로 나타났고 0.5-5%까지는 생육활성이 다소 떨어지나 활성은 유지되고 7%대 이상에서는 활성이 50%이상 감소되는 것으로 나타났다.

Fig. 26은 glucose가 두 균주의 생육에 미치는 영향을 나타낸 것으로 SW-37균은 0.5% 첨가 시 최적의 생육활성을 보이고, 1-3% 첨가에서도 생육이 원활한 것으로 나타났다. KOSM-11균은 control보다 다소 낮은 값을 나타내었지만 glucose에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났고 10%첨가에서는 생육이 약간 저해되는 것으로 나타났다.

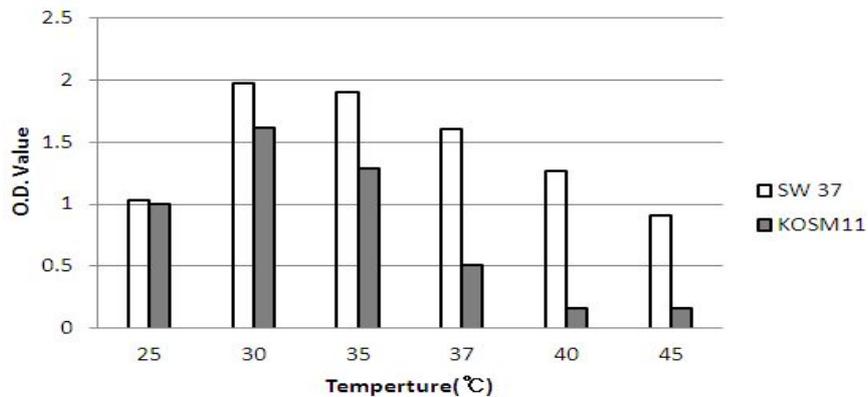


Fig. 23. Effect of Temperature on the growth of strains
- O.D. : Optical density at 660nm

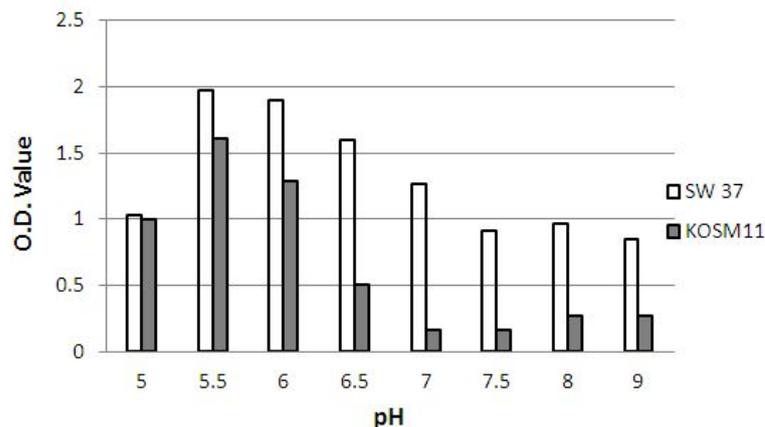


Fig. 24. Effect of pH on the growth of strains (O.D. : Optical density at 660nm)

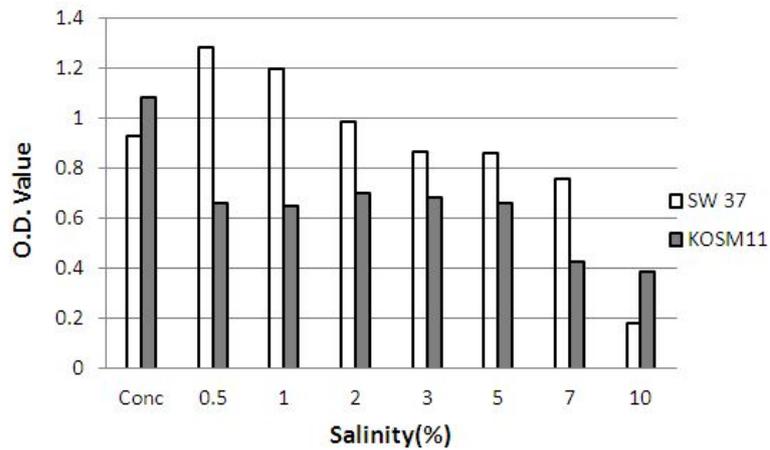


Fig. 25. Effect of Salinity on the growth of strains (O.D. : Optical density at 660nm)

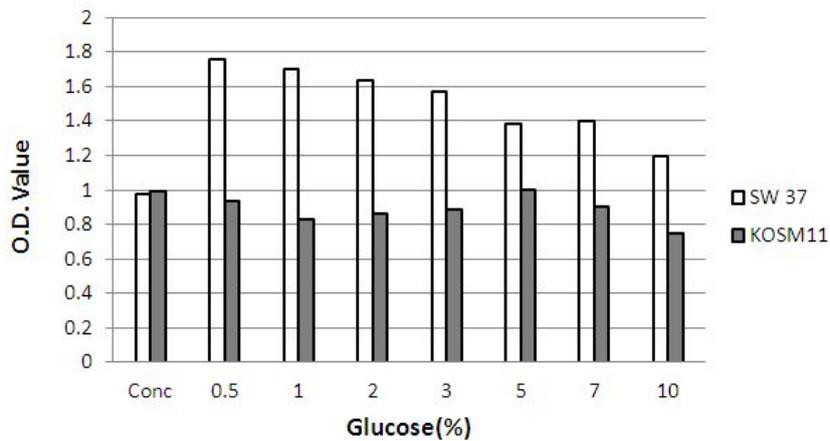


Fig. 26. Effect of Glucose contents on the growth of strains (O.D. : Optical density at 660nm)

(나) SW-37, KOSM-11균의 생육곡선

선발된 균주의 생육곡선을 측정하기 위하여 TSB배지를 이용하여 130rpm, 27hr 배양하며 Fig. 27과 같은 생육곡선 결과를 얻었다. SW-37균과 KOSM-11균 모두 18시간이 후 사멸기로 들어가는 것을 알 수 있었고, KOSM-11균은 27시간에 다시 생육활성이 나타나는 것으로 보아 세포벽 파괴에 의한 사멸이나 아포형성으로 세포내 물질을 영양성분으로 이용하여 다시 생육한 후 사멸되는 것으로 사료된다.

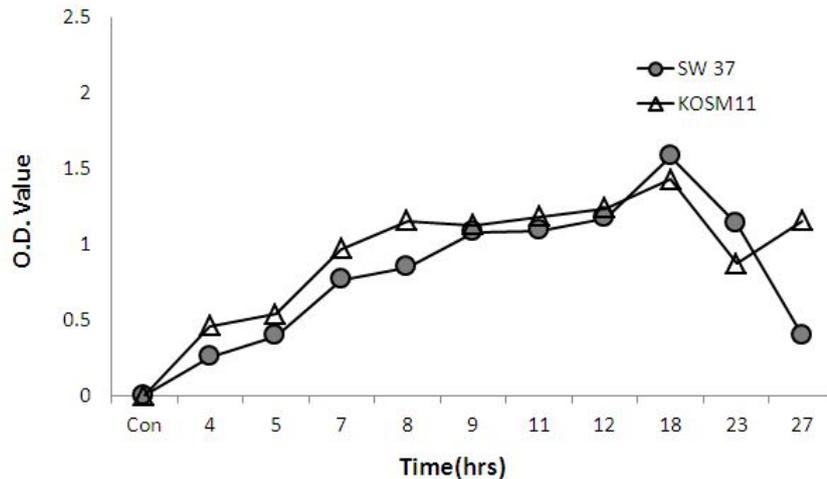


Fig. 27. Growth curves of SW37 and KOSM11 on the TSB medium

(다) 배지함량을 달리한 조건별 균주활성 결과

① SW-37

우수균주로 선발된 된장제조용 균주를 현장에서 사용하기 쉽도록 대두와 효모분말을 이용하여 배양한 후 균수를 측정하였다. 대두 자체의 다양한 영양성분을 고려하여 대두추출물 원액, 10%, 20%, 30% 대두추출물 용액을 제조한 균과 효모분말 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 1% 용액으로 제조한 균에 접종하여 생육활성을 측정하였다.

SW-37용 배지원료 시료균에는 0.5% NaCl과 0.5% sugar를 첨가하였고, KOSM-11 시료균은 0.5% sugar만을 첨가하여 배지조성을 하였다.

대두추출물원액은 침지, 탈수, 증숙한 대두 400g을 증류수로 2.5배 희석하여 분쇄한 후 각각의 효소(Celluclast No. CCNO 3119, Fungamyl No. AFNO 0796, Neutrase No. PWN 10085, Enzymtech)를 0.1% 첨가한 후 50°C, 3hr 처리하고 멸균 한 것을 원액으로 사용하였다. 균주는 TSB배지에서 배양한 균주(10^9 cells/mL)를 각 배지에 0.1% 접종, 배양한 후 균수를 측정하였다.

SW-37의 대두 원료함량에 따른 생육활성을 Fig. 28에 나타내었다. 대두 추출물 원액을 사용한 배지가 가장 좋은 활성을 보였고 대두추출물 30%이하의 함량에서는 9-10 log cfu/mL 수준의 활성을 나타내었다. SW-37의 효모분 원료함량에 따른 생육활성을 Fig. 29에 나타내었다. 효모분말을 사용한 배지는 0.1%에서부터 0.5%첨가한 시료까지 10 log cfu/mL 정도의 활성을 나타내었고 1%에서는 감소하였다. 현장에서 계속적으로 용이하하게 저렴한 비용으로 공급한다면 간편하고 비용이 적게 드는 효모분말(식품첨가물용)을 0.1-0.3%첨가하여 제조하고 액상으로 공급하는 방법이 좋을 것이다.

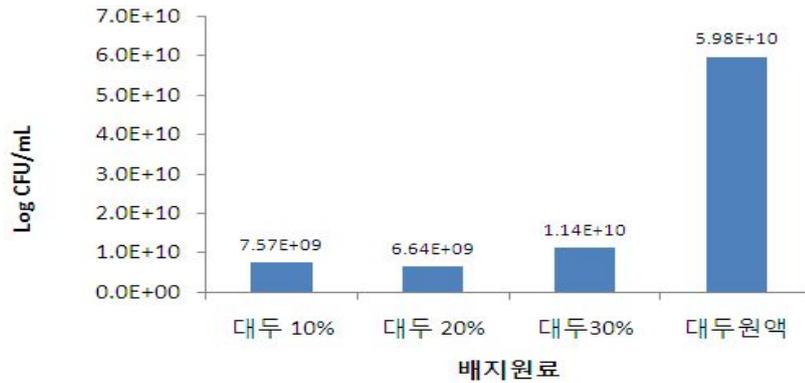


Fig. 28. Activity of growth soybean extract on SW37

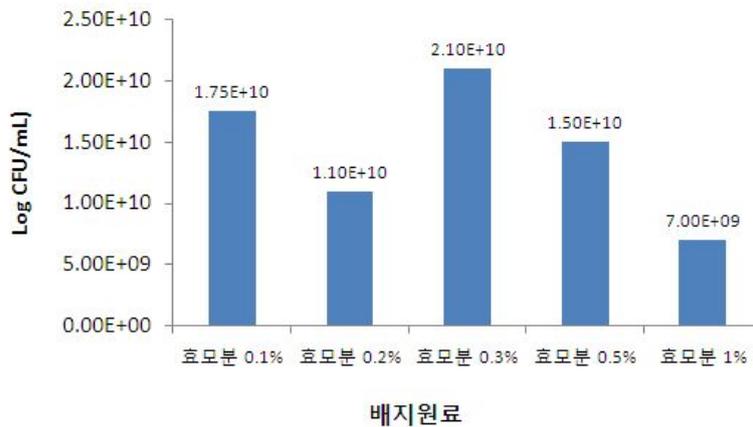


Fig. 29. Activity of growth yeast powder extract on SW-37

② KOSM-11

우수균주로 선발된 된장제조용 균주를 현장에서 사용하기 쉽도록 대두와 효모분말을 이용하여 SW-37균과 같은 방법으로 실험하였다.

KOSM-11균의 대두 원료함량에 따른 생육활성을 Fig. 30에 나타내었다. 대두는 분쇄하고 효소처리하여 영양성분을 충분히 이용하도록 하였고 효모분말은 식품첨가물로 사용되는 원료를 구입하여 사용하였다. 각각의 배지에 균주는 0.1%씩 첨가하여 배양하였다.

대두추출물원액과 대두추출물 함량이 많을수록 균주활성이 활발한 것으로 나타났으나 SW-37균과 비교하여 대두원료에서의 활성도는 1 log cfu/mL 낮은 8-9 log cfu/mL로 나타났다. KOSM-11균의 효모분 원료함량에 따른 생육활성을 Fig. 31에 나타내었다. 효모분말은 0.1-0.3% 첨가 배지에서는 증가하다가 0.5%첨가에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 효모분 0.3% 첨가시료를 이용하여 배지를 제조하여 액상으로 공급하는 것이 좋을 것이다.

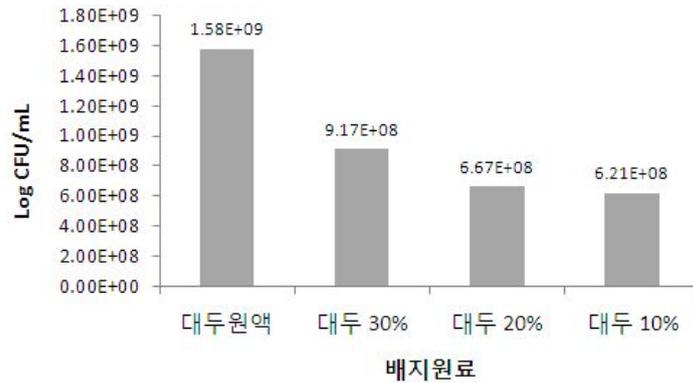


Fig. 30. Activity of growth soybean extract on KOSM-11

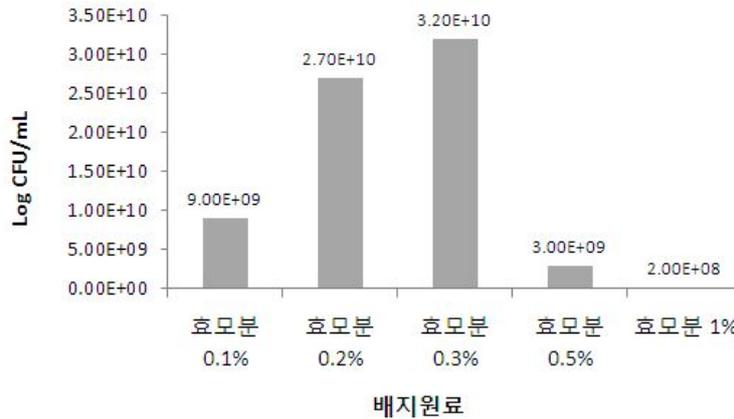


Fig. 31. Activity of growth yeast powder extract on KOSM-11

(라) 동결건조 후의 균수변화

SW-37과 KOSM-11의 대두추출 배양액의 동결건조 후 균수를 Table 25에 나타내었다. 건조 전 배양액의 균수보다는 SW-37의 경우 대두추출원액을 제외하고는 3-7배 정도 많이 검출되었다. 그러나 건조중량 대비하여서는 회수율이 부족하였다. KOSM-11의 경우 대두추출 원액 시료군과 비슷하고 대두추출 10-20%첨가 시료군은 2배 정도 많이 검출되었다.

SW-37과 KOSM-11의 효모분말 배양액의 동결건조 후 균수를 Table 26에 나타내었다. SW-37은 액체배양한 것보다 건조 후 약 3배 정도 많이 검출되었고 KOSM-11은 효모분 0.2-0.3%첨가군은 동결건조함으로서 균수가 감소되었다.

따라서 SW-37균은 액체배양하여 공급하거나 동결건조하여 공급하는 방법 모두 양호하나 KOSM-11균은 액체배양하여 공급하는 것이 좋은 것으로 나타났다.

Table 25. 대두추출물 배양액의 동결건조 후의 균수

배지원료 균주	대두추출물원액	대두 10%	대두 20%	대두 30%
SW 37	6.5 * 10 logCFU/g	4.2 * 10 logCFU/g	5.01 * 10logCFU/g	3.93 * 10log CFU/g
KOSM-11	1.21* 9logCFU/g	1.12 * 9logCFU/g	1.15 * 9 logCFU/g	1.29 * 9 logCFU/g

Table 26. 효모분말 배지 배양액의 동결건조 후 균수

배지원료 균주	효모분말 0.1%	효모분말 0.2%	효모분말 0.3%	효모분말 0.5%	효모분말 1%
SW-37	5.6 * 10logCFU/g	9.36 * 9 logCFU/g	6.54 * 10logCFU/g	6.55 * 10logCFU/g	1.28 * 10logCFU/g
KOSM-11	9.1 * 9 log CFU/g	1.01 * 10logCFU/g	2.43 * 9 logCFU/g	3.23 * 8 logCFU/g	2.1 * 8 logCFU/g

(2) 곰팡이

(가) 배지원료에 따른 균주활성 결과

우수균주로 선발된 된장제조용 곰팡이를 현장에서 사용하기 쉽도록 쌀, 현미, 콩, 보리를 배지원료로 하여 배양한 후 균수를 측정하였다.

콩은 12시간 침지, 탈수한 후 사각SUS 용기(300×180×60mm)에 젖은 면보를 깐 후 500g의 불린 콩을 올려놓은 후 젖은 면보로 윗면을 덮어준 후 121℃, 30분 증숙, 살균하였다. 쌀, 현미, 보리는 2시간 침지하고 탈수를 충분히 하여 멍치는 현상을 최소화하였고, 이후 공정은 콩과 같은 방법으로 증숙 살균하여 사용하였다.

곰팡이는 PDA배지에서 1차 배양한 후 포자 현탁액(10^9 cells/mL)을 1%씩 각각 2차 접종하여 30℃, 2-3일 발효 후 건조하여 균수를 측정하였다. 곡물배지별 균주배양결과를 Fig. 32에 나타내었다. DJSW-31은 쌀 원료, DJKO 35는 보리원료에서 9 log cfu/mL로 가장 생육활성이 좋은 것으로 나타났다. Table 27, 28은 두 균주가 곡물원료에서 자란 모양을 나타낸 것이다.

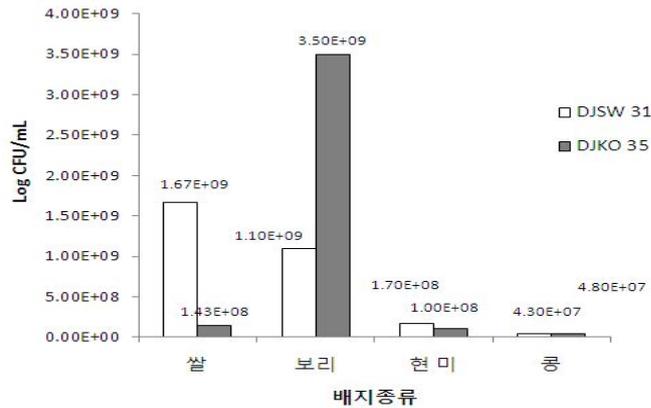


Fig. 32. 곡물배지별 균주활성 결과

(나) 배지별 건조조건에 따른 균주활성 결과

우수균주를 공장현장에서 처리하기 쉬운 조건으로 공급하기 위하여 쌀, 보리, 현미, 대두를 배지원료로 하여 각 균주를 접종하고 발효하였다. 각 곡물배지는 침지, 탈수 후 균이 번식하기 좋은 조건으로 증숙, 살균, 냉각한 후 접종하였다.

동결건조는 배양한 시료를 -40℃에서 급속동결한 후 동결건조기(Vertis, U.S.A)를 이용하여 건조하였고 열풍건조는 40℃에서 건조시켜 사용하였다.

DJKO-35 균주의 배지원료 건조조건별 활성결과를 Fig. 33에 나타내었다. DJKO-35 균의 배지 및 건조조건별 실험에서 보리배지, 쌀배지가 배지원료로 좋은 것으로 나타났다. 동결건조보다는 열풍건조 조건에서 균수가 더 증가한 것으로 보아 후발효가 진행되어 균수가 증가한 것으로 사료된다. 차후 생산비용이 많이 소요되는 동결건조보다는 열풍건조를 이용하여 제조하는 것이 좋은 것으로 나타났다.

DJSW-31 균주의 배지별 활성결과를 Fig. 34에 나타내었다. DJSW-31균의 배지원료별 결과는 쌀, 보리, 현미원료가 9 log CFU/g 의 균수활성을 나타내었고 대두원료는 표면의 껍질과 두께로 인하여 낮은 활성을 나타낸 것으로 보인다.

건조조건별 균수변화는 열풍건조 조건(8log CFU/g)보다 동결건조 조건(9log CFU/g)에서 균수 보존성이 좋은 것으로 나타났다. 그러나 열풍건조 조건에서도 활성이 양호하여 작업성과 경제적 타당성을 고려하여 열풍건조하여 분말상태로 공급하는 것도 양호할 것으로 사료된다.

우수균주의 단백질과 전분분해력을 재확인하기 하기 위하여 계대 배양한 균주를 배양하여 Fig. 35에 효소력 실험을 하여 초기분리된 것과 같은 분해능력을 가진 것을 확인하였다.

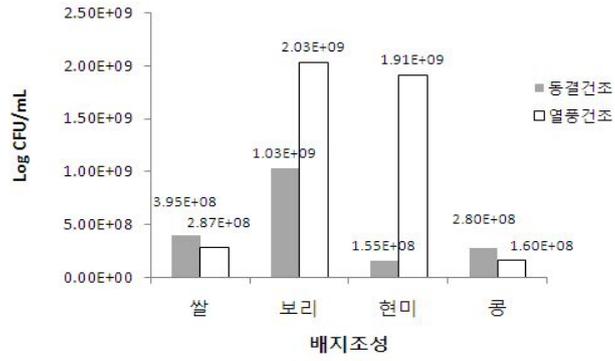


Fig. 33. DJKO-35 균주의 배지별 활성결과

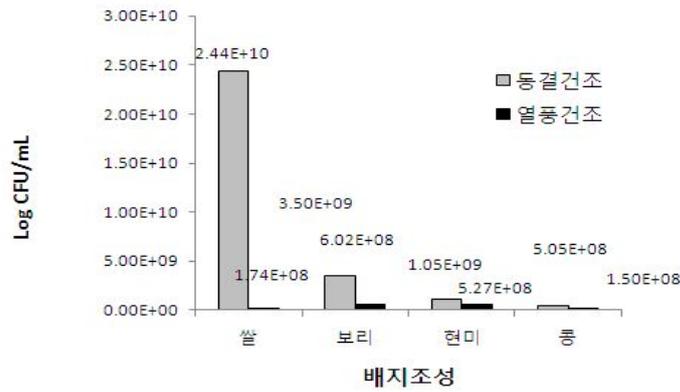


Fig. 34. DJSW-31 균주의 배지별 활성결과

Table 27. 곡물배지 원료에 자란 DJKO-35

쌀	보리	현미	대두
			
DJKO35 쌀	DJKO35 보리	DJKO35 현미	DJKO35 대두

Table 28. 곡물배지 원료에 자란 DJSW-31

쌀	보리	현미	대두
			
DJSW31 쌀	DJSW31 보리	DJSW31 현미	DJSW31 대두

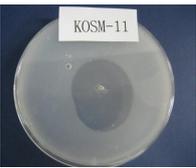
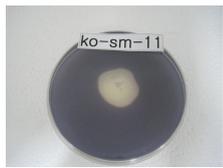
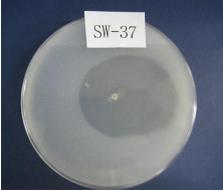
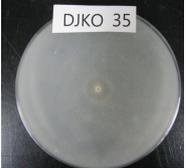
	Protease 분해력	Amylase 분해력
KOSM-11		
SW-37		
DJSW-31		
DJKO-35		

Fig. 35. 선발균주의 단백질과 전분을 분해한 Clear Zone 모양

(3) 종균 대량배양 방법

(가) SW-37, KOSM-11 균주 배양방법

공 정	세부내용	비고
선발균주	<ul style="list-style-type: none"> ○ SW-37 : <i>Bacillus subtilis</i> ○ KOSM-11 : <i>Bacillus methylotrophicus</i> 	균주 동정은 세부 과제결과임
균주배양	<ul style="list-style-type: none"> ○ 1차로 TSB배지 또는 개발된 대두추출액 배지를 이용하여 배양한다. 	
대량배양	<ul style="list-style-type: none"> ○ 배양된 균주를 멸균시킨 대두추출물배지, 효모분리 배지에 0.5 - 1% 접종한다. ○ 발효조건 : 30℃, 18hrs 배양 ○ 공급용 멸균병에 직접 배양하여 공급 	
포 장	<ol style="list-style-type: none"> 1. 배양한 멸균병을 그대로 포장하는 방법 <ul style="list-style-type: none"> - 0.5 - 1kg단위로 병 포장 2. 배양한 액을 동결건조하여 공급하는 방법 <ul style="list-style-type: none"> - 동결건조하여 분말상태로 공급하는 방법 	

Table 29. 대두추출원액과 효모분을 이용하여 배양한 종균

SW-37 (대두추출원액)	SW-37 (효모분 0.3%)	KOSM-11 (대두추출원액)	KOSM-11 (효모분 0.3%)
			
			

(나) DJSW-31, DJKO-35균주 배양방법

공 정	세 부 내 용	비 고
선발균주	DJSW-31 : <i>Eurotium cristatum</i> DJKO-35 : <i>Aspergillus oryzae</i>	균주 동정은 세부과제 결과임
균주배양	PDA배지 이용하여 배양	
1차배양	PDA배지에서 배양한 균을 면봉으로 끌어 모아 현탁액 제조 - 현탁액 10^9 cells/mL	O.D. value(660nm) : 1.0 이상
대량배양	보리원료를 침지, 증숙, 멸균 한 후 현탁액을 1% 접종한다.	- DJSW-31
발 효	접종 된 원료를 30°C, 48hrs 발효	
건 조	발효된 보리원료를 45°C에서 건조	-DJKO-35
분 쇠	건조된 원료를 편밀로 분쇄한다. - 90-120mesh 크기로 분쇄	
포 장	건조하고 습기가 없는 장소에서 포장 - 0.5-1kg단위로 포장	

라. 전통식 장류 제조공장 현황 조사

(1) 일반현황

회원조합		연간생산능력 (M/T)	투자규모(백만원)				설립년도
			보 조	용 자	자부담	계	
S 공장	간장	40,000	200		804		1995, 11.16.
	된장	100,000					
	고추장	15,000					
	혼합장	20,000					
J 공장	된장	96,500	518	516	696,189		1993, 4. 9.
	간장	27,200					
	메주	18,276					

(2) 시설규모

회원조합	공장부지면 적(평)	건물면적(평)					건물면적 계
		제조 작업장	일반 창고	저온 저장고	사무실	기타	
S 공장	3,836	300	120		50	70	500
J 공장	1,836	233	20		13		336

(3) 공장 가동현황

회원조합	가동일수		하루가동 시간(h/day)	성수기 (월)	비수기 (월)	휴업시기
	일/년	%				
S가공공장	200	55	8	1-3	4-5	
J가공공장	250	68.5	8	1-7	8-10	

(4) 제품종류

가공공장	생 산 제 품	비 고
S 가공공장	된장, 간장, 고추장, 혼합장	- 짚이용하여 메주제조
J 가공공장	된장, 간장, 메주, 고추장	- 짚과 곰팡이이용 메주제조

(5) 원료조달

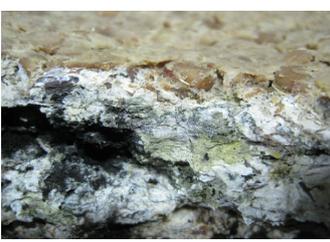
공장명	원 료 구 입 처					
	농민과계약	도매시장 (가락동)	기 타 도매시장	자가생산	조합원으로 부터	생산자 직접구입
S가공공장	○				○	
J가공공장	○				○	

(6) 된장 제조공정 현황 조사

(가) 전통된장 제조공정

구 분	제 조 공 정
메주 제조	<p data-bbox="418 369 1412 481">원료 콩선별 → 석발 → 침지 → 탈수 → 증숙 → 냉각 → 성형 → 건조 → 발효·숙성 → 메주 → 장담기 → 분리 → 된장, 간장</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="418 504 1340 672">○ 원료는 대두 100% 사용하고 증숙기를 이용하여 증숙하기도 하고 압력밥솥식으로 증숙하기도 한다. - 증숙기압과 온도, 시간은 1mgf/kg, 105-110℃, 30-50min <li data-bbox="418 683 1284 784">○ 증숙된 대두를 냉각하고 성형기를 이용하여 사각형으로 성형 - 성형 시 메주의 크기 150×240mm로 압력강도에 따라 성형 <li data-bbox="418 795 1005 840">○ 성형된 메주를 40-45℃ 걸말림 건조한다. <li data-bbox="418 851 1276 1019">○ 걸말림된 메주를 32-35℃로 발효·숙성한다.(온도조절 불가능) - 발효숙성기간은 보통 45 - 60일 소요 - 자연균(짚)을 이용하거나 곰팡이균 이용 <p data-bbox="418 1030 1141 1198">※ 짚과 자연 조건을 이용한 경우 - 계절별, 년도별 기온차이에 따라 품질차이 많음 - 전통된장은 발효숙성기간이 길므로 공정 중 다수 균 관여</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="418 1209 1340 1310">○ 발효, 숙성 시에도 온도조절이 불가능하고 메주 두께가 두꺼워 발효, 숙성이 오래 소요되고 교차오염이 많다. <p data-bbox="418 1321 1181 1366">☞ 공정별 수치화된 관리기준서를 작성하는 것이 필요</p>
된장 제조	<p data-bbox="418 1408 1276 1512">염수제조 및 장 담기 → 6-9개월 숙성 후 여액 분리 후 → 메주가루 첨가 → 2차숙성(6개월 이상) → 물성체크 → 포장</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="418 1534 1212 1635">○ 2차 숙성 시 온도조건을 조절 불가능한 실정임 - 숙성 시에도 공정별 구분이 없어 교차오염이 상존한다. <li data-bbox="418 1646 1324 1691">○ 전통된장은 자연조건에 의존하기 때문에 발효숙성 기간이 길다. <li data-bbox="418 1702 1412 1814">○ 발효용기가 작고 항아리, FRP용기를 사용하여 외부공기노출이 심하다 - 장기발효 숙성으로 표면 갈변이 심하다.

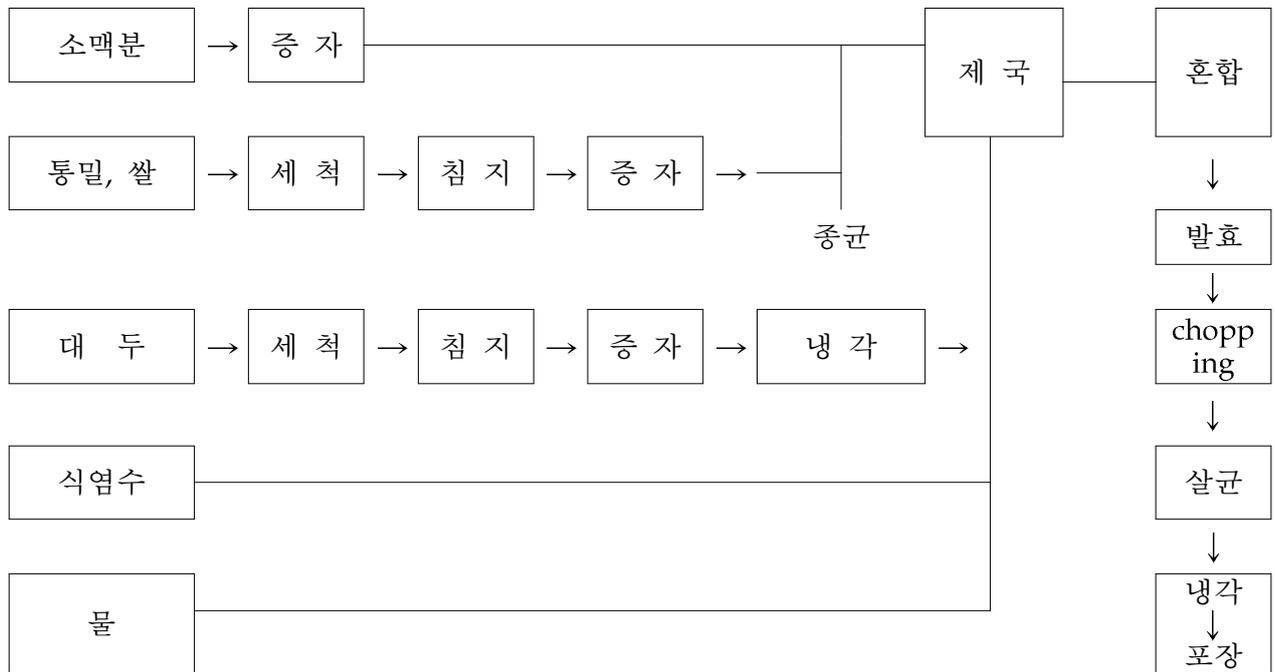
① 전통된장 제조과정

<p>대두원료 입고</p>	<p>대두 원료 이송 컨베이어장치</p>	<p>세척라인(이물제거)</p>
		
<p>침지 증숙 라인</p>	<p>증숙 후 이송 냉각라인</p>	<p>메주성형 후 압축라인</p>
		
<p>발효실 컨트롤 장치</p>	<p>1차 건조실</p>	<p>발효실(온도관리 필요)</p>
		
<p>메주발효(내부)</p>	<p>다용도 건조장치</p>	<p>메주 내부 발효상태</p>
		

(나) 개량식 제조공정

개량식방법은 주원료가 소맥분, 대두, 통밀 등을 주로 이용한다. 발효 중균과 중균배양을 위한 미생물실이 운영되고 있다. 제국실을 통하여 단일균을 대량배양하고 공정별 오염방지를 위하여 발효실에서 온도를 유지하면서 발효, 숙성시킨다는 것이 재래식 방법과 차이가 있고 이것은 품질관리에 있어서는 큰 차이라 할 수 있다.

- 대두와 소맥분을 정선, 세척하고 증숙한다. 대부분은 연속식으로 소맥분을 증자하여 미생물이 분비하는 효소가 잘 분해하도록 한다.
- 증자된 소맥분은 곰팡이균을 첨가한 후 2-3일간 온습도를 조정하여 발효시킨다.
- 발효된 소맥분은 단독 또는 증숙된 대두를 혼합하여 일정한 염도가 되도록 맞추어 숙성실에서 45일 이상 숙성·발효한다.
- 발효가 완료된 재공품을 원료에 따라 재분쇄 공정을 거친 후 나머지 부원료들을 혼합하여 살균, 냉각하고 포장 한다.
- 개량식방법은 전처리에서부터 제국라인까지 단일균 및 혼합발효를 통하여 단백질과 탄수화물을 분해하여 품질관리가 가능하다.



(7) 장류가공공장 제조공정 차이점 및 문제점 조사

공장명	공정상 차이점	문 제 점
S가공 공장	<ul style="list-style-type: none"> ○ 된장 숙성 시 향아리 이용 <ul style="list-style-type: none"> - 실외에 향아리 보관 숙성 - 계절별 온도차이가 심함 (25℃-40℃) ○ 발효실의 습도조절 미흡 <ul style="list-style-type: none"> - 숙성실이 없고 자연조건 의존 ○ 품질균일화를 위한 종균투입 필요 <ul style="list-style-type: none"> - 메주 발효가 균일해야 된장 제품도 균일화 가능 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 메주품질에 차이가 많다 ○ 메주 발효 후 너무 단단하다 ○ 온도, 습도 조절 부정확(시설) ○ 향아리용기 재공품 품질차이 발생 ○ 숙성기간이 길다. <ul style="list-style-type: none"> - 1년 이상, 2-3년차 제품 ○ 품질균일화를 위하여 종균투입필요 <ul style="list-style-type: none"> - 자연균에 의존하면 품질균일화가 어려움
J가공 공장	<ul style="list-style-type: none"> ○ 장류 숙성 시 장독 이용 ○ 장류 숙성 시 숙성실 유리온실 <ul style="list-style-type: none"> - 유리온실 온도조절 미비 (자연 의존적) ○ 발효실이 한 개로 습도조절불가능 <ul style="list-style-type: none"> - 온습도 조절 한계 ○ 품질균일화를 위한 종균투입 필요 <ul style="list-style-type: none"> - 메주 발효가 균일해야 된장 제품도 균일화 가능 ○ 공정별 구분관리 필요 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 된장의 맛과 품질 차이 발생 <ul style="list-style-type: none"> - 품질이 균일한 메주생산 필요 ○ 제조공정기준서 작성 필요 <ul style="list-style-type: none"> - 제조공정은 수치화 필요 ○ 청국장공정과 같이 발효되므로 교차오염 우려됨 <ul style="list-style-type: none"> - 온도, 습도관리 필요(자연의존) -미생물을 배양하므로 교차오염주의 - 청국장과 된장구분관리 필요 (공정별 구분관리) - 오염이 상존함

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1절 협동과제(농협식품안전연구원)

1. Prototype 된장의 화학적 품질평가 및 공정분석

가. 우수한 된장균주를 분리하기 위하여 전국에서 맛이 우수하다고 알려진 된장 10건을 수집하여 이화학적 품질분석을 하였다. 수집된 된장에는 전통식 된장과 개량식된장 등 소비자들에게 잘 알려진 된장을 품질평가하였다.

나. 수집된 된장의 수분, 조단백질, 조지방, 아미노산, 아미노태질소, 무기물, 색도 등 이화학적 분석을 통하여 품질특성을 명확히 규명함으로써 우수균주 분리에 기초자료를 제시 하였다.

다. 분리된 균주 110종의 protease분해력과 amylase분해력을 비교 측정하여 균주 선발 자료에 활용하였고 세부과제 결과와 비교 협의하여 1차 세균 5종과 곰팡이 2종을 선발 하였다.

라. 전통식 된장제조방법과 개량식된장 제조방법을 조사하여 메주제조 공정과 균주사용여부 등 품질이 불균일한 원인이 무엇인지 등 공정상 문제점과 공정간 차이점을 분석하여 산업화를 위한 기초자료로 활용하였다.

2. 대량생산을 위한 공정개발

가. 선발된 세균과 곰팡이 7종을 단독 및 혼합처리하여 17개 시료균을 만들어 실험실적으로 된장을 제조하여 품질분석과 세부과제 결과를 통하여 2차 균주선발을 4종 하였다.

세균단독, 곰팡이단독, 세균과 곰팡이를 시차를 두고 접종하는 방법 등 혼합처리에 따라 맛과 품질차이가 있어 대량생산 공정개선에 기초자료로 활용 가능 할 것이다.

나. 세부과제 결과와 세균, 곰팡이를 단독 및 혼합처리하여 최종적으로 세균 SW-37 (*Bacillus subtilius*), KOSM-11(*Bacillus methylotrophicus*) 2종과 곰팡이 DJSW-31 (*Eurotium cristatum*), DJKO-35(*Aspergillus oryzae*) 2종의 새로운 균주를 확보하여 품질이 균일하고 맛이 우수한 된장제품 생산에 기여 할 것이다.

다. 선발된 균주 4종을 산업화하기 쉬운 조건으로 단독 및 혼합처리하여 4개 시료균을 2차 만들어 현장에서 된장제조 실험을 하여 산업화의 가능성을 제시하였다. 4개의 균종을 혼합처리하여 다양한 제품균을 생산할 수 있어 빠르게 변하는 소비자들의 식문화에 신속하게 적용할 수 있는 신제품을 개발하는데 도움이 될 것이다.

3. 종균의 대량배양 및 공급기술개발

가. 선발된 세균의 생육특성을 조사하여 온도, pH, 염도 등 생육조건을 설정하여 대량 배양 할 수 있는 조건을 확보하였다.

나. 세균은 대두추출물 원액과 효모분을 사용하여 액체 배지원료 조성을 설정하였고 곰팡이는 곡물 원료인 쌀, 현미, 보리, 대두를 이용하여 배양실험을 하여 가장 활성이 좋은 보리와 쌀 원료의 미생물 배지 소재화 가능성을 제시하였다.

다. 지금까지 일본식 개량된장에 주로 사용하는 곰팡이 단일종에만 의존하던 된장 제조업체에서는 분리된 4개의 우수균주를 이용하여 다양한 맛의 전통된장 제조 가능성을 제시하였고 종균의 보급을 통한 대량생산이 가능하여 전통된장 생산업체에서는 구수한 맛의 품질이 균일한 제품생산을 연중 생산 가능할 것이다.

라. 세균은 액체배양을 통하여 공급가능하나 유통 중 불편함을 해결하기 위하여 동결 건조하여 보급하는 방법도 양호한 것으로 나타났다. 곰팡이는 종류에 따라 다르지만 곡물원료에 고체배양하여 열풍건조 후 보급하는 방법이 가장 쉽고 생산비용은 많이 들지만 유통이 간편한 동결건조 후 보급하는 방법도 가능할 것이다.

마. 많은 기업들의 된장 제품생산은 주로 곰팡이를 이용한 방식으로 탄수화물 원료소재를 많이 사용하는 경우에는 적합한 방식이나 단백질이 많은 대두 원료를 주로 사용하는 전통방식에서는 세균의 역할이 더 크다고 볼 수 있다. 따라서 선발된 세균과 곰팡이를 조합하여 생산한다면 좀 더 다양한 맛의 된장 제품개발이 가능하고 소비자들의 니즈를 충족 할 수 있을 것으로 생각된다.

앞으로도 우수균주개발을 위한 지속적인 연구가 필요하고 종균은행을 통한 균주보급 사업과 전통된장 다양화를 위한 기초자료로 많이 활용 될 것으로 생각된다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절 연구성과

1. 기술컨설팅

가. 참여기업 : 서원농협가공공장

내용 : 전통된장 제조용 세균과 곰팡이 이용 및 품질관리 방법

2. 특허 출원 계획

가. 우수균주(세균과 곰팡이)를 이용한 전통된장 제조방법

- 세균 SW-37(*Bacillus subtilius*), KOSM-11(*Bacillus methylotrophicus*) 2종과 곰팡이 DJSW-31(*Eurotium cristatum*), DJKO-35(*Aspergillus oryzae*) 2종을 이용한 된장제조방법 특허 출원예정

제 2절 성과 활용계획

1. 참여기업에 대해 우선적으로 기술이전을 실시 할 계획이며 다음으로 장류관련 업체에 기술이전을 실시할 계획임
2. 선발된 균주의 활용으로 다양한 전통된장 생산으로 매출증대에 기여
3. 전통된장 생산 표준화 및 제품다양화로 지역농업 활성화에 기여

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1절 일본

○ '12 Japan Foodex(동경식품박람회)한국관에는 대상, 오뚜기, 동원F&B, 샘표식품, 농심, 하이트진로, 삼양식품, 다미안 등 식품업체들과 김치·인삼·음료·수산물·신선농산물을 생산하는 업체 등 90여개사 참여하여 생산제품을 홍보 하였다. 식품박람회에서는 해외 60여 개국 2,500여 업체가 부스를 마련, 음료·주류·냉장식품·냉동식품 등 다양한 가공식품과 외식 및 단체급식용 식재료 등을 출시하였다.

○ 특히 여성 소비자들을 겨냥한 미용식품, 새로운 건강 정보 및 요리 정보 등 특별 기획한 세미나와 상품이 많았고 쌀과 소맥을 중국으로 발효하여 천연조미액으로 사용하는 제품도 있어 다양한 균주개발의 필요성이 있음

○ 장류용 제공품은 곡류를 발효하여 얻은 산물로 저염으로 제조한다면 천연발효산물로 이용 가능성이 있고 쌀과 밀은 미생물 발효 시 단맛과 감칠맛이 발현되므로 이용 가치가 크다고 볼 수 있고 본 연구로 선발된 균주들도 다양한 식품첨가물 소재로 활용 가능성이 있다고 볼수 있음

○ 일본에는 낫또가 지속적으로 인기가 있고 한국에서와 마찬가지로 분말제품 등 다양한 상품이 출시되고 있음(납두분말을 이용한 제품)

○ 우리나라에서는 일본식품 수출시장 확대를 위해 농식품업체를 참여시킨 가운데 일본에서 인기를 끌고 있는 홍초, 김치, 호떡, 떡볶이, 막걸리를 비롯하여 천일염, 라면, 생수 등을 전시하였고 중국은 농림수산물을 건조, 절단, 냉동 등 단순 가공한 식재료를 선보인 업체가 많았다.

○ 세계인들의 식품에 관한 주요관심은 우리나라와 마찬가지로 여성의 식생활과 건강, 다이어트, 건강하고 간편한 식사 원료 등이 관심사항 인것 같다

○ 전통발효식품의 하나인 일본 미소와 간장은 주원료를 쌀과 대두를 주로 이용하였고 단일균과 혼합균을 이용한 제품들이 대부분 이었다. 미소는 쌀을 제국 한 후 대두와 혼합하는 방식을 많이 선택하였고 지역별 전통미소를 많이 활성화 하였다.

○ 발효제품은 발효미생물에 의한 차이, 원료차이, 숙성용기, 공정별 차이에 따라 제품의 맛과 향이 달라지므로 제품차별화 포인트가 많고 일본은 지역별 장류의 차별화가 활발하다.

○ 대두를 이용한 미소된장과 낫또 제품은 건강식으로 매출액이 많고 쌀 발효물을 이용한 천연감미료제조 등 균주를 이용한 첨가물 제조는 기대되는 기술임

○ 세계인들의 식품에 관한 주요관심은 우리나라와 마찬가지로 여성의 식생활과 건강, 다이어트, 건강하고 간편한 식사 원료 등이 관심사항 인것 같다

○ 전통발효식품의 하나인 일본 미소와 간장은 주원료를 쌀과 대두를 주로 이용하였고 단일균과 혼합균을 이용한 제품들이 대부분 이었다. 미소는 쌀을 제국 한 후 대두와

혼합하는 방식을 많이 선택하였고 지역별 전통미소를 많이 활성화 하였다.

○ 발효제품은 발효미생물에 의한 차이, 원료차이, 숙성용기, 공정별 차이에 따라 제품의 맛과 향이 달라지므로 제품차별화 포인트가 많고 일본은 지역별 장류의 차별화가 활발하다.

○ 대두를 이용한 미소된장과 낫또 제품은 건강식으로 매출액이 많고 쌀 발효물을 이용한 천연감미료제조 등 균주를 이용한 첨가물 제조는 기대되는 기술임

○ 발효식품의 주요원료는 대두, 쌀을 주로 이용하여 발효시켰으며 다양한 발효조건에서 자가제조용으로도 생산하는 것으로 보이고 대두와 쌀은 증숙공정을 거쳐 미생물이 침입하기 쉬운 물성으로 제조 후 미생물을 접종하고 지역별 다양한 장류의 특성을 인정하고 있음

○ 장류는 우리나라와 유사한 발효공정을 가지고 있고 발효숙성공정을 가내수공업식 소규모 업체에서도 많이 하는 것으로 알려짐

○ 주요 균종으로는 *Asp. oryzae*을 주로 사용하고 청국균은 *Bacillus natto*를 사용하고 있고 공장에서는 품질관리를 위하여 자체 우수균을 분리하여 사용하기도 하고 시중에 판매 중인 제품을 구입하여 사용하기도 함

○ 일본은 된장판매 전문점이 있을 정도로 개인, 중소기업 제품들이 다양하게 많음

○ *Asp. oryzae*는 주로 단백질을 아미노산으로, 탄수화물을 당으로 분해하여 장 맛을 좌우하고 효모균은 당을 알콜로 분해하고 향 부여, 유산균은 당을 유산으로 분해하고 맛 베이스를 만든다고 함

○ 일본에서 주로 사용하는 쌀 된장에 사용하는 국균의 생육온도는 35℃가 적합하고 현장에서는 28-30℃로 낮추어 세균류의 발생 억제한다고 한다.

○ 일본에서 된장용의 중국균은 *Asp. oryzae* 주로 사용하고 우리나라에서도 개량식은 일본이라고 보아야 한다.

○ 제조사별로 장류의 특징은 종균으로 주로 가정과 중소기업에서는 종된장과 스타터를 첨가하여 제품의 특징을 만들고 있음

○ 콩된장은 주로 중국으로 protease가 강력한 종모, 단모의 국균을 사용하여 제조한다.(*Asp. oryzae*, *Asp. sojae*)



제 2절 중국

- '13 Sial 상해 식품박람회에는 세계 45개국에 참가한 식품전시회로 한국관에는 유자와 장류, 라면, 스낵류, 막걸리, 음료류, 다류 등 한류를 이용한 상품들을 세계시장에 판매하려는 마케팅 경쟁이 치열하고 대기업과 중소기업 제품들도 많은 상품들을 출시함
 - 식품박람회에서는 프랑스를 비롯한 유럽국가들이 자국의 농산물을 이용한 자국의 전통발효식품인 치즈와 주류(와인 등), 가공식품류들을 많이 출품하였고 동남아시아 국가들은 농산물가공제품, 유지류, 유럽과 미국계 기업들의 OEM제품들이 많았고 커피와 냉장, 냉동제품들의 경쟁이 치열한 것 같다.
 - 과일류를 이용한 발효식품은 시음코너와 비교 관능검사를 할 수 있게 하였고 포도 등 지역별, 국가별 알콜 발효 시킨 와인 등의 주류가 별도의 코너로 전시되어 인기를 모음
 - 대두, 수산물 등을 이용한 발효식품은 대만의 이금기 소스류, 한국형의 간장, 된장이 있었고 중국 청도에서 생산되는 된장과 간장도 세계화를 목표로 하고 있음
 - 중국은 아직까지 된장보다는 간장 등 다양한 향신료가 첨가된 소스류가 많았고 일본과 한국처럼 다양한 된장류는 없었다. 한국형 된장류는 중국시장을 겨냥한 상품다양화로 대체가 가능할 것으로 사료되고 된장자체의 원료보다는 소스류화 하여 퓨전식품에 접목한다면 좋은 식품첨가물 소재가 될 것이다.
 - 곡류를 발효하여 얻은 발효산물은 여러가지로 다양한 소스류 제조가 가능하므로 중국식 향신료와 접목한다면 다양한 퓨전장류가 가능할 것이고 중국에는 액상의 소스류와 고추, 오이 등을 세절하여 절임한 병제품류가 다수 있었음
 - '12년과 현재 유럽시장과 중국시장은 어린이 성장용, 정신건강과 소화, 좀 더 젊어지려는 혁신제품들이 출시되는 경향이 있음
 - 유기농산물을 이용한 제품들 특히 유기농 대두로 제조한 된장제품이 출시되었고 소비자 신뢰를 얻을 수 있는 제품 즉 생산이력이 분명한 제품들이 성장할 것으로 전망하고 있고 북아메리카 등 미국은 천연트렌드의 유기농산물과 좀더 자연적인 가공제품을 중요하게 여기고 있음
 - 아시아는 어린이의 성장발달에 좀 더 초점을 맞추고 있고, 특히 DHA 등 성장에 도움이 되는 물질에 관심이 많음. '12년 유럽은 10대들의 에너지 드링크 붐에 주목하고 있고, 북아메리카는 슬림 트렌드와 비만억제에 주목하고 있음
 - '12년의 세계트렌드는 간편한 조리, 시간절약 상품, 다양한 용도, 품격있는 포장, 오픈이 쉬운 포장 등이 글로벌한 추세임. 유럽은 또한 맛과 조직감 등을 통한 기쁨과 감동을 주는 제품에 주목하고 있고 식사도 뷰페와 같은 곳에서 시음하는 경향이 많아지고 있음. 특이한 요리법은 유럽, 북아메리카 등과 같이 아시아 여러나라들의 요리 향연의 하이라이트임
- 북아메리카는 여러가지 센스 트렌드를 아직까지 가정에서 제공하고 있고 라틴아메리카는 새로운 향과 조직감을 바탕으로 한 섬세한 제품들이 새로운 시장의 컨셉임

○ 아시아는 기쁨을 주는 상품이 거의 60%에 달하는 혁신제품이 제공되고 있다. (예를 들면 미니사이즈, 색다른 컬러 등) 동남아시아는 열대과일 주스, 야채, 다양한 식물성 유지류 등에 주목하고 있다.

○ 중국의 발효 장을 담그는 과정을 보면 두장, 육장, 어장의 제조방법을 상세히 설명하고 있고 장을 담을 때 사용하는 누룩을 황의(소맥알갱이 누룩), 황중(소맥가루로 만든 누룩)이라 한다.

○ 콩 메주에서 누룩을 형성하는 주요미생물 종류에 따라 다음과 같이 나눈다. 쌀 누룩곰팡이형으로 베이징콩메주, 후난콩메주, 일본빈납두, 털곰팡이형으로 쓰촨 콩메주, 뿌리곰팡이형으로 인도네시아 테엔베이 콩메주, 세균형으로 산둥콩메주, 맥포자형으로 양치아오 콩메주가 있다고 한다.

○ 중국의 80년대 발효기술로 양저우에서는 다효소 당화로 단맛이 나는 장을 빠르게 만드는 방법을 연구하는데 성공하였고 이런 과학기술은 제조방법을 간략화함으로써 양식과 에너지를 절약하고 생산주기를 줄이며 노동강도를 경감하고 식품위생을 개선하는 등의 장점을 가지고 있으며 장류 기계화를 가능하게 하였다.

○ 중국에는 밀가루장을 단 된장이라고도 부르며 밀가루를 주원료로 생산한다. 맛이 짠듯하면서 단맛을 가지고 있는 것으로 유명하다. 생산방법에 따라 2가지가 있다. 남방 방법과 베이징지역의 방법으로 남방 방법은 밀가루를 발효시키는 것이다. 즉 밀가루를 증숙하여 누룩을 만들어 소금물을 섞은 후 발효시키는 것으로 우리나라와 일본이 유사한 방법인 것 같다.

베이징지역의 방법은 밀가루를 발효시키지 않는 것으로 밀가루에 소량의 물을 넣고 보리이삭처럼 길게 모양을 만든 후 증숙하여 식힌다음 누룩을 붙이고 소금물을 함께 반죽해 발효시키는 것이다. 밀가루 발효 유무에 따라 맛이 개운하고 순수하다고함.

○ 두시는 콩을 발효시켜 만든 말린 청국과 비슷한 제품으로 마른두시가 있다. 마른두시는 대두, 누에콩 혹은 완두를 원료로 하며 대부분 곰팡이, 프로테아제, 디아스타제의 작용을 이용해 제조한다. 응용되는 곰팡이균으로는 쌀 누룩곰팡이와 털곰팡이 두 종류가 있다고 한다.

○ 중국 장류 미생물로는 쌀 누룩곰팡이가 있다. 쌀 누룩곰팡이는 다양한 영양성을 가지고 있고 호기성이므로 누룩을 만들 때 밀기울 껍질, 밀가루를 첨가함으로써 누룩 원료의 조직을 느슨하게 하여 활성을 좋게 한다고 한다. 중국에서도 종곡을 제조하기 위하여 콩깻묵과 밀기울에 균주를 접종하여 누룩을 제조하여 사용한다고 한다.

○ 중국에서는 아직까지 다양한 향신료가 많이 있고 장류로는 간장을 주로 사용하고 있지만 식문화 변화와 음식문화의 글로벌화로 인하여 한국식 된장, 간장, 미소 등이 많이 소비 될 것이다. 그리고 한국식 전통된장류가 다양한 음식체인점을 통하여 식재료와 식품첨가물로 이용된다면 된장의 소비는 더욱 증가할 것이다. 아울러 최근의 미디어 한류화와 식문화를 결합한 글로벌상품을 만들기 위하여는 전통된장의 맛 다양화와 퓨전화가 필요하다.

제 7 장 참고문헌

1. Yoo JY, Kim HG. 1998. Characteristics of traditional mejus of nation-wide collection. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27, 259-267
2. 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
3. 정운수. 1963. 간장의 미생물학적 연구 : 재래식 간장에서 세균의 분리 및 동정. 한국미생물학회지, 1(1), 30
4. 박계인, 김기주. 1970. 한국 간장제조에 관한 연구(제1보). 중앙공업연구소 연구보고. 20, 89
5. Yoo JY, Kim HG. 1998. Characteristics of traditional *Meju* of nation-wide collection. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27, 259-267
6. 조덕현, 이우진. 1970. 한국 재래식간장의 발효미생물에 관한 연구. 한국 농화학회지, 13(1)
7. Song JY,Ahn CW, Kim JK. 1984. Flavor components produced by microorganism during fermentation of Korea ordinary soybean paste. Korea J. App. Microbioeng. 12:147-152
8. Park JS, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH. 2000. Quality characteristics of home-made doenjang a traditional korean soybean paste. Korea J. Soc. 16: 121-127
9. Park JS, Lee MY, Kim JS, Lee TS. 1994. Composittions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste(doenjang) prepared with different microbial sources. Korea J. Food Sci. Technol. 26:609-615
10. Eum BW, Kwak BY, Shon DH, Lee KH. 2003. Enhancement of chitooligo saccharides in *Doenjang* and *Ganjang* using *Bacillus subtilis* koji and *Rhizopus oryzae* koji. Korea J. Food Sci. Technol. 35:291-296
11. Y.E.Bae, K.H.Yoon. 2012. Production and characterization of thermostable protease from bacillus licheniformis isolated from korea traditional soybean paste. Korea journal of microbiology. 48 (4). 298-304
12. YS Kim, DY Jeong, YT Hwang. 2011. Bacterial community profiling during the manufacturing process of traditional soybean paste by pyrosequencing method. Korea journal of microbiology 47(3) 275-280

13. 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
14. 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
15. 양성호, 최명락, 김종규, 정영건. 1992. 한국 재래식 된장의 맛성분 조성의 최적화. 한국영양식량학회지, 21(4), 449-453
16. 양성호, 최명락, 김종규, 정영건. 1992. 한국재래식 된장의 맛의 특징. 한국영양식량학회지, 21(4), 443-448
17. 박건영, 문숙희, 이숙희. 1994. 된장의 항돌연변이 효과-된장찌개 및 된장국의 aflatoxin B1에 대한 돌연변이 유발효과 억제 효과. 한국환경성돌연변이발암원학회지 14, 145
18. 李漢昌. 1999. (醬) 歷史와 文化와 工業, 신광출판사
19. 신효선. 1989. 식품분석(이론과 실험), pp 69~107, 신광출판사, 서울
20. 연세대학교 공학부 식품공학과. 1975. 식품공학실험, pp725-727, 탐구당, 서울
21. 식품공전. 2011. 일반성분시험법
22. 백성열, 윤혜주, 최혜선, 구분성, 여수환. 2010. 전통장류에서 세포외효소 분비능이 우수한 미생물의 분리 및 생리활성 특성. Kor.J.Microbiol. Biotechnol. 38(4). 379-384
23. J.D. Rho, S.Y. Choi, S.J. Lee. 2008. Quality characteristics of soybean pastes prepared using different types of microorganisms and mixing ratios. Korea J. food cookery sci. 24(2) 243-250
24. C.H. Rhee, W.C. Kim, I.K. Rhee, H.D. Park. 2008. Effects of inoculation of *Bacillus subtilis* cells on the fermentation of korea traditional soy paste. Korean J. food preserv. 15(4) 598-605
25. H.S. An, J.S. Bae, T.S. Lee. 1987. Comparison of free amino acids, sugar, and organic acids in soy bean paste prepared with various organisms. J. Korea agricultural chemical society. 30(4) Dec.

위탁 과제

요 약 문

I. 제 목

전통된장의 화학적 지표 선정 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

전통된장으로부터 원하는 맛과 향을 도출하고, 이를 생산 할 수 있는 기질 및 발효미생물을 선택함으로써, 전통된장의 특징적인 맛은 유지하면서 한층 다채로운 향미를 가진 된장을 생산하기 위해서 prototype으로 선정된 전통된장의 휘발성 향기성분을 분석하고, 관능검사와의 상관관계 분석을 통해 도출된 지표 향기성분의 최적 추출 및 분석방법을 확립하여 모델 시스템에서 신속하게 활용할 수 있도록 하고자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

- Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가
 - GC-MSD를 이용한 휘발성 향기성분 분석·동정 및 향 프로파일 작성
 - 전통된장과 공장산 된장의 화학적 차이 규명
- Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출
 - 향기성분과 관능검사의 상관관계 분석을 통한 지표 관능기 도출
 - 지표 향기성분의 추출 및 분석 방법 최적화
 - 모델 시스템에서의 화학적 향기 변화 추적
- 시제품의 향기 재현 평가
 - 모델 시스템 내 발효 과정 중 생성되는 향기성분 모니터링
 - 공정 관리 및 품질 지표 인자 도출 및 확인

IV. 연구개발결과

1. Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가

전통된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, benzacetaldehyde 등 된장 특유의 고린내, 쿼퀴한 냄새를 나타내는 성분과 benzaldehyde, 1-octen-3-ol, teramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-ethyl phenol

등 된장 향, 고소한 향, 과일 향 등의 향기 특성을 나타내는 성분들이 동정되었으며, 카라멜향으로 특징되는 maltol(2-methyl-3-hydroxy-4-pyranone)이 확인되었다. 공장산 된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 ethanol이 많은 부분을 차지하는 것으로 확인되었으며, ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, ethyl linoleate 등 구수한 냄새성분에 기여하는 고분자 지방산 ester류가 확인되었다. 전통된장에서 많은 비율을 차지한 acid류는 0.37~6.45%로 낮은 비율을 나타내었다.

2. Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출

전통된장의 화학적 지표를 선정하기 위하여 prototype 전통된장에서 분리한 균주별로 제조된 콩발효물 중 관능적 특성이 전통된장과 유사한 시료(미접종, *B. subtilis* 접종, *Aspergillus* sp. 접종, DD-N 접종)를 선정하여 휘발성 향기성분을 분석하였으며, 실험결과와 문헌조사 결과를 토대로 본 연구에서는 된장의 향기특성에 긍정적인 영향을 미치는 pyrazine류 중 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, benzaldehyde와 된장 특유의 고린내를 내는 3-methyl butanoic acid를 지표후보물질로 선정하였으며, 균주배양 모델 시스템 선정을 위해 활용하였다.

3. 시제품의 향기 재현 평가

전통된장의 화학적 지표로 선정된 향기성분은 2,5-Dimethyl pyrazine(A), trimethylpyrazine(B), tetramethylpyrazine(C), benzaldehyde(D), 3-Methyl butanoic acid(E) 총 5종으로 3-methyl butanoic acid는 2-methyl butanoic acid와 분리되지 않아 1개의 peak로 처리하여 면적을 산출하였다. Candy, sweet의 향기특성을 가지는 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine을 지표성분에 추가하여 비교하였다. 1차 시제품에서는 AL_B_1이 된장 특유의 고린내를 내는 2/3-butanoic acid의 상대적 비율은 낮으면서, pyrazine류의 비율이 높게 확인되었다. 2차 시제품에서는 D-1의 경우 지표성분의 강도가 시간에 따라 큰 변화가 없었지만, D-2에서는 termethylpyrazine과 2,3,5-trimethyl-ethylpyrazine이 증가하는 것으로 확인되었다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 학술발표 1건 : Analysis of volatile flavor compounds in long-aged Deonjang by automated SPME-GC-MSD(2011 한중일 분석과학회 국제심포지엄, 2011. 11. 01.)
- 본 연구결과는 속성발효 된장의 품질에 대한 기초자료로 활용할 계획임

SUMMARY

I. Title of Research

Screening of flavor-based indicator in *Doenjang*

II. Objectives and Significance of Research

Optimum extraction and analysis methods for index flavor compounds derived through an analysis made of volatile flavor compounds of traditional *Doenjang* selected as a prototype and through a sensory evaluation and a correlation analysis need be established so that a model system may be quickly utilized, after deriving desired tastes and flavors from traditional *Doenjang* and selecting such substrate and microzyme as can produce the tastes and flavors, in order to produce *Doenjang* which maintains tastes specific to traditional *Doenjang* and has more variegated flavors.

III. Scope and Contents of Research

- Evaluating volatile flavor of prototype traditional *Doenjang*
 - Analyzing and identifying volatile flavor compounds and preparing a flavor profile by using GC-MSD
 - Examining chemical differences between traditional *Doenjang* and factory-produced *Doenjang*
- Deriving index flavor compounds of prototype traditional *Doenjang*
 - Deriving index functional groups through analyzing the correlation between flavor compounds and a sensory evaluation
 - Optimizing methods for extracting and analyzing index flavor compounds
 - Chasing chemical fragrance changes in a model system
- Evaluating prototypes' volatile flavor reproduction
 - Monitoring flavor compounds generated in the process of fermentation in a model system
 - Process control, and deriving and confirming quality index factors

IV. Results of Research

1. Evaluating volatile flavor of prototype traditional *Doenjang*

Major volatile flavor compounds identified from traditional *Doenjang* include those which generate an offensive and foul smell specific to *Doenjang* like butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, benzacetaldehyde; *Doenjang* flavors like benzaldehyde, 1-octen-3-ol, tetramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, and 4-ethyl phenol; other components which have fragrant characteristics like savory flavor and fruit flavor; and maltol (2-methyl-3-hydroxy-4-pyranone) represented by caramel flavor. Major volatile flavor compounds identified from factory-produced *Doenjang* comprise mostly ethanol and other high-molecular fatty acid esters which contribute to nice-smelling components like ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, and ethyl linoleate. Acids which account for a great deal in traditional *Doenjang* are found at the low ratio of 0.37~ 6.45%.

2. Deriving index flavor compounds of prototype traditional *Doenjang*

In order to determine chemical indexes for traditional *Doenjang*, from among soybean fermentations manufactured with each strain separated from prototype traditional *Doenjang*, samples (non-inoculation, *B. subtilis* inoculation, *Aspergillus* sp. inoculation, and DD-N inoculation) are selected whose sensory characteristics are similar to those of traditional *Doenjang* and whose volatile flavor compounds are analyzed. Based on the results of the experiment and documentary investigations, this research has selected, as index substance candidates, pyrazines which have a positive effect on fragrant characteristics of *Doenjang* like 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, and benzaldehyde; and 3-methyl butanoic acid which has a foul smell specific to *Doenjang*. And these substances are utilized for selecting a model system for strain cultivation.

3. Evaluating prototypes' volatile flavor reproduction

A total of 5 flavor compounds selected as chemical indexes for traditional *Doenjang* are 2,5-Dimethyl pyrazine (A), trimethylpyrazine (B), tetramethylpyrazine (C), benzaldehyde (D), and 3-Methyl butanoic acid (E). When the area is calculated, 3-methyl butanoic acid is treated as a peak since it is not separated from 2-methyl butanoic acid. A comparison is made after index components are added with 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine which is characterized by candy and sweet fragrances. It is confirmed from the 1st prototype that AL_B_1 has a relatively lower ratio of 2/3-butanoic acid which generates a foul smell

specific to *Doenjang* but a high ratio of pyrazines. It is also confirmed from the 2nd prototype that there is no big change, as time goes by, in the intensity of index components as for D-1 but an increase in termethylpyrazine and 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine as for D-2.

V. Application Plan of Results

- Academic presentation: Analysis of volatile flavor compounds in long-aged Deonjang by automated SPME-GC-MSD (Korean-Chinese-Japanese Data Analysis Society international symposium dated November 1, 2011)
- It is planned that the findings of this research shall be utilized as basic materials for examining the quality of quick-fermented *Doenjang*.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	184
Section 1. Objective of the research	184
Section 2. Significance of the research	184
Section 3. Scope of the research	185
Chapter 2. Current Status of Technical Development	186
Section 1. Domestic trends in the research field	186
Section 2. International trends in the research field	187
Chapter 3. Research Contents and Results	188
Section 1. Evaluating volatile flavor of prototype traditional <i>Doenjang</i>	188
Section 2. Deriving index flavor compounds of prototype traditional <i>Doenjang</i>	218
Section 3. Evaluating prototypes' volatile flavor reproduction	228
Chapter 4. Contribution in Relative Research Area	244
Chapter 5. Outcome of R&D and Utilization of This study	245
Chapter 6. Acquired International Scientific Information during R&D Process	245
Chapter 7. References	246

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	184
제 1 절 연구개발의 목적	184
제 2 절 연구개발의 필요성	184
제 3 절 연구개발 범위	185
제 2 장 국내외 기술개발 현황	186
제 1 절 국내 기술개발 현황	186
제 2 절 해외 기술개발 현황	187
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	188
제 1 절 Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가	188
제 2 절 Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출	218
제 3 절 시제품의 향기 재현 평가	228
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	244
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	245
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	245
제 7 장 참고문헌	246

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

Prototype으로 선정된 전통된장의 휘발성 향기성분을 분석하고, 관능검사와의 상관관계 분석을 통해 도출된 지표 향기성분의 최적 추출 및 분석방법을 확립하여 모델 시스템에서 신속하게 활용할 수 있도록 하고자 한다.

제 2 절 연구개발의 필요성

우리나라의 전통 된장은 메주를 만들어 1차 발효를 하고, 메주를 소금물에 염지-혼합-숙성의 과정을 거쳐 다시 숙성을 한다. 따라서 된장은 메주 제조부터 시작하면 최소한 1년 이상의 긴 기간이 요구되며, 곰팡이, 효모, 세균 등 다양한 미생물들의 긴밀한 상호작용으로 탄생된다. 현재 우리나라의 산업화된 된장은 일본식 된장의 제조 공정이 많이 도입되어, 발효숙성기간이 60일 정도로 짧고, 맛과 향도 전통된장과 차이를 보임에 따라 시장의 수요가 제한적이었다. 최근 들어 업체에서도 이를 타개하기 위하여 전통 메주를 이용한 한식 된장의 생산을 시작하고 있다. 하지만 아직 우리나라 전통된장의 발효과정 및 발효미생물의 역할에 대해서는 많은 연구가 이루어 지지 못하고 있다. 우리나라 된장은 지역마다 다른 맛과 향을 가지고 있으며, 같은 지역에서도 담그는 해에 따라 맛과 향이 차이를 보이고 있다. 하지만 아직 그 원인을 규명하지는 못하고 있으며, 단지 담금 환경에 따라 발효 미생물에 의한 발효 과정이 변화된 것으로 간주하고 있다.

된장은 콩의 단백질과 당질 등이 미생물이 생산하는 효소 등에 의해 분해되고, 다시 이용되면서 복합적인 맛과 향을 생산하는 것으로, 일반적으로 단백질의 분해는 감칠맛(旨味)를 향상시키며, 당질의 분해는 다당류를 과당이나 단당류로 분해시킨다. 향기성분에 대한 연구를 통하여, 일반적으로 바람직한 향기성분으로는 알코올류, 에스터류, 락톤류, 터펜류 등이 있으며, 이중 특히 에스터류는 발효과정 중 발생하는 중요 향기성분이다. 에스터류는 향기부여와 동시에 저급 지방산을 소비시켜 불쾌한 냄새를 없애는 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 저급 지방산류, 암모니아, 아민류, 유황함유물은 발효로 생성되는 대표적인 불쾌한 냄새 성분들이다.

식품에서 향기성분에 대한 평가는 소비자의 기호도에 따라 달라지기 때문에 발효식품에서 제품의 향기 특징은 제품의 시장에서의 경쟁력을 좌우할 수 있는 중요 변수이고, 생산 공정에서 품질관리의 주요 항목이다. 현재까지 산업화된 우리나라 전통된장은 대부분 콩, 통밀 등에 *Aspergillus*속의 균주를 접종하여 제곡 후 대두와 식염을 혼합하여 제조한 것으로 전통 장류와는 맛에서 차이를 보이고 있다. 메주를 대량생산하여 된장을 제조하는 경우에는 지역 및 제조

업체마다 된장이 맛이 일정하지 않으며, 같은 업체가 제조한 것이라 하더라도 시기에 따라 맛에 차이를 보여 일정한 맛을 유지하는 균질한 된장 생산 공정은 아직 산업화 되지 못하고 있다. 전통된장은 앞서 언급한 바와 같이 개인의 연령, 취향 등에 따라 기호도에서 큰 차이를 보이기 때문에 다양한 향미를 가진 된장을 생산할 수 있는 기반 연구가 절실하다. 전통 발효의 산업화는 전통을 고수하기 보다는 다양한 현대인의 구미에 맞도록 다양화, 현대화 및 국제화함으로써 발전적으로 변신하여야 한다. 이를 위해서는 된장의 발효 미생물에 의한 향미 생산 특성에 대한 연구가 필수적으로 요구된다. 발효미생물에 따라 다양한 된장의 향미 생산이 가능하기 때문이다. 따라서 원하는 맛과 향을 도출하고, 이를 생산 할 수 있는 기질 및 발효미생물을 선택함으로써, 전통된장의 특징적인 맛은 유지하면서 한층 다채로운 향미를 가진 된장의 생산이 가능할 것이다.

제 3 절 연구개발의 범위

- Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가
 - GC-MSD를 이용한 휘발성 향기성분 분석 · 동정 및 향 프로파일 작성
 - 전통된장과 공장산 된장의 화학적 차이 규명

- Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출
 - 향기성분과 관능검사의 상관관계 분석을 통한 지표 관능기 도출
 - 지표 향기성분의 추출 및 분석 방법 최적화
 - 모델 시스템에서의 화학적 향기 변화 추적

- 시제품의 향기 재현 평가
 - 모델 시스템 내 발효 과정 중 생성되는 향기성분 모니터링
 - 공정 관리 및 품질 지표 인자 도출 및 확인

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 기술개발 현황

된장은 청국장, 쌈장, 고추장 등과 더불어 콩을 발효시켜 만든 한국의 전통 발효식품으로, 곡류 단백질에서 부족 되기 쉬운 필수아미노산, 지방산, 유기산, 미네랄, 비타민 등을 보충해 주는 영양학적 우수성을 지닌다. 하지만 된장의 국내 시장은 소비자 패턴의 변화 및 경기 침체로 소비심리가 위축되고, 대형 유통점의 저마진 압박과 유통제품의 안전성 문제가 대두되면서 확장하지 못하고 있다.

된장의 가정 내 사용률은 2007년 기준으로 29.7%로 고추장의 46.6%, 쌈장의 36.1%에 훨씬 미치지 못하고 있는 실정이다(TN Sofres Korea '07). 이는 산업체 된장 제품의 품질이 소비자들의 요구에 미치지 못하며, 홍보도 부족한 때문으로 기술개발이 뒷받침된다면 오히려 된장의 시장 잠재력은 타 장류보다 월등히 크다고 볼 수 있다(식품유통연감 2008)

최근에 연간 약 120억원 규모의 냉장 장류 시장이 꾸준한 성장으로 시장 판도에 영향을 주고 있다. 냉장 장류 시장은 상온 장류 시장에 비해 아직 규모는 작지만 연간 10% 이상 꾸준히 성장해 잠재력이 큰 시장으로 평가되고 있다. 실제로 2003년 70억원대였던 매출규모가 2006년 100억원대로 증가했고, 2010년에는 300억원대로 커질 것으로 전망되고 있다. 최근 전통 장류 시장에 낫토, 미소된장 등 일본 발효식품이 점점 판매가 증가하고 있다. 이들은 일본 음식 특유의 부담이 가지 않는 담백한 맛을 장점으로 과거 일식당에서나 맛 볼 수 있었던 것들이 가공식품으로 일반 가정 식탁에 오르기 시작한 것이다. 아직은 국내 제품에 비교하여 시장규모는 작지만 국내 장류 시장이 정체 현상을 보이는데 반해 일본 식품은 급성장하고 있다는 점과 미래 소비자인 젊은 계층이 이들 식품과 친숙하다는 점을 고려할 때, 그 격차는 점점 줄어들 것으로 예상되고 있다.

우리나라 된장의 생산량은 2000년 133 천톤, 2004년 155천톤, 2007년 163 천톤으로 크게 확장되지 못하고 있는 실정인 반면, 일본, 중국 등에서 수입되는 된장은 점차 증가해 2000년 825톤에서 2005년에는 3,974톤을 수입했으며, 2008년에는 수입량이 3,312천톤을 수입하였다.

전통된장과 관련된 연구로 초기에는 제조 및 담금 방법에 대한 연구가 주를 이루었으나, 최근에는 생리활성에 대한 연구와 기능성을 높이는 된장 제조 방법에 대한 연구가 많이 수행되었다. 현재까지 확인된 된장의 생리활성으로는 돌연변이 억제, 항암, 항산화, 면역 조절, 혈압 강하, ACE 저해, 혈전 용해능 등이 있다. 그러나 대부분의 연구가 숙성 기간이 1년 미만인 된장을 이용한 연구로 우리나라 독창적인 전통식품인 장기 숙성 전통 된장에 대한 기능성과 유효 성분 및 안전성과 관련된 연구는 전무한 실정이다

제 2 절 국외 기술개발 현황

미국, 유럽 등 각국에서는 아시아의 낮은 관상동맥 질환과 콩 관련 제품의 섭취와의 관련성이 규명되면서, 대두 가공제품 및 대두 발효제품에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 현재, 성인병 예방의 차원에서 식물성 단백질 섭취를 권장하고 있으며, 학교 급식과 군용식품에 대두 단백질을 첨가하고 있다.

일본은 자국의 전통 장류에 대한 체계적인 연구를 통해 다양한 생리활성(항암, 고혈압, 혈중 콜레스테롤 저하 등)을 홍보하고 있으며, 미소 섭취량과 사망률에 대한 역학조사 결과를 근거로 일본 된장국 섭취빈도를 높이도록 권고하고 있다. 일본의 발표에 따르면 미소 된장국을 매일 먹은 사람은 모든 종류의 암, 동맥 경화성 심장 질환, 고혈압, 위십이지장 궤양, 간경변 등의 의한 사망률이 낮아진다고 하였다.

일본에서도 된장의 가정용 소비는 감소하는 반면, 가공 및 업무용 비중은 높아지고 있다. 이를 타개하기 위해, 일본 미소생산 업체들은 소비자들의 욕구에 부합하는 다양한 제품을 개발하였다. 섭취가 용이하고, 기능성을 강화하였으며, 안전성이 입증된 알콜 무첨가 된장, 저염 된장, 컵조림 용기 된장 등이 시판되었다(전통장류의 일본 수출시장 분석 보고서, 2002).

일본은 현재 약 1,200개 일본 된장 제조업체가 있다. 그러나 각 회사 제품마다 사용하는 누룩이 다르고 이에 색과 맛이 달라 제각기 독특한 향미를 소유하고 있다. 일본에서는 소화 59년 당시 일본 문부성의 특정 연구를 기회로 세계에 앞서서 식품 기능의 개념이 수립되었고, 기능성 식품이 학술적으로 정의되었다. 식품의 기능을 3개로 나누어 기능성 식품으로 정의하였다. 영양소로서 기능(1차 기능), 인간의 오감에 관련되는 감각 기능(2차 기능) 및 건강·신체 능력·심리상태에 관련되는 생체조절기능(3차 기능)이라고 정의하였다. 된장을 이런 3가지 기능을 만족하는 기능성식품으로 인정을 받아 현재도 연구가 활발하게 진행되고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가

1. 연구수행 방법

가. Prototype 전통된장의 휘발성 향기성분 분석

(1) 시료

관능검사를 통해 선정된 prototype 전통된장은 총 7종(KO-01, KO-02, KO-03, SO-02, MC-03, SW-03, JB-1.5)으로 한국식품연구원에서 제공받아 휘발성 향기성분 분석을 위한 시료로 사용하였다.

(2) 휘발성 향기성분의 최적 추출조건 수립

SPME(Solid phase microextraction)법은 고정상을 입힌 fiber를 사용하여 시료병의 headspace 부분에서 시료와 fiber사이에 분배에 의해 휘발성 유기화합물을 흡착하고 유기화합물이 흡착된 fiber를 gas chromatography(GC)의 injector에 주입하여 열 탈착시키는 방법이다. 자동화된 SPME법에 의한 휘발성 향기성분의 최적 추출조건을 수립하기 위하여 다양한 조건들(시료량, incubation 온도, 교반속도, 추출시간)을 사용하여 휘발성 향기성분의 추출효율을 비교하였으며, 예비실험을 거쳐 최적의 추출조건을 수립하였다.

(3) 휘발성 향기성분의 추출

본 연구에서는 SPME법에 의한 된장의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 C3-C20(MW 40-275)으로 다양한 범위의 분석물질이 흡착 가능하여 휘발성 향기성분 분석에 적합한 DVB/PDMS/CAR(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane 30/50 μm , 1 cm, Supelco) fiber를 사용하였다. 된장 휘발성 향기성분의 추출은 SPME fiber holder가 장착된 autosampler(Agilent CTC Combi PAL, USA)를 이용하였다. PALDVB/PDMS/CAR fiber는 SPME holder에 장착하고 분석에 앞서 250 $^{\circ}\text{C}$ injector에서 60분 동안 노출시켜 conditioning하였다. 각각의 시료 0.5 g을 headspace vial(20 mL, 22.5 mm \times 75.5 mm)에 취하여 70 $^{\circ}\text{C}$ 에서 300 rpm으로 교반하면서 20분 동안 incubation한 후 40분간 시료 내의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. 휘발성 향기성분이 포집된 SPME fiber는 자동으로 GC injector에 주입되어 splitless mode에서 3분간 휘발성분을 탈착하였다.

(4) 휘발성 향기성분의 분석 및 확인

휘발성 향기성분의 분석조건을 수립하기 위하여 다양한 온도 프로그램과 여러 종류의 capillary column(DB-5, Stabilwax)들을 사용하여 분리도를 비교하는 예비실험을 거쳐 최적의 분석조건을 수립하였다.

휘발성 향기성분의 정량분석을 위해 GC/MS는 HP 5973 Mass selective detector(Agilent technologies Inc., USA)가 연결된 HP 6890 Series gas chromatograph를 사용하였다. 휘발성 향기성분의 분리를 위해 column은 Stabilwax(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, Restek, USA)를 사용하였고, oven의 온도는 40℃에서 3분간 유지한 다음 2℃/min의 속도로 150℃까지 상승시키고 다시 4℃/min의 속도로 200℃까지 상승시킨 후 10분간 유지하였으며, 이때 carrier gas의 유속은 1 mL/min(He)로 유지하였다. 분리된 화합물의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였으며 ionization voltage와 ion source의 온도는 각각 70 eV와 230℃로 설정하였고, 분석할 분자량의 범위는 45~350(m/z)로 설정하였다. GC/MS에 의해 total ionization chromatogram(TIC)에 분리된 각 peak의 성분 분석은 mass spectrum library(WILEY7N, NBS75K, NTIS08)와 mass spectral data book의 spectrum과의 일치, 문헌상의 retention index와의 일치 및 표준물질의 분석 data를 비교, 확인하였다.

나. 공장산 된장의 휘발성 향기성분 분석

(1) 시료

선정된 prototype 전통된장과 향기성분을 비교하기 위해 수집된 공장산 된장은 총 4종(DS-01, DS-02, CJ-01, CJ-02)이었으며, 한국식품연구원으로부터 제공받아 휘발성 향기성분을 위한 분석시료로 사용하였다.

(2) 실험방법

Prototype 전통된장의 휘발성 향기성분 분석방법과 동일하게 자동화된 SPME-GC-MSD법으로 수행하였다.

2. 연구수행 결과

가. Prototype 전통된장의 휘발성 향기성분 분석

Prototype으로 선정된 전통된장의 향기특성을 확인하기 위하여 휘발성 향기성분을 SPME방법으로 추출하고 GC/MS로 분석하여 나타난 chromatogram은 [그림 1]에 도식하였고, 확인된 휘발성 향기성분의 조성과 비율은 [표 1]에서 [표 7]에, 휘발성 향기성분의 관능기별 상대적 비율은 [표 8]에 나타내었다.

전통된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 butanoic acid, 3-methyl butanoic acid,

benzaldehyde 등 된장 특유의 고린내, 쿼퀴한 냄새를 나타내는 성분과 benzaldehyde, 1-octen-3-ol, teramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-ethyl phenol 등 된장 향, 고소한 향, 과일 향 등의 향기 특성을 나타내는 성분들이 동정되었으며, 카라멜향으로 특징되는 maltol(2-methyl-3-hydroxy-4-pyranone)이 확인되었다.

고려-기순도 숙성 1년 된장(KO-01)에서 동정된 휘발성 향기성분은 총 81종으로 alcohol류가 20종(23.9%)으로 가장 많이 나타났으며, 그 다음으로 ester류가 17종(5.3%), aldehyde류 13종(27.6%), 질소화합물 11종(7.1%), ketone류 6종(4.5%) 순으로 확인되었으며 기타 화합물이 5종(2.9%)이 확인되었다. 주요 향기성분으로는 benzaldehyde, 3-methyl butanoic acid, benzaldehyde, butanoic acid, 1-octen-3-ol, acetic acid 순으로 나타났다.

고려-기순도 숙성 2년 된장(KO-2)에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 86종이었으며, ester류가 18종으로 다수 확인되었으며 전체 향기성분 조성에서 차지하는 비율은 7.5%로 나타났다. 가장 많은 비율을 차지하는 관능기는 alcohol류로 전체의 36.9%를 차지하였으며, phenethyl alcohol, ethanol, 1-octen-3-ol, 2-methoxy-4-vinylphenol 등 17종이 확인되었다. 다음으로 benzaldehyde, benzaldehyde 등 KO-02에서 주요 향기성분으로 확인되는 aldehyde류가 16종으로 25.5%를 차지하였고, ketone류(6종), 질소화합물(12)종, 기타 화합물(8)종이 각각 4.5, 4.7 및 5.2%로 유사한 비율을 나타내었다.

고려-기순도 숙성 3년 된장(KO-3)에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 84종이었으며, 주요 휘발성 향기성분으로는 3-methyl butanoic acid, benzaldehyde, benzaldehyde, ethanol, phenethyl alcohol 등으로 전체 휘발성 향기성분의 47.5%를 차지하였다. 또한 acetic acid, 1-octen-3-ol, maltol 등도 상당부분을 차지하는 것으로 나타났다. 주요 관능기는 aldehyde류, acid류 및 alcohol류이었으며, 각각 28.1, 25.2 및 24.2%로 유사한 비율로 확인되었다.

경기-소요산 숙성 2년 된장(SO-02)에서 확인된 향기성분은 69종으로 acid류가 13종(56.89%), alcohol류와 ester류가 각각 12종(8.7%, 2.4%), 질소화합물이 10종(11.8%), aldehyde류가 9종(16.8%), 기타 6종(1.6) 순으로 나타났다. 주요 휘발성 향기성분으로는 3-methyl butanoic acid로 확인된 향기성분 전체의 대부분을 차지(32.95%)하였으며, acetic acid, benzaldehyde, butanoic acid, benzaldehyde, tetramethyl pyrazine, 2-methyl butanoic acid 등의 순으로 주요 성분이 확인되었다.

경기-메첼 숙성 3년 된장(MC-03)에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 77종이었으며, acid류가 47.1%(13종)를 차지하였고, 다음으로 질소화합물이 22.1%(12종), aldehyde류가 13.3%(12종), alcohol류가 9.4%(13종) 순이었으며, ketone류와 기타 화합물이 각각 3.2%(6종, 7종)으로 확인되었다. 주요 휘발성 향기성분으로는 3-methyl butanoic acid, butanoic acid, teramethyl pyrazine 으로 전체의 약 50%를 차지하였으며, benzaldehyde, benzaldehyde, trimethyl pyrazine 등도 상당부분을 차지하였다.

서원농협 3년 숙성 된장(SW-03)에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 94종으로 다양한 성분들이 확인되었으며, 3-Methyl butanoic acid, ethanol, benzaldehyde, benzacetaldehyde, ethyl 2-phenylacetate, ethyl linoleate, ethyl hexadecanoate 등이 주요 향기성분으로 확인되었다. 가장 많은 부분을 차지한 관능기는 ester류로 34종이 확인되었으며, 전체의 32.6%를 나타내었다. 다음으로 acid류가 23.3%(11종), alcohol류가 21.5%(15종), aldehyde류가 15.2%(14종), 질소화합물이 5.9%(13종) 순으로 나타났으며, 기타 화합물 4종(0.4%)이 확인되었다.

제비원 숙성 1.5년 된장(JB-1.5)에서는 총 72종의 휘발성 향기성분들이 동정되었으며, alcohol류가 16종(17.9%), 질소화합물이 14종(16.7%), ester류가 13종(7.1%), acid류와 aldehyde류가 각각 10종(32.0%, 14.0%), 그리고 기타 화합물 3종(3.1%)로 구성되었다. 주요 휘발성 향기성분으로는 butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, benzaldehyde, 1-octen-3-ol, tetramethyl pyrazine, maltol 등이었다.

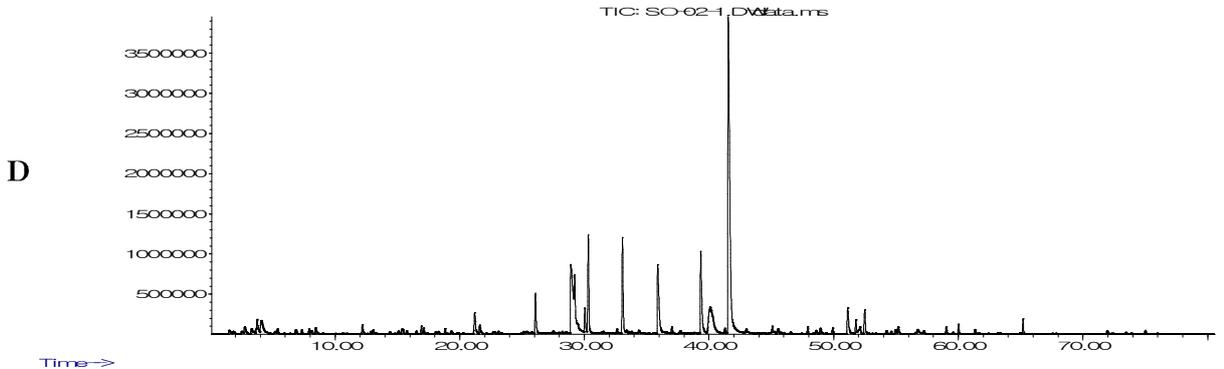
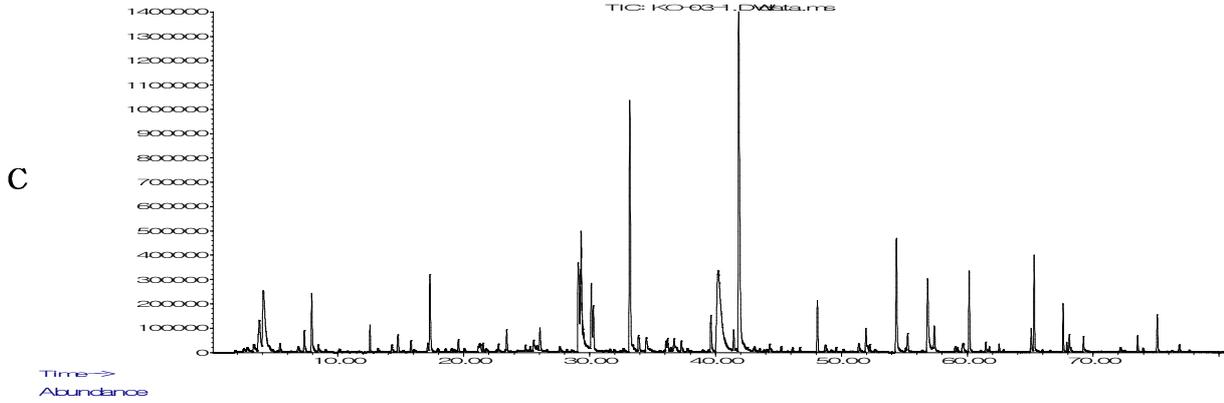
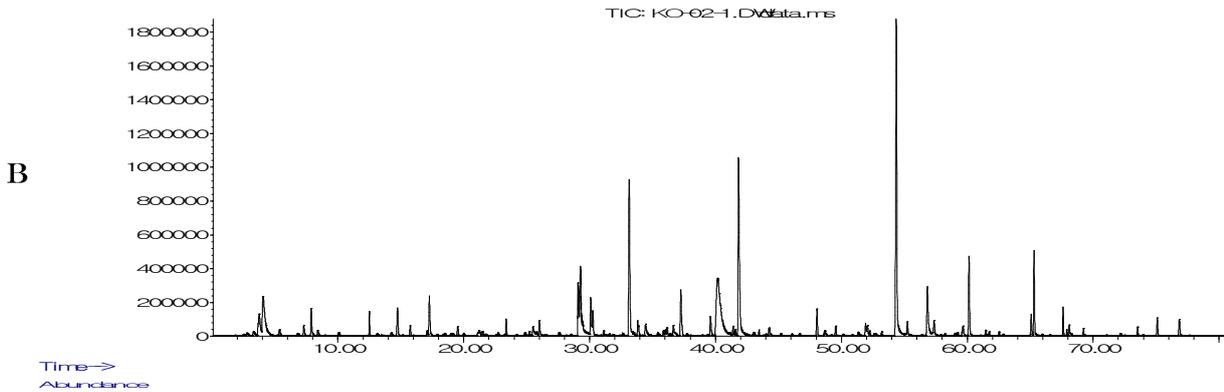
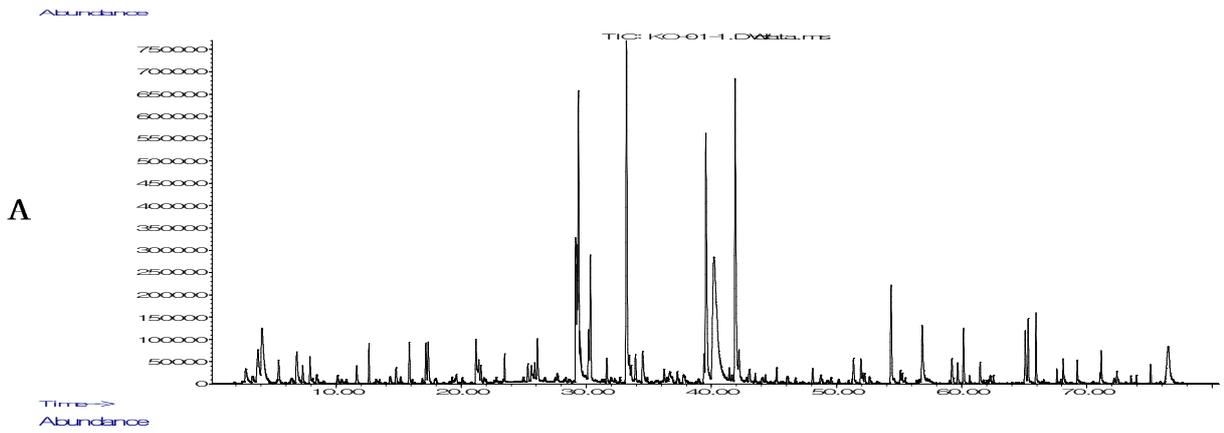


그림 1. 전통된장의 휘발성 향기성분 GC/MS 크로마토그램 (A; KO-01, B; KO-02, C; KO-03, D; SO-02, E; MC-03, F; SW-03, G; JB-1.5).

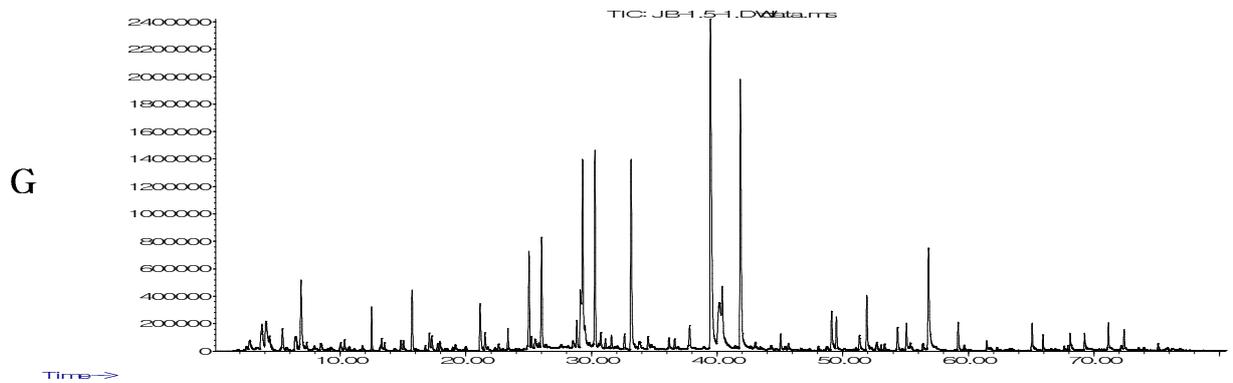
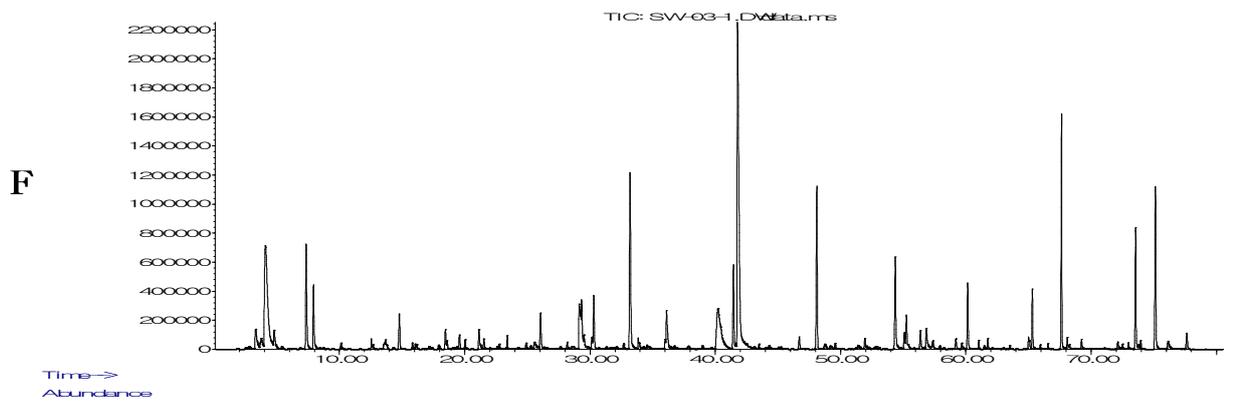
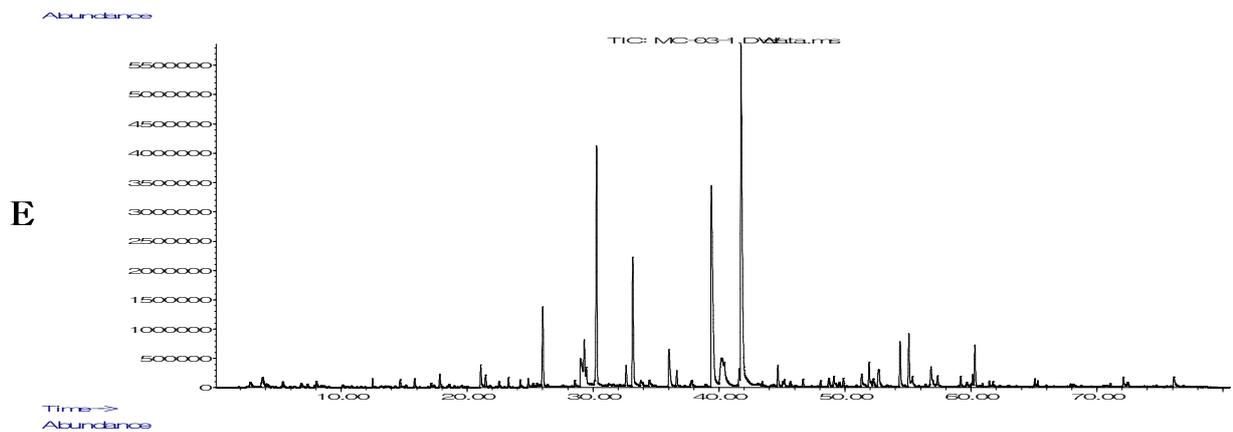


그림 1. 계속.

표 1. KO-01의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	131±26 ⁵⁾	0.25
2	903	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	842±137	1.64
3	925	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	1990±154	3.87
4	1048	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	642±105	1.25
5	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	218±38	0.42
6	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	303±53	0.59
7	1088	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	112±13	0.22
8	1100	2-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	31±1	0.06
9	1126	Propyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	128±21	0.25
10	1206	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	107±3	0.21
11	1216	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	229±12	0.45
12	1223	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	86±14	0.17
13	1236	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	382±121	0.74
14	1240	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	46±10	0.09
15	1254	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	53±11	0.10
16	1259	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	461±65	0.90
17	1262	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	390±79	0.76
18	1271	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	77±2	0.15
19	1292	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128	83±3	0.16
20	1305	1-Octen-3-one	C ₈ H ₁₄ O	126	76±8	0.15
21	1325	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	702±20	1.36
22	1329	2-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	296±32	0.57
23	1332	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	221±7	0.43
24	1350	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	46±3	0.09
25	1352	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	75±1	0.15
26	1386	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	55±4	0.11
27	1391	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	188±30	0.36
28	1396	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	160±37	0.31
29	1400	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	206±25	0.40
30	1403	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	574±4	1.12
31	1431	(E)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	122±8	0.24
32	1441	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	25±5	0.05
33	1448	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	56±7	0.11
34	1456	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	3253±364	6.32
35	1460	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3700±341	7.19
36	1473	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	584±16	1.13
37	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1513±37	2.94
38	1514	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	73±3	0.14
39	1523	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	4697±266	9.13
40	1527	2-Nonanol	C ₉ H ₂₀ O	144	324±21	0.63
41	1546	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	624±60	1.21
42	1575	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	180±23	0.35
43	1578	5-Methylfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	68±22	0.13
44	1632	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	4450±229	8.65
45	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	7137±157	13.87

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 1. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
46	1666	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	164±6 ⁵⁾	0.32
47	1669	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	103±24	0.20
48	1674	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	5309±297	10.32
49	1679	<i>p</i> -Methoxystyrene	C ₉ H ₁₀ O	134	469±88	0.91
50	1717	Methionol	C ₄ H ₁₀ OS	106	114±9	0.22
51	1734	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	191±3	0.37
52	1762	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	72±4	0.14
53	1787	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	186±1	0.36
54	1798	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	142±10	0.28
55	1850	Hexanoicacid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	424±30	0.82
56	1862	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	321±3	0.62
57	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	1405±19	2.73
58	1924	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	167±1	0.32
59	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	131±9	0.26
60	1960	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	1251±95	2.43
61	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	338±4	0.66
62	2021	γ -Nonanoic lactone	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	255±21	0.50
63	2033	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	656±43	1.27
64	2045	3,4-Dimethoxystyrene	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	85±5	0.16
65	2065	Octanoicacid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	257±53	0.50
66	2078	2-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	32±1	0.06
67	2085	4-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	135±0	0.26
68	2091	3-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	95±3	0.18
69	2171	Nonanoicacid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	538±72	1.05
70	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	669±52	1.30
71	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	676±26	1.31
72	2260	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	135±25	0.26
73	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	37±2	0.07
74	2278	Decanoicacid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	273±24	0.53
75	2393	γ -6-(Z)-Dodecenolactone	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	92±10	0.18
76	2397	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	341±11	0.66
77	2433	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	100±25	0.19
78	2441	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	146±5	0.28
79	2481	Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	89±26	0.17
80	2496	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	98±32	0.19
81	2528	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	252±80	0.49
Total					51467±219	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 2. KO-02의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	228±12 ⁵⁾	0.31
2	902	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1384±27	1.86
3	925	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	3379±111	4.54
4	1046	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	116±10	0.16
5	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	367±30	0.49
6	1074	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	1031±137	1.38
7	1087	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	197±7	0.27
8	1099	2-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	42±3	0.06
9	1126	3-Methylbutylacetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	169±6	0.23
10	1185	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	87±5	0.12
11	1205	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	134±7	0.18
12	1215	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	1072±84	1.44
13	1234	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	320±18	0.43
14	1238	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	26±1	0.03
15	1257	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	195±13	0.26
16	1260	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	1379±37	1.85
17	1270	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	75±2	0.10
18	1278	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	76±10	0.10
19	1280	1,2,4-Trimethylbenzene	C ₉ H ₁₂	120	117±14	0.16
20	1290	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128	67±5	0.09
21	1303	1-Octen-3-one	C ₈ H ₁₄ O	126	110±4	0.15
22	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	105±10	0.14
23	1325	(E)-2-Heptenal	C ₇ H ₁₂ O	112	180±17	0.24
24	1327	2-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	98±11	0.13
25	1330	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	160±10	0.21
26	1348	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	46±2	0.06
27	1351	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	95±8	0.13
28	1385	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	110±6	0.15
29	1390	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	129±6	0.17
30	1394	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	382±55	0.51
31	1398	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	136±6	0.18
32	1402	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	524±2	0.70
33	1430	(E)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	116±1	0.16
34	1439	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	23±3	0.03
35	1446	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	71±1	0.09
36	1455	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	2046±142	2.75
37	1458	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	2994±238	4.02
38	1472	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	1161±166	1.56
39	1474	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	845±57	1.13
40	1488	2-Ethylhexyl acrylate	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	184	101±46	0.14
41	1513	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	107±10	0.14
42	1522	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	5818±156	7.81
43	1535	(E)-2-Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	140	309±65	0.41
44	1545	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	525±36	0.71
45	1574	2-Methyl propanoi cacid	C ₄ H ₈ O ₂	88	265±8	0.36

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 2. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
46	1577	5-Methylfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	66±4 ⁵⁾	0.09
47	1582	1,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	346±55	0.46
48	1591	Epi-bicyclosesquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	204	1578±821	2.12
49	1633	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	674±73	0.90
50	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	8172±349	10.97
51	1665	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	340±27	0.46
52	1668	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	212±18	0.28
53	1673	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	7596±274	10.20
54	1716	3-(Methylthio)propanol(Methionol)	C ₄ H ₁₀ OS	106	364±22	0.49
55	1734	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	95±11	0.13
56	1750	1,3-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	85±11	0.11
57	1761	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	88±7	0.12
58	1787	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	946±84	1.27
59	1797	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	272±1	0.37
60	1815	β-Phenethylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	337±14	0.45
61	1850	Hexanoicacid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	143±18	0.19
62	1861	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	434±13	0.58
63	1886	4-Ethyl-1,2-dimethoxybenzene	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166	161±26	0.22
64	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	12658±352	17.00
65	1923	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	83±4	0.11
66	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	538±91	0.72
67	1960	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	2362±142	3.17
68	1970	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	662±32	0.89
69	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	122±3	0.16
70	2020	γ-Nonanoic lactone	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	454±29	0.61
71	2033	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2570±185	3.45
72	2065	Octanoicacid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	172±19	0.23
73	2072	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	133±35	0.18
74	2091	3-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	124±9	0.17
75	2171	Nonanoicacid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	511±99	0.69
76	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	2277±117	3.06
77	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	38±3	0.05
78	2222	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	38±11	0.05
79	2260	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	735±147	0.99
80	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	149±11	0.20
81	2278	Decanoicacid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	225±72	0.30
82	2433	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	92±7	0.12
83	2481	Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	286±52	0.38
84	2495	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	54±13	0.07
85	2528	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	666±116	0.89
86	2576	N-Acetylphenethylamine	C ₁₀ H ₁₃ NO	163	697±69	0.94
Total					74472±724	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 3. KO-03의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	239±6 ⁵⁾	0.36
2	903	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1376±113	2.05
3	926	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	3575±66	5.32
4	1047	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	154±7	0.23
5	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	484±34	0.72
6	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	1403±117	2.09
7	1088	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	158±14	0.24
8	1100	2-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	66±8	0.10
9	1127	3-Methylbutylacetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	112±7	0.17
10	1186	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	81±7	0.12
11	1206	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	208±12	0.31
12	1216	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	474±52	0.71
13	1235	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	230±25	0.34
14	1239	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	39±4	0.06
15	1258	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	201±12	0.30
16	1261	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	1735±185	2.58
17	1271	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	99±2	0.15
18	1279	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	19±4	0.03
19	1281	1,2,4-Trimethylbenzene	C ₉ H ₁₂	120	81±13	0.12
20	1291	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128	61±6	0.09
21	1304	1-Octen-3-one	C ₈ H ₁₄ O	126	96±11	0.14
22	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	106±9	0.16
23	1326	(E)-2-Heptenal	C ₇ H ₁₂ O	112	184±21	0.27
24	1328	2-Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	147±11	0.22
25	1331	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	210±3	0.31
26	1349	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	51±0	0.08
27	1352	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	175±13	0.26
28	1385	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	145±1	0.22
29	1391	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	142	101±7	0.15
30	1395	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	347±33	0.52
31	1399	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	132±7	0.20
32	1403	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	560±14	0.83
33	1431	(E)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	109±11	0.16
34	1440	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	48±7	0.07
35	1447	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	68±3	0.10
36	1455	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	3285±53	4.89
37	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3117±111	4.64
38	1472	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	1429±86	2.12
39	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	944±45	1.40
40	1514	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	99±20	0.15
41	1523	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	6140±342	9.13
42	1536	(E)-2-Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	140	302±65	0.45
43	1546	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	398±81	0.59
44	1574	2-Methyl propanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	323±19	0.48
45	1578	5-Methylfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	100±22	0.15

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 3. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
46	1582	1,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	344±29 ⁵⁾	0.51
47	1592	Epi-bicyclosquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	204	220±80	0.33
48	1634	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	940±40	1.40
49	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	7684±172	11.43
50	1666	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	431±43	0.64
51	1669	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	88±23	0.13
52	1673	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	11181±376	16.63
53	1717	Methionol	C ₄ H ₁₀ OS	106	261±50	0.39
54	1734	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	125±4	0.19
55	1751	1,3-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	99±6	0.15
56	1762	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	100±4	0.15
57	1787	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	1067±64	1.59
58	1798	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	211±18	0.31
59	1815	β-Phenethylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	124±6	0.18
60	1851	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	214±16	0.32
61	1862	2-Methoxy phenol(Guaiacol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	548±23	0.82
62	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	3358±312	5.00
63	1924	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	77±4	0.11
64	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	401±28	0.60
65	1960	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	2195±147	3.27
66	1971	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	683±14	1.02
67	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	103±4	0.15
68	2021	γ-Nonanoic lactone	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	324±19	0.48
69	2033	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	1677±75	2.49
70	2066	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	190±27	0.28
71	2072	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	91±27	0.13
72	2091	3-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	146±12	0.22
73	2172	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	461±25	0.69
74	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	1702±50	2.53
75	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	31±1	0.05
76	2222	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	27±5	0.04
77	2260	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	709±92	1.05
78	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	145±9	0.22
79	2278	Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	257±38	0.38
80	2432	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	123±18	0.18
81	2481	Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	343±11	0.51
82	2495	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	76±7	0.11
83	2528	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	865±30	1.29
84	2576	N-Acetylphenethylamine	C ₁₀ H ₁₃ NO	163	194±10	0.29
Total					67230±1085	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 4. SO-02의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	868	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	366±7	0.31
2	903	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1602±48	1.36
3	925	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	2053±200	1.75
4	1047	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	382±43	0.33
5	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	250±21	0.21
6	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	278±16	0.24
7	1078	Dimethyl difulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	139±19	0.12
8	1087	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	446±29	0.38
9	1159	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	492±35	0.42
10	1186	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	188±3	0.16
11	1194	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	140±34	0.12
12	1207	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	173±16	0.15
13	1227	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	369±47	0.31
14	1234	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	203±2	0.17
15	1247	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	176±15	0.15
16	1255	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	522±4	0.44
17	1257	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	406±73	0.35
18	1273	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	204±33	0.17
19	1285	2-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	145±45	0.12
20	1293	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	198±4	0.17
21	1325	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	2032±24	1.73
22	1332	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	474±8	0.40
23	1341	6-Methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	126	70±3	0.06
24	1350	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	145±19	0.12
25	1388	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	150±12	0.13
26	1392	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	286±27	0.24
27	1398	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	98±1	0.08
28	1403	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	3006±119	2.56
29	1428	(E)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	188±22	0.16
30	1446	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	141±1	0.12
31	1453	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	9241±812	7.87
32	1458	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	3978±509	3.39
33	1471	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	1588±99	1.35
34	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	6909±448	5.89
35	1513	2,3,5-Trimethyl-6-ethyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	304±29	0.26
36	1521	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	7273±242	6.20
37	1543	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74	244±44	0.21
38	1569	2-Methyl propanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	6900±680	5.88
39	1587	Epi-bicyclosquiphellandrene	C ₁₅ H ₂₄	204	481±50	0.41
40	1628	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	7341±567	6.25
41	1642	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	8081±872	6.88
42	1663	Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	137±57	0.12
43	1668	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	38687±2285	32.95
44	1732	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	363±64	0.31

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 4. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
45	1759	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	136±10	0.12
46	1784	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	540±64	0.46
47	1795	3-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	347±55	0.30
48	1802	4-Methyl pentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	462±42	0.39
49	1846	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	2636±170	2.24
50	1859	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	1065±97	0.91
51	1905	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	278±32	0.24
52	1920	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	330±40	0.28
53	1954	Heptanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	119±11	0.10
54	1957	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	915±117	0.78
55	1967	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	264±20	0.22
56	2004	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	541±31	0.46
57	2029	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	688±119	0.59
58	2062	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	374±55	0.32
59	2070	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	73±11	0.06
60	2088	3-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	54±10	0.05
61	2168	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	119±8	0.10
62	2175	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	887±124	0.76
63	2196	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	23±3	0.02
64	2258	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	48±3	0.04
65	2268	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	51±11	0.04
66	2424	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	234±38	0.20
67	2492	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	62±19	0.05
68	2525	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	217±50	0.19
69	2551	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	91±12	0.08
Total					117402±1301	100.00

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 5. MC-03의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	903	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1860±95	0.87
2	925	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	632±58	0.30
3	1019	Methyl 2-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	110±11	0.05
4	1029	Methyl3-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	152±19	0.07
5	1046	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	500±62	0.23
6	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	310±47	0.15
7	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	190±34	0.09
8	1078	Dimethyl difulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	722±69	0.34
9	1087	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	246±36	0.12
10	1205	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	170±5	0.08
11	1214	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	860±71	0.40
12	1222	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	265±15	0.12
13	1235	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	816±61	0.38
14	1253	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	68±13	0.03
15	1258	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	428±48	0.20
16	1262	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	260±33	0.12
17	1270	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂ +	158	1411±110	0.66
		Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94		
18	1279	3-Methylbutyl 2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	126±12	0.06
19	1288	2-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	141±9	0.07
20	1291	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128	64±2	0.03
21	1296	3-Methylbutyl 3-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	181±20	0.08
22	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	2332±79	1.09
23	1330	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	1254±96	0.59
24	1348	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	571±28	0.27
25	1375	Dimethyltrisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	659±37	0.31
26	1385	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	868±39	0.41
27	1390	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	439±28	0.21
28	1395	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	387±23	0.18
29	1399	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	242±34	0.11
30	1402	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	8060±252	3.78
31	1447	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	578±57	0.27
32	1454	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	5159±367	2.42
33	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	5626±106	2.64
34	1462	2,6-Diethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1851±116	0.87
35	1472	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	296±34	0.14
36	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	22276±652	10.44
37	1513	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	1849±93	0.87
38	1522	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	13304±150	6.23
39	1545	Propanoicacid	C ₃ H ₆ O ₂	74	622±15	0.29
40	1571	2-Methylpropanoicacid	C ₄ H ₈ O ₂	88	5027±58	2.35
41	1581	2,3,5-Trimethyl-6-propylpyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	1392±65	0.65
42	1621	Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	136	369±40	0.17
43	1629	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	32618±619	15.28
44	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	8077±760	3.78

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 5. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
45	1669	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	1513±41	0.71
46	1671	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	50203±1377	23.52
47	1724	Benzyl methyl ketone	C ₉ H ₁₀ O	134	2011±92	0.94
48	1733	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	639±27	0.30
49	1742	Pentanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	547±28	0.26
50	1761	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	681±33	0.32
51	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	596±23	0.28
52	1798	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	1054±90	0.49
53	1806	4-Methyl pentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	1104±74	0.52
54	1821	1-Phenyl-2-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	767±59	0.36
55	1850	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	1565±100	0.73
56	1861	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	2438±104	1.14
57	1875	Benzylalcohol	C ₇ H ₈ O	108	2442±668	1.14
58	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	5035±166	2.36
59	1923	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	5302±222	2.48
60	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	547±38	0.26
61	1950	3-Hydroxy-2,6-dimethyl-4H-Pyran-4-one	C ₇ H ₈ O ₃	140	283±10	0.13
62	1959	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	3495±353	1.64
63	1970	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	1158±86	0.54
64	2008	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	1163±44	0.54
65	2032	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	1028±51	0.48
66	2037	3-Phenyl-2-propenal	C ₉ H ₈ O	132	1144±490	0.54
67	2065	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	504±95	0.24
68	2072	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	589±50	0.28
69	2171	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	716±192	0.34
70	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	475±43	0.22
71	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	131±34	0.06
72	2221	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	99±14	0.05
73	2260	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	91±12	0.04
74	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	214±18	0.10
75	2278	Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	155±42	0.07
76	2430	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	1215±81	0.57
77	2556	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	1588±13	0.74
Total					213478±3515	100.00

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 6. SW-03의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1453±92	1.22
2	904	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	936±86	0.79
3	926	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	12274±489	10.31
4	969	Ethyl 2-methylpropionate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	1220±89	1.02
5	1020	Methyl 2-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	52±3	0.04
6	1030	Methyl 3-methylbutanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	48±3	0.04
7	1048	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	81±3	0.07
8	1061	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	4321±218	3.63
9	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	2572±169	2.16
10	1087	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	62±5	0.05
11	1093	2-Methylpropyl 2-methylpropionate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	48±4	0.04
12	1100	2-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	29±4	0.02
13	1127	3-Methylbutylacetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	322±26	0.27
14	1177	2-Methylpropyl 2-methylbutanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	176±15	0.15
15	1206	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	99±5	0.08
16	1216	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	1453±23	1.22
17	1235	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	229±7	0.19
18	1239	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	202±14	0.17
19	1258	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	116±6	0.10
20	1262	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	51±10	0.04
21	1271	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	187±16	0.16
22	1280	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	690±61	0.58
23	1282	2-Methylbutyl-2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	297±29	0.25
24	1297	3-Methylbutyl3-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	569±37	0.48
25	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	779±16	0.65
26	1331	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	412±8	0.35
27	1339	Ethyl heptanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	53±6	0.04
28	1349	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	110±8	0.09
29	1352	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	174±9	0.15
30	1385	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	222±2	0.19
31	1391	2-Nonanone+pyrazines	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	102±2	0.09
32	1395	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	377±8	0.32
33	1399	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	83±3	0.07
34	1403	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	1387±9	1.16
35	1431	(E)-2-Octenal	C ₈ H ₁₄ O	126	78±3	0.07
36	1440	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	241±11	0.20
37	1447	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	124±4	0.10
38	1456	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	2194±144	1.84
39	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	2426±187	2.04
40	1473	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	405±22	0.34
41	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1920±57	1.61
42	1491	2-Ethenyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₈ N ₂	120	85±8	0.07
43	1514	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	207±5	0.17
44	1523	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	7560±105	6.35
45	1536	(E)-2-Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	140	155±14	0.13
46	1547	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74	145±10	0.12
47	1571	Ethyl 3-(methylthio)-propionate	C ₆ H ₁₂ O ₂ S	148	322±4	0.27

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 6. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
48	1573	2-Methyl propanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	2034±46	1.71
49	1578	5-Methyl furfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	106±3	0.09
50	1622	Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	136	145±9	0.12
51	1634	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	54±6	0.05
52	1645	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	6463±163	5.43
53	1666	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	3154±122	2.65
54	1669	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	160±8	0.13
55	1672	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	21654±224	18.18
56	1717	3-(methylthio)propanol	C ₄ H ₁₀ OS	106	198±6	0.17
57	1734	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	77±3	0.07
58	1762	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	431±22	0.36
59	1787	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	5836±386	4.90
60	1799	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	278±16	0.23
61	1815	β-Phenethylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	206±17	0.17
62	1851	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	185±21	0.16
63	1862	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	391±14	0.33
64	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	109±8	0.09
65	1879	2-Phenylethyl 2-methylpropionate	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192	87±18	0.07
66	1883	Ethyl 3-phenylpropionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	68±10	0.06
67	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	3781±199	3.17
68	1924	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	628±15	0.53
69	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	1257±89	1.05
70	1960	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	1063±137	0.89
71	1970	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	441±92	0.37
72	1981	β-Ethylphenethyl alcohol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	105±22	0.09
73	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	412±2	0.35
74	2021	γ-Nonanoic lactone	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	196±46	0.16
75	2033	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	2085±230	1.75
76	2055	Ethyltetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	232±41	0.19
77	2065	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	108±25	0.09
78	2072	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	288±42	0.24
79	2169	4-Allyl-2-methoxyphenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	293±39	0.25
80	2171	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	227±27	0.19
81	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	1703±116	1.43
82	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	107±16	0.09
83	2222	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	116±22	0.10
84	2262	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	5477±945	4.60
85	2278	Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	337±17	0.28
86	2432	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	297±22	0.25
87	2445	Methyl oleate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	138±17	0.12
88	2462	Ethyl octadecanoate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	183±34	0.15
89	2481	(Z)-Ethyl-9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	3740±410	3.14
90	2490	(E)-Ethyl-9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	164±20	0.14
91	2496	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	274±38	0.23
92	2529	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	5700±674	4.79
93	2557	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	467±37	0.39
94	2598	N-Acetylphenethylamine	C ₁₀ H ₁₃ NO	163	601±80	0.50
Total					119104±4402	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 7. JB-1.5의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	904	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	1943±56	1.57
2	926	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	2495±36	2.02
3	1035	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	1205±40	0.97
4	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	292±27	0.24
5	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	170±9	0.14
6	1087	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	229±20	0.19
7	1125	Propyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	384±18	0.31
8	1129	1-Methyl propyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	525±46	0.43
9	1188	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	820±188	0.66
10	1206	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	134±18	0.11
11	1216	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	463±16	0.37
12	1221	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	450±32	0.36
13	1233	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	2291±124	1.85
14	1238	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	111±3	0.09
15	1257	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	756±13	0.61
16	1261	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	750±58	0.61
17	1268	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	292±25	0.24
18	1271	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	486±7	0.39
19	1287	2-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	179±36	0.14
20	1290	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	128	229±36	0.19
21	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	2189±8	1.77
22	1331	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	817±30	0.66
23	1349	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	300±17	0.24
24	1385	2-Ethyl-6-methylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	117±3	0.09
25	1387	2-Ethylhexyl acetate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	4405±862	3.56
26	1390	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	507±20	0.41
27	1394	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	554±44	0.45
28	1398	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	204±30	0.16
29	1402	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	4449±141	3.60
30	1446	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	418±42	0.34
31	1451	2-Ethyl-1-hexyl propionate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	1394±301	1.13
32	1456	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	2440±238	1.97
33	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	8726±283	7.06
34	1462	2,6-Diethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1196±225	0.97
35	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	7366±224	5.96
36	1495	2-Ethylhexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	615±62	0.50
37	1513	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	632±9	0.51
38	1522	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	8926±443	7.22
39	1546	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74	578±78	0.47
40	1574	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	436±56	0.35
41	1581	2,3,5-Trimethyl-6-propylpyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	415±10	0.34
42	1631	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	19442±264	15.73
43	1643	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	4741±301	3.84
44	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	3149±1018	2.55
45	1673	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	12950±443	10.48

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 7. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
46	1716	Methionol(3-(methylthio)propanol)	C ₄ H ₁₀ OS	106	240±37	0.19
47	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	156±9	0.13
48	1798	2-Phenylpropenal	C ₉ H ₈ O	132	231±5	0.19
49	1806	4-Methyl pentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	1935±53	1.57
50	1814	1-Phenyl-2-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	1362±42	1.10
51	1850	Hexanoicacid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	710±57	0.57
52	1861	2-Methoxy phenol(Guaiacol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	2364±97	1.91
53	1876	Benzylalcohol	C ₇ H ₈ O	108	503±8	0.41
54	1883	Ethyl 3-phenylpropionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	95	217±4	0.18
55	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	1105±44	0.89
56	1923	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	1172±20	0.95
57	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	154±11	0.12
58	1950	3-Hydroxy-2,6-dimethyl-4H-Pyran-4-one	C ₇ H ₈ O ₃	140	345±15	0.28
59	1959	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	6392±30	5.17
60	1970	2-Acetylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	255±28	0.21
61	2008	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	1207±14	0.98
62	2065	Octanoicacid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	331±61	0.27
63	2072	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	C ₁₃ H ₁₆ O	188	148±15	0.12
64	2084	4-Methylphenol	C ₇ H ₈ O	108	109±5	0.09
65	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	494±24	0.40
66	2260	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	114±8	0.09
67	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	140±7	0.11
68	2278	Decanoicacid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	591±104	0.48
69	2396	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	927±20	0.75
70	2432	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	201±41	0.16
71	2441	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	796±11	0.64
72	2528	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	247±37	0.20
Total					123613±2662	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 8. 전통된장에서 확인된 휘발성 향기성분의 관능기별 분류 및 상대적 비율

Functional groups	KO-01 ¹⁾		KO-02		KO-03	
	Num.	%Area	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	9	28.7	9	15.7	9	25.2
Alcohols	20	23.9	17	36.9	17	24.2
Aldehydes	13	27.6	16	25.5	16	28.1
Esters	17	5.3	18	7.5	18	9.5
Ketones	6	4.5	6	4.5	6	4.5
N-Compounds	11	7.1	12	4.7	12	4.8
Miscellaneous	5	2.9	8	5.2	6	3.7
Total	81	100	86	100	84	100

Functional groups	SO-02		MC-03		SW-03		JB-1.5	
	Num.	%Total	Num.	%Total	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	13	56.9	13	47.1	11	23.3	10	32.0
Alcohols	12	8.7	13	9.4	15	21.5	16	17.9
Aldehydes	9	16.8	12	13.3	14	15.2	10	14.0
Esters	12	2.4	14	1.7	34	32.6	13	7.1
Ketones	7	1.8	6	3.2	3	1.1	6	9.2
N-Compounds	10	11.8	12	22.1	13	5.9	14	16.7
Miscellaneous	6	1.6	7	3.2	4	0.4	3	3.1
Total	69	100	77	100	94	100	72	100

나. 공장산 된장의 휘발성 향기성분 분석

공장산 된장의 향기특성을 확인하기 위하여 휘발성 향기성분을 SPME방법으로 추출하고 GC/MS로 분석하여 나타난 chromatogram은 [그림 2]에 도식하였고, 확인된 휘발성 향기성분의 조성비율은 [표 9]에서 [표 12]에, 휘발성 향기성분의 관능기별 상대적 비율은 [표 13]에 나타내었다.

공장산 된장에서 확인된 주요 휘발성 향기성분으로는 ethanol이 많은 부분을 차지하는 것으로 확인되었으며, ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, ethyl linoleate 등 구수한 냄새성분에 기여하는 고분자 지방산 ester류가 확인되었다. 전통 된장에서와 마찬가지로 대두 중 lignin 유래의 phenolic carboxylic acid 가열분해산물로 알려진 2-methoxyphenol, 4-ethyl-2-methoxyphenol, 2-methoxy-4-vinyl phenol 등의 phenolic 화합물들이 확인되었다. 전통된장에서 많은 비율을 차지한 acid류는 0.37~ 6.45%로 낮은 비율을 나타내었다.

DS-01에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 62종으로 ester류가 29종(47.7%), alcohol류가 10종(44.8%), acid류 및 aldehyde류가 각각 7종(2.3%), 질소화합물이 5종(1.0%), ketone류와 기타 화합물이 각각 2종(1.8%, 0.1%)이었다. 주요 휘발성 향기성분은 ethanol(40.4%), ethyl linoleate, ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, ethyl linolenate 등의 순이었으며, 4-Vinyl phenol, maltol, benzacetaldehyde, 2-methoxy-4-vinylphenol, 3-methyl butanoic acid가 1~2% 수준으로 확인되었다.

DS-02에서 확인된 향기성분은 총 47종이었으며 ethyl linoleate, ethyl hexadecanoate, ethyl oleate, ethylbenzoate, ethyl linolenate 등의 ester류가 26종(57.2%)으로 대부분을 차지하였다. 그 다음으로 상당한 수준으로 함유된 alcohol류는 10종이 확인되었으며, ethanol이 36.4%로 대부분을 차지하였다. Pyrazine류와 같은 질소화합물들은 확인되지 않았으며, acid류, ketone류, 기타 화합물이 0.4~1.1%를 나타내었다.

CJ-01에서 확인된 휘발성 향기성분은 총 59종으로 ester류 20종(9.7%), alcohol류(71.3%), acid류와 질소화합물이 각각 8종(6.5%, 5.2%), aldehyde류 6종(5.0%), ketone류와 기타화합물이 각각 3종(2.1%, 0.2%)으로 구성되었다. Alcohol류의 대부분은 ethanol이었으며, 전체의 60.5%로 확인되었다. 그 외 주요 향기성분으로는 2-methoxy-4-vinylphenol, ethyl hexadecanoate, 3-methyl butanoic acid, ethyl linoleate, benzacetaldehyde, tetramethyl pyrazine, 4-vinylphenol 등이었다.

CJ-02에서 확인된 주요 휘발성 향기성분은 ethanol, 2-methoxy-4-vinylphenol, benzacetaldehyde, ethyl hexadecanoate, tetramethyl pyrazine, 3-methyl butanoic acid, ethyl linoleate 등으로 총 55종이 확인되었다. CJ-01과 마찬가지로 대부분이 alcohol류로 구성되어 전체의 71.5%(16종)를 차지하였으며, ester류가 8.0%(14종), aldehyde류가 6.5%(5종) 질소화합물 6종(4.3%), ketone류 1.9%(5종)의 순이었으며, 기타화합물이 2.7%(4종) 확인되었다.

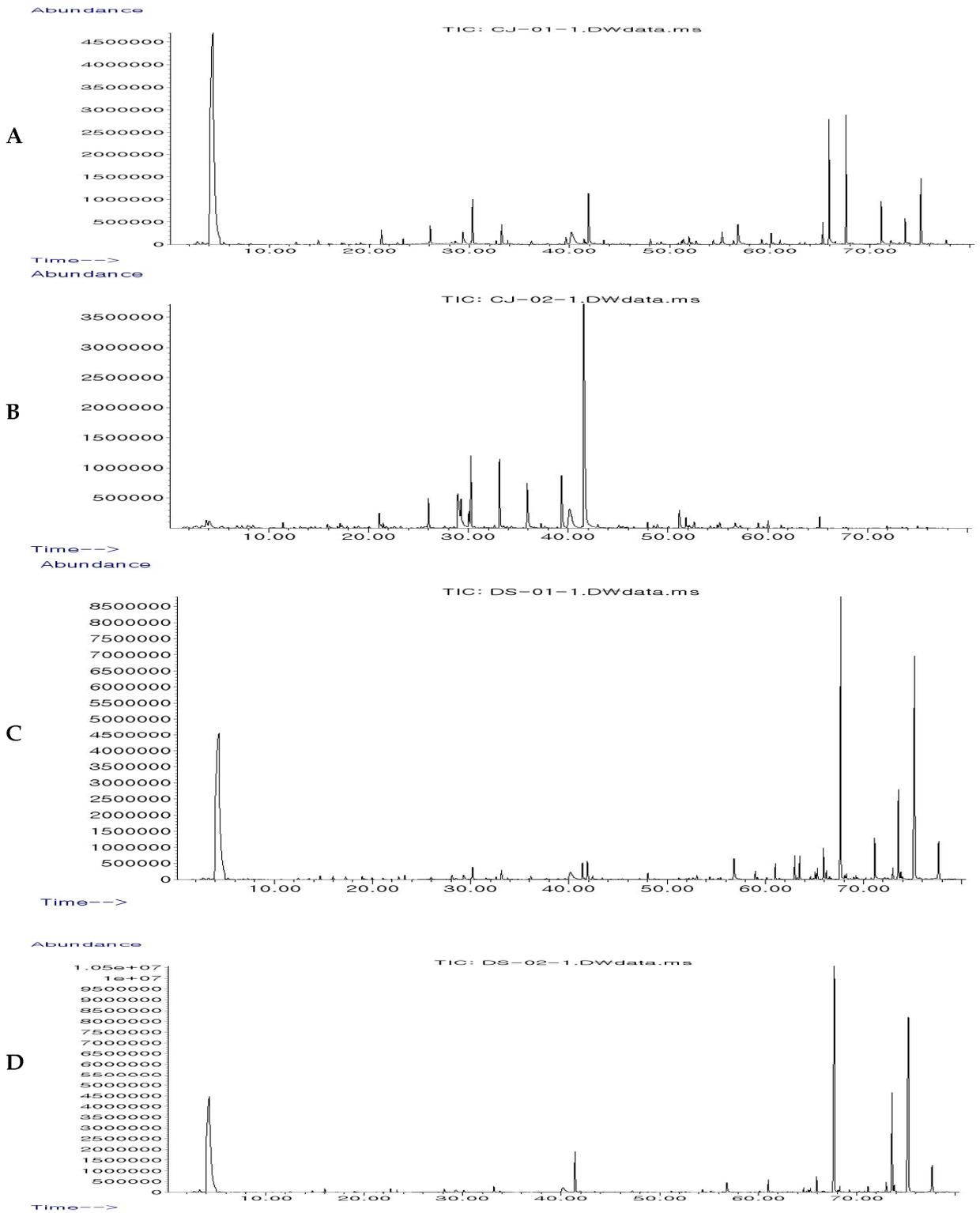


그림 2. 공장산 된장의 휘발성 향기성분 GC/MS 크로마토그램 (A; DS-01, B; DS-02, C; CJ-01, D; CJ-02).

표 9. DS-01의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	868	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	504±88	0.15
2	902	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	329±72	0.10
3	945	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	134913±9952	40.43
4	1047	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	128±27	0.04
5	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	223±30	0.07
6	1075	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	105±10	0.03
7	1139	Ethylpentanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	79±5	0.02
8	1204	3-Methyl-2-butenal	C ₅ H ₈ O	84	69±3	0.02
9	1214	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	692±58	0.21
10	1234	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	44±5	0.01
11	1238	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	648±55	0.19
12	1260	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	477±56	0.14
13	1287	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	549±53	0.16
14	1323	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	258±30	0.08
15	1338	Ethyl heptanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	100±8	0.03
16	1350	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	537±56	0.16
17	1401	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	367±28	0.11
18	1439	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	870±60	0.26
19	1445	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	186±5	0.06
20	1459	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	1260±98	0.38
21	1472	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	223±13	0.07
22	1474	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2066±55	0.62
23	1512	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	433±15	0.13
24	1522	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	1923±100	0.58
25	1541	Ethyl nonanoate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	110±20	0.03
26	1570	Ethyl 3-(methylthio)-propionate	C ₆ H ₁₂ O ₂ S	148	145±16	0.04
27	1573	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	628±85	0.19
28	1620	Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	136	135±12	0.04
29	1633	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	157±20	0.05
30	1643	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	4689±150	1.41
31	1665	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	2806±133	0.84
32	1668	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	193±3	0.06
33	1673	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	3671±178	1.10
34	1683	Diethyl succinate	C ₈ H ₁₄ O ₄	174	539±39	0.16
35	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	1046±66	0.31

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 9. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
36	1798	2-Phenyl propenal	C ₉ H ₈ O	132	128±39	0.04
37	1847	Ethyl dodecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	247±18	0.07
38	1861	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	148±25	0.04
39	1883	Ethyl 3-phenylpropionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	697±57	0.21
40	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	481±45	0.14
41	1926	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	339±73	0.10
42	1959	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	5457±316	1.64
43	2008	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	364±81	0.11
44	2032	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	301±39	0.09
45	2054	Ethyltetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	2426±274	0.73
46	2065	Octanoicacid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	233±23	0.07
47	2156	Ethylpentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	400±53	0.12
48	2171	Nonanoicacid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	1009±231	0.30
49	2178	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	1541±157	0.46
50	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	4346±474	1.30
51	2221	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	353±30	0.11
52	2263	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	56232±6948	16.85
53	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	875±109	0.26
54	2361	Ethylheptadecanoate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	180±20	0.05
55	2396	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	6499±624	1.95
56	2433	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	583±97	0.17
57	2462	Ethyl octadecanoate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	2047±427	0.61
58	2482	(Z)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	17028±2801	5.10
59	2490	(E)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	1376±241	0.41
60	2496	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	420±72	0.13
61	2531	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	59869±9067	17.94
62	2598	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	8980±1571	2.69
Total					333657±4008	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 10. DS-02의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	% Total
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	1252±170	0.37
2	903	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	198±28	0.06
3	941	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	122467±3057	36.37
4	1139	Ethylpentanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	62±10	0.02
5	1215	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	454±35	0.13
6	1235	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	51±10	0.02
7	1239	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	1023±176	0.30
8	1261	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	47±1	0.01
9	1338	Ethyl heptanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	132±23	0.04
10	1351	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	877±24	0.26
11	1440	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	817±119	0.24
12	1459	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	1267±171	0.38
		1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128		
13	1472	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	559±1	0.17
14	1523	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	1896±248	0.56
15	1542	Ethyl nonanoate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	93±18	0.03
16	1621	Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	136	80±16	0.02
17	1645	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	4532±67	1.35
18	1665	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	10938±836	3.25
19	1668	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	241±32	0.07
20	1674	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	424±26	0.13
21	1683	Diethyl succinate	C ₈ H ₁₄ O ₄	174	122±8	0.04
22	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	155±11	0.05
23	1847	Ethyl dodecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	273±56	0.08
24	1862	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	87±6	0.03
25	1882	Ethyl 3-phenylpropionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	61±6	0.02
26	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	815±20	0.24
27	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	485±43	0.14
28	1959	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	3871±272	1.15
29	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	84±5	0.03
30	2032	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	381±26	0.11
31	2055	Ethyl tetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	2368±292	0.70
32	2065	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	183±31	0.05
33	2156	Ethyl pentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	747±67	0.22
34	2171	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	629±23	0.19
35	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	828±49	0.25
36	2199	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	3456±281	1.03
37	2222	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	217±8	0.06
38	2265	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	65591±3526	19.48
39	2285	Ethyl 9-hexadecenoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	1075±101	0.32
40	2361	Ethyl heptadecanoate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	210±6	0.06
41	2396	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	1244±141	0.37
42	2462	Ethyl octadecanoate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	2353±97	0.70
43	2483	(Z)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	25534±236	7.58
44	2490	(E)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	1767±17	0.52
45	2496	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	263±38	0.08
46	2532	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	68339±594	20.29
47	2598	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	8200±92	2.44

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 11. CJ-01의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	872	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	420±31	0.21
2	907	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	298±50	0.15
3	944	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	123156±2297	60.49
4	1050	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	178±11	0.09
5	1081	Dimethyldifulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	106±20	0.05
6	1218	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	695±33	0.34
7	1237	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	127±5	0.06
8	1241	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	92±20	0.05
9	1260	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	184±7	0.09
10	1263	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	167±34	0.08
11	1325	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	1940±4	0.95
12	1333	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	94±2	0.05
13	1353	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	223±14	0.11
14	1403	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	2159±10	1.06
15	1447	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	296±51	0.15
16	1460	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	2456±107	1.21
17	1474	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	217±8	0.11
18	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	5206±150	2.56
19	1514	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	401±23	0.20
20	1524	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	2705±111	1.33
21	1574	2-Methylpropanoicacid	C ₄ H ₈ O ₂	88	464±17	0.23
22	1622	Methyl benzoate	C ₈ H ₈ O ₂	136	97±6	0.05
23	1634	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	942±31	0.46
24	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	5374±222	2.64
25	1666	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	589±61	0.29
26	1669	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	293±22	0.14
27	1674	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	7627±73	3.75
28	1762	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	57±2	0.03
29	1787	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	617±59	0.30
30	1848	Ethyl dodecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	32±3	0.02
31	1851	2-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	969±51	0.48
32	1862	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	951±32	0.47
33	1909	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	592±17	0.29
34	1924	Benzeneacetonitrile	C ₈ H ₇ N	117	278±19	0.14
35	1927	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	1426±233	0.70

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 11. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
36	1950	3-Hydroxy-2,6-dimethyl-4H-Pyran-4-one	C ₇ H ₈ O ₃	140	526±54	0.26
37	1960	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	3520±392	1.73
38	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	673±18	0.33
39	2032	4-Ethyl-2-methoxyphenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	1147±135	0.56
40	2038	3-Phenyl-2-propenal	C ₉ H ₈ O	132	182±32	0.09
41	2055	Ethyltetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	239±10	0.12
42	2065	Octanoicacid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	109±17	0.05
43	2156	Ethylpentadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	44±5	0.02
44	2171	Nonanoicacid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	149±12	0.07
45	2179	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	1959±140	0.96
46	2198	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	11365±737	5.58
47	2222	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	172±22	0.08
48	2261	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	8632±1863	4.24
49	2271	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	86±10	0.04
50	2284	Ethyl 9-hexadecenoate	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	82±1	0.04
51	2396	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	4334±210	2.13
52	2431	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	418±70	0.21
53	2441	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	128±4	0.06
54	2461	Ethyl octadecanoate	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	115±3	0.06
55	2481	(Z)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	1939±126	0.95
56	2490	(E)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	186±27	0.09
57	2495	Methyl linoleate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	110±11	0.05
58	2528	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	5673±242	2.79
59	2597	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	378±11	0.19
Total					203594±2230	100

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 12. CJ-02의 휘발성 향기성분

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
1	870	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	304±11	0.37
2	904	2-Methyl butanal+3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	343±34	0.41
3	932	Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	50376±1452	60.85
4	1048	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	84±3	0.10
5	1078	Dimethyldifulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	76±9	0.09
6	1107	2-Methyl propanol	C ₄ H ₁₀ O	74	49±7	0.06
7	1155	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	32±3	0.04
8	1214	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	722±20	0.87
9	1237	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	46±6	0.06
10	1241	Ethyl hexanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	52±6	0.06
11	1259	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	42±5	0.05
12	1262	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	133±25	0.16
13	1287	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	144±6	0.17
14	1324	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	306±51	0.37
15	1331	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	26±4	0.03
16	1343	6-Methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	126	67±4	0.08
17	1350	Ethyl 2-hydroxypropionate	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	80±1	0.10
18	1398	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	54±1	0.06
19	1402	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	448±28	0.54
20	1440	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	38±3	0.05
21	1446	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	33±3	0.04
22	1458	Acetic acid+1-octen-3-ol	C ₂ H ₄ O ₂	60	1972±269	2.38
23	1471	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	350±28	0.42
24	1474	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	2681±60	3.24
25	1494	2-Ethylhexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	62±15	0.07
26	1512	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	86±4	0.10
27	1522	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	944±20	1.14
28	1571	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	254±19	0.31
29	1629	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	1477±126	1.78
30	1642	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	3252±315	3.93
31	1664	Ethylbenzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	180±18	0.22
32	1666	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	304±13	0.37
33	1671	3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	2191±167	2.65
34	1714	3-(Methylthio)propanol	C ₄ H ₁₀ OS	106	60±8	0.07
35	1784	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	49±0	0.06
36	1812	2-Phenylethanol acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	40±5	0.05
37	1846	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	86	278±18	0.34
38	1859	2-Methoxy phenol(Guaiacol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	279±6	0.34
39	1873	Benzylalcohol	C ₇ H ₈ O	108	237±49	0.29
40	1905	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	586±40	0.71

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 12. 계속

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	Area ⁴⁾	%Total
41	1924	2-Phenyl-2-butenal	C ₁₀ H ₁₀ O	146	493±51	0.60
42	1948	3-Hydroxy-2,6-dimethyl-4H-Pyran-4-one	C ₇ H ₈ O ₃	140	38±3	0.05
43	1957	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone	C ₆ H ₆ O ₃	126	1268±222	1.53
44	2004	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	498±24	0.60
45	2029	4-Ethyl-2-methoxy phenol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	114±7	0.14
46	2052	Ethyltetradecanoate	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	51±11	0.06
47	2175	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	80±4	0.10
48	2195	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	4663±568	5.63
49	2219	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	120±14	0.15
50	2258	Ethyl hexadecanoate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	2786±419	3.37
51	2392	4-Vinylphenol	C ₈ H ₈ O	120	1056±139	1.27
52	2425	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	32±5	0.04
53	2477	(Z)-Ethyl 9-octadecenoate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	616±105	0.74
54	2525	Ethyl linoleate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	2149±288	2.60
55	2594	Ethyl linolenate	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	88±16	0.11
Total					82790±3316	100.00

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Area of TIC/10,000, ⁵⁾Mean±standard deviation (n=3).

표 13. 공장산 된장에서 확인된 휘발성 향기성분의 관능기별 분류 및 상대적 비율

Functional groups	SCC-01(DS-01)		SCC-02(DS-02)		HCC-01(CJ-01)		HVV-02(CJ-02)	
	Num.	%Total	Num.	%Total	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	7	2.3	3	0.4	8	6.5	5	5.1
Alcohols	10	44.8	10	38.6	11	71.3	16	71.5
Aldehydes	7	2.3	5	2.3	6	5.0	5	6.5
Esters	29	47.7	26	57.2	20	9.7	14	8.0
Ketones	2	1.8	1	1.1	3	2.1	5	1.9
N-Compounds	5	1.0	-	-	8	5.2	6	4.3
Miscellaneous	2	0.1	2	0.4	3	0.2	4	2.7
Total	62	100	47	100	59	100	55	100

제 2 절 Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출

1. 연구수행 방법

가. 지표 향기성분 도출

(1) 시료

전통된장의 화학적 지표를 선정하기 위하여 수집된 균주별로 제조된 콩발효물 중 관능적 특성이 전통된장과 유사하여 선정된 시료(미접종, *B. subtilis* 접종, *Aspergillus sp.* 접종, DD-N 접종)를 제공받아 휘발성 향기성분 분석에 사용하였다.

(2) 실험방법

Prototype 전통된장의 휘발성 향기성분 분석방법과 동일하게 자동화된 SPME-GC-MSD법으로 수행하였다.

나. 지표 향기성분의 추출 및 분석 방법 최적화

(1) 시료

B. subtilis 접종 시료를 대상으로 지표 향기성분의 추출 및 분석 방법을 최적화 실험을 실시하였다.

(2) 실험방법

자동화된 SPME법에 의한 휘발성 향기성분의 최적 추출조건을 수립하기 위하여 다양한 조건들(시료량, incubation 온도, 교반속도, 추출시간)을 사용하여 휘발성 향기성분의 추출효율을 비교하였으며, 예비실험을 거쳐 최적의 추출조건을 수립하였다. 지표성분의 추출을 위해 fiber는 C3-C20(MW 40-275)으로 다양한 범위의 분석물질이 흡착 가능하여 휘발성 향기성분 분석에 적합한 DVB/PDMS/CAR(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane 30/50 μm , 1 cm, Supelco) fiber를 사용하였다. 추출된 휘발성 향기성분의 분석은 GC/MS를 이용하여 실시하였다.

다. 선정 균주 배양 모델 시스템에서의 지표 향기성분 변화 추적

(1) 시료

균주배양 시료(세균 배양 10종, 곰팡이 배양 2종, 세균 및 곰팡이 배양 10종)는 주관기관으로부터 제조된 것을 제공받아 지표성분 분석을 위해 사용하였다.

(2) 실험방법

지표 향기성분의 추출 및 분석 방법에 따라 수행하였다.

표 14. 균주 배양 시료 목록

공접종 시료	ID	시료명
세균	1	SW-03-7
	2	SW-03-9
	3	KO-SM-11
	4	DJ-KO-500
	5	DJ-DD-500
	6	KO-03-01
	7	SW-M-14
	8	SW-03-4
	9	KO-SM-11
	10	SW-03-13
곰팡이	M1	DJ-SW-03-1(<i>Eurotium</i> sp.)
	M2	DJ-KO-03-5(<i>Aspergillus</i> sp.)
곰팡이 M1 + 세균	M1-01	SW-03-7+ <i>Eurotium</i> sp.
	M1-02	SW-03-9+ <i>Eurotium</i> sp.
	M1-03	KO-SM-11+ <i>Eurotium</i> sp.
	M1-04	DJ-KO-500+ <i>Eurotium</i> sp.
	M1-05	DJ-DD-500+ <i>Eurotium</i> sp.
곰팡이 M2 + 세균	M2-01	SW-03-7+ <i>Aspergillus</i> sp.
	M2-02	SW-03-9+ <i>Aspergillus</i> sp.
	M2-03	KO-SM-11+ <i>Aspergillus</i> sp.
	M2-04	DJ-KO-500+ <i>Aspergillus</i> sp.
	M2-05	DJ-DD-500+ <i>Aspergillus</i> sp.

2. 연구수행 결과

가. 지표 향기성분 도출

지표 향기성분 도출을 위해 균주별 공발효물의 휘발성 향기성분을 분석한 결과 GC/MS chromatogram은 그림 3과 같으며, 향기성분 조성은 표 15에 나타내었다.

균주 미접종 시료에서는 가열에 의해 분해되어 나타날 수 있는 2-pentyl furan 등이 확인되었으며, 카라멜 향기특성을 갖는 maltol 등이 확인되었다. *B. subtilis* 접종 시료에서는 주로 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine 등 pyrazine류가 상당량 확인되었으며, benzaldehyde는 4가지 시료 중 가장 높은 peak area를 나타내었다. *Aspergillus* sp. 접종 시료에서는 3-methyl butanoic acid, butanoic acid 등 acid류가 많이 확인되었으며, pyrazine류는 상대적으로 낮게 나타났다. DD-N 접종 시료도 *Aspergillus* sp. 접종 시료와 유사한 경향으로 확인되었다(표 15).

된장의 주요 향기성분으로는 고소한 향으로 된장의 풍미에 긍정적으로 작용하는 tri- 및 tetramethyl pyrazine, 2,5-dimethyl pyrazine 등 당과 아미노산으로부터 마이알 반응에 의해 생성되는 pyrazine류가 알려져 있으며, 삶은 대두, 훈연향, 된장향을 나타내는 대두 중 lignin 유래의 phenolic carboxylic acid 가열분해산물로 알려진 2-methoxyphenol(guaiacol), 4-ethyl-2-methoxyphenol(4-ethyl guaiacol), 2-methoxy-4-vinyl phenol 등의 phenol성 화합물들이 있다. 재래된장의 쿼퀴한 냄새의 원인물질은 butanoic acid(쿼퀴한 불쾌취), 2-pentyl furan(산패취), benzeneacetaldehyde(대두단백유래 불쾌취, 고린향) 등으로 보고되어 있으며, 된장 특유의 고린내는 2/3-methyl butanoic acid 등에 기인한다.

따라서 실험결과와 문헌조사 결과를 토대로 본 연구에서는 된장의 향기특성에 긍정적인 영향을 미치는 pyrazine류 중 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, benzaldehyde와 된장 특유의 고린내는 내는 3-methyl butanoic acid를 지표후보물질로 선정하였으며, 균주배양 모델 시스템 선정을 위해 활용하였다.

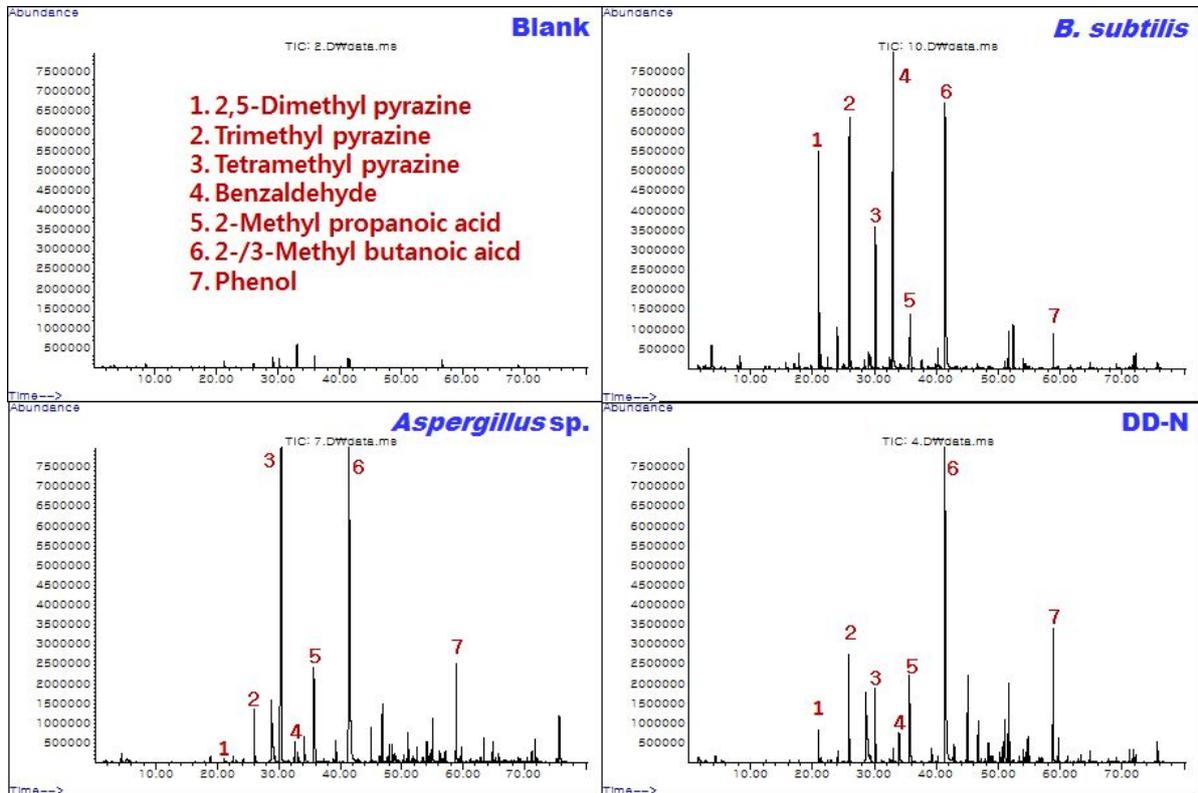


그림 3. 미생물별 콩발효물의 휘발성 향기성분 크로마토그램.

표 15. 미생물별 콩발효물의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/100,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	A ⁴⁾	B	C	D
1	869	Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	88	52.7	0.0	0.0	0.0
2	900	2-/3-Methyl butanal	C ₅ H ₁₀ O	86	11.7	649.3	0.0	0.0
3	1069	Dimethyl disulfide	C ₂ H ₆ S ₂	94	0.0	60.8	0.0	0.0
4	1079	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	84.2	201.3	0.0	0.0
5	1178	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	0.0	40.9	0.0	0.0
6	1206	3-Methyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	0.0	32.2	0.0	0.0
7	1225	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	19.3	85.8	15.1	14.1
8	1251	Pentanol	C ₅ H ₁₂ O	88	23.1	100.2	0.0	0.0
9	1263	Methyl pyrazine	C ₅ H ₈ N ₂	94	33.2	256.4	49.2	21.3
10	1277	2-Ethyl pyridine	C ₇ H ₉ N	107	0.0	25.1	0.0	0.0
11	1280	2-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	0.0	32.4	0.0	0.0
12	1280	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.0	0.0	0.0	113.4
13	1295	2-Ethyl-6-methylpyridine	C ₈ H ₁₁ N	121	0.0	62.8	0.0	0.0
14	1317	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	89.0	3651.4	548.1	56.7
15	1324	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.0	241.7	78.8	13.0
16	1342	2,3-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	0.0	184.9	46.9	114.0
17	1368	Dimethyl trisulfide	C ₂ H ₆ S ₃	126	0.0	615.0	180.9	55.4
18	1380	2-Ethyl-5-methyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.0	32.0	23.7	0.0
19	1385	2-Ethyl-6-methyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	0.0	69.4	34.5	0.0
20	1398	Trimethylpyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	70.2	4575.3	1806.4	881.2
21	1441	3-Ethyl-2,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.0	136.6	0.0	0.0
22	1453	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	206.0	464.1	3373.1	2739.5
23	1457	2-Ethyl-3,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	0.0	216.9	103.8	118.4
24	1470	Tetramethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	146.9	2052.1	1101.2	9418.3
25	1485	2-Ethenyl-6-methyl pyrazine	C ₇ H ₈ N ₂	120	0.0	0.0	42.1	0.0
26	1491	2-Ethyl hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	22.0	0.0	0.0	0.0
27	1508	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	0.0	158.1	70.3	321.1
28	1517	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	394.2	6010.5	241.9	190.9
29	1538	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74	0.0	60.4	678.9	518.6
30	1541	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	0.0	0.0	0.0	90.6
31	1565	2-Methyl propanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.0	1287.7	2364.5	2581.5
32	1568	(E,E)-3,5-Octadien-2-one	C ₈ H ₁₂ O	124	168.4	0.0	0.0	0.0
33	1591	2-(2-Methylpropyl)-3,5,6-trimethyl pyrazine	C ₁₁ H ₁₈ N ₂	178	0.0	0.0	0.0	53.3
34	1596	Benzonitrile	C ₇ H ₅ N	103	0.0	141.1	0.0	0.0
35	1627	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	0.0	0.0	263.6	362.1
36	1644	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	0.0	324.5	98.2	17.1
37	1665	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	141.5	0.0	0.0	0.0
38	1665	2-/3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	0.0	7052.1	13799.5	14922.0
39	1692	γ-Hexalactone	C ₆ H ₁₀ O ₂	114	0.0	0.0	266.1	56.7
40	1731	N-(2-Methylpropyl)acetamide	C ₆ H ₁₃ NO	115	0.0	0.0	2069.4	529.9
41	1762	Acetamide	C ₂ H ₅ NO	59	0.0	79.8	904.5	1508.4
42	1794	3-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	0.0	40.8	340.3	284.2
43	1802	2-Methyl propanamide	C ₄ H ₉ NO	87	0.0	0.0	126.0	0.0
44	1806	Propanamide	C ₃ H ₇ NO	73	0.0	0.0	92.1	77.1
45	1831	2-Methyl-4-pentenoic acid	C ₆ H ₁₀ O ₂	114	0.0	0.0	158.8	132.4

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾A: Blank, B: *B. subtilis*, C: *Aspergillus* sp., D: DD-N.

표 15. 계속

(단위 : Peak area/100,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	A ⁴⁾	B	C	D
46	1845	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	11.8	0.0	0.0	0.0
47	1846	2-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	6.8	152.6	832.4	627.3
48	1858	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	0.0	549.7	1198.8	65.6
49	1863	N-(3-Methylbutyl)acetamide	C ₇ H ₁₅ NO	129	0.0	0.0	322.2	91.7
50	1873	2-Furanmethanol	C ₇ H ₈ O	108	16.6	0.0	0.0	259.2
51	1904	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.0	0.0	203.9	312.1
52	1914	3-Methyl butanamide	C ₅ H ₁₁ NO	101	0.0	0.0	156.7	121.8
53	1919	Benzyl nitrile	C ₈ H ₇ N	117	0.0	31.9	399.2	23.0
54	1958	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	204.9	0.0	114.6	88.0
55	1967	2-Acethylpyrrole	C ₆ H ₇ NO	109	0.0	0.0	83.1	197.2
56	2002	Phenol	C ₆ H ₆ O ₂	94	0.0	533.2	2113.3	1560.1
57	2025	Pantolactone	C ₆ H ₁₀ O ₃	130	0.0	0.0	342.4	213.3
58	2166	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.0	0.0	154.8	0.0
59	2167	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	0.0	92.3	0.0	268.7
60	2268	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	0.0	0.0	30.0	0.0
61	2317	2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206	33.4	0.0	0.0	0.0
62	2424	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	0.0	202.6	199.1	349.6
63	2437	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	0.0	200.0	91.5	46.2
64	2547	Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	0.0	159.4	448.4	1001.2

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾A: Blank, B: *B. subtilis*, C: *Aspergillus* sp., D: DD-N.

나. 지표 향기성분의 추출 및 분석 방법 최적화

지표 향기성분의 추출은 PALDVB/PDMS/CAR fiber를 사용하여 70℃에서 300 rpm으로 교반하면서 20분 동안 incubation한 후 40분간 시료 내의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. 휘발성 향기성분이 포집된 SPME fiber는 자동으로 GC injector에 주입되어 splitless mode에서 3분간 휘발성분을 탈착하였다. 지표 향기성분의 분리를 위해 column은 극성 column을 사용 가능하며, 본 연구에서는 Stabilwax(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, Restek, USA)를 사용하였다. Column에서 지표성분 분리를 위한 oven의 온도는 40℃에서 3분간 유지한 다음 2℃/min의 속도로 150℃까지 상승시키고 다시 4℃/min의 속도로 200℃까지 상승시킨 후 10분간 유지하였으며, 이때 carrier gas의 유속은 1 mL/min(He)로 유지하였다. 분리된 화합물의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였으며 ionization voltage와 ion source의 온도는 각각 70 eV와 230℃로 설정하였고, 분석할 분자량의 범위는 45~350(m/z)로 설정하였다.

다. 선정 균주 배양 모델 시스템에서의 지표 향기성분 변화 추적

선정 균주 배양 모델 시스템에서 지표 향기성분을 분석한 결과를 표 16과 17에 나타내었다.

세균배양 시료 10종의 휘발성 향기성분을 분석한 결과, 확인되는 화합물의 조성은 유사하게 나타났으나, 각 화합물별 peak area가 상이하게 나타났다. 관능적으로 우수한 시료는 ID-1~5으로 고소한 향을 지니는 지표후보물질로 선정한 pyrazine류가 높게 나타나고, 된장의 고린내로 특정지워지는 3-methyl butanoic acid는 다른 시료에서 보다 상대적으로 적은 함량을 나타내었다.

곰팡이 배양 시료의 휘발성 향기성분 특성은 세균과 달리 acid류가 높게 나타났으며, 지방분해산물이 alcohol류도 확인되었다. 세균과 혼합 배양시 세균 배양에서 확인되는 향기성분들이 상당량 검출되었고, 곰팡이 단독배양 시 확인되었던 성분 중 일부는 세균과 혼합배양 시 확인되지 않았다.

표 16. 세균 배양 콩발효물의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

NO.	Compound name	ID-1	ID-2	ID-3	ID-4	ID-5	ID-6	ID-7	ID-8	ID-9	ID-10
1	2-Butanone	-	-	-	-	-	-	-	7.1	-	-
2	3-Methyl butanal	13.0	18.6	12.5	17.9	15.5	13.8	14.8	14.1	16.8	17.8
3	Ethanol	53.1	-	-	21.1	29.8	27.6	13.5	32.5	47.2	35.9
4	2-Heptanone	0.7	3.1	2.4	1.2	3.1	1.6	1.4	1.8	1.0	1.1
5	2,4,5-Trimethyloxazole	18.4	10.6	11.0	5.1	7.0	9.6	23.9	22.0	14.1	6.3
6	3-Methyl-1-butanol	1.8	1.3	1.1	1.7	3.7	2.0	1.3	1.1	3.3	1.8
7	2-Pentylfuran	0.6	1.6	0.9	0.9	1.2	1.2	1.1	1.1	0.9	1.0
8	6-Methyl-2-heptanone	-	5.6	3.2	1.8	4.6	2.8	2.1	3.0	4.0	7.4
9	5-Methyl-2-heptanone	-	-	-	-	6.4	-	-	-	-	-
10	Methyl pyrazine	3.8	7.5	7.0	6.0	6.3	5.5	5.0	4.7	4.7	4.7
11	2-Octanone	-	2.5	-	0.8	-	1.0	0.9	1.1	0.0	0.0
12	3-Hydroxy-2-butanone	15.2	-	2.8	1.4	-	1.4	0.6	1.1	4.1	12.5
13	2,5-Dimethyl pyrazine	247.6	185.2	204.6	282.9	180.5	150.7	99.4	138.3	147.6	220.9
14	2,6-Dimethylpyrazine	16.2	17.3	18.7	26.2	17.9	12.3	10.6	15.1	16.7	22.4
15	2,3-Dimethylpyrazine	7.9	6.7	5.5	5.7	5.6	8.1	2.6	6.2	6.8	5.3
16	2,4,6-Trimethylpyridine	3.0	5.5	5.0	3.8	4.2	4.8	2.8	3.4	3.2	3.5
17	2-Ethyl-6-methylpyrazine	1.3	1.5	2.4	2.9	2.0	1.0	0.6	1.0	1.6	2.0
18	2-Nonanone	4.2	6.9	6.2	6.2	4.5	6.9	4.0	4.9	4.5	6.1
19	2-Ethyl-5-methylpyrazine										
20	Trimethyl pyrazine	771.2	534.9	583.4	529.2	517.0	533.7	557.8	637.7	632.2	595.2
21	1,3-Di-tert-butylbenzene	19.5	23.6	17.9	19.0	25.2	28.1	22.4	14.4	12.9	13.2
22	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	16.3	8.6	6.2	32.5	15.8	10.8	13.6	18.7	11.2	17.4
23	2-Decanone	6.0	17.7	12.4	8.3	12.2	14.0			10.6	13.6
24	1-Octen-3-ol	23.0	20.5	28.0	22.6	37.9	18.7	14.1	20.6	11.2	23.8
25	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine	25.7	16.6	13.7	32.9	15.2	15.9	13.1	11.4	19.7	20.1
26	Tetramethyl pyrazine	1223.8	814.0	843.0	477.1	748.7	1025.0	2130.0	1294.0	1367.0	743.6
27	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	86.4	36.1	26.9	118.8	62.7	53.6	60.4	38.8	67.3	52.0
28	Benzaldehyde	45.8	86.6	70.4	94.9	111.8	77.2	74.8	71.1	81.9	75.4
29	2,3-Butanediol	5.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	2-Methyl propanoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.7
31	(E,E)-3,5-Octadien-2-one	-	-	-	-	-	14.3	11.5	10.1	9.5	t
32	1,3-Butanediol	6.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Acetophenone	6.6	12.4	11.7	12.4	8.8	16.7	14.2	12.7	9.6	9.3
34	2-Dodecanone	3.5	6.4	5.8	4.1	3.9	8.1	5.4	6.7	6.2	4.3
35	2/3-Methyl butanoic acid	82.3	32.4	117.5	45.3	28.1	104.7	76.2	90.7	136.8	105.2
36	Phenyl-2-propanone	-	2.7	-	-	-	-	-	-	-	-
37	N-(2-Methylpropyl)acetamide	8.8	29.9	47.3	20.8	10.3	22.4	21.0	26.6	29.5	23.6
38	Methyl 2-phenylacetate	3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	2-Acetyl-3,4,6-trimethylpyrazine	3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	3-Methyl-N-(2-phenylethylidene)-1-butanamine		34.2	44.4	34.7	49.9	6.7	0.0	16.9	9.1	9.8

표 16. 계속

NO.	Compound name	ID-1	ID-2	ID-3	ID-4	ID-5	ID-6	ID-7	ID-8	ID-9	ID-10
41	Geraniol		3.4	3.1	2.7	2.1	2.7	1.8	2.7	2.8	2.4
42	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	17.2	8.6	16.9	18.2	15.4	9.6	7.7	18.9	13.0	19.9
43	N-(3-Methylbutyl)acetamide	6.9	30.6	33.4	12.3	6.4	11.2	10.6	19.9	14.4	10.5
44	Benzyl alcohol	3.9	3.8	3.9	4.3	6.8	7.5	8.4	4.7	4.2	4.3
45	Phenethyl alcohol	6.1	6.3	5.4	8.8	5.0	7.8	6.4	6.4	7.7	7.4
46	2-Methyl-3-hydroxy-4-pyranone (Maltol)	9.3	-	-	5.6	2.8	2.1	-	-	4.9	8.2
47	2-Acetylpyrrole	2.4	1.7	1.7	2.4	1.8	2.4	1.6	1.4	2.6	2.5
48	Phenol	5.6	7.2	4.9	9.6	6.0	5.5	5.1	7.8	4.6	7.6
49	Octanoic acid	4.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	Nonanoic acid	12.8	-	-	10.8	12.4	17.7	-	-	-	-
51	2,4-Di-tert-butylphenol	7.9	8.8	8.9	7.8	5.3	0.9	6.0	5.4	6.3	6.6
52	4-Vinylphenol	2.0	1.8	1.0	1.3	1.8	10.8	1.5	1.7	1.8	1.7
53	Benzoic acid	3.5	2.0	2.6	2.8	4.3	1.3	0.9	1.0	2.3	1.2
54	1H-Indole	4.1	2.9	1.6	3.7	1.0	5.1	6.0	4.8	4.4	3.6
55	N-(2-Phenylethyl)acetamide	t	2.7	6.0	t	0.6	7.2	t	1.4	1.7	1.0

표 17. 곰팡이 및 곰팡이 혼합 배양 공발효물의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

NO.	Compound name	M1	M1-1	M1-2	M1-3	M1-4	M1-5
1	3-Methyl butanal	12.6	11.4	6.1	13.3	12.1	13.3
2	Ethanol	55.5	-	-	-	-	-
3	Pentanal	81.3	-	-	-	-	-
4	Hexanal	504.5	5.9	67.6	12.3	34.0	12.3
5	2-Butyl furan	6.1	-	-	-	-	-
6	2-Heptanone	12.3	7.3		4.9	9.4	4.9
7	Heptanal	13.6	-	7.7	-	-	-
8	2,4,5-Trimethyloxazole	-	2.3	1.0	-	-	-
9	3-Methyl-1-butanol	-	11.3	2.3	5.2	1.7	5.2
10	(E)-2-Hexenal	4.6	-	1.6	-	-	-
11	2-Pentylfuran	47.4	7.2	19.9	7.8	25.8	7.8
12	6-Methyl-2-heptanone	-	-	1.3	1.1	-	1.1
13	3-Octanone	-	8.2		4.7	11.4	4.7
14	Ethenyl benzene	-	2.6	21.9	3.9	2.5	3.9
15	Pentanol	85.9	-		1.9	5.9	1.9
16	Methyl pyrazine	0.0	2.9	3.1	4.6	2.4	4.6
17	2-Ethylpyridine	0.0	-	1.2	0.0	0.0	0.0
18	2-Octanone	0.0	5.0	4.6	5.7	5.4	5.7
19	3-Hydroxy-2-butanone	44.4	-	-	-	1.4	-
20	Octanal	13.8	-	1.7	-	-	-
21	Hexanenitrile	10.7	1.1	2.9	2.9	4.8	2.9
22	2,5-Dimethyl pyrazine	0.0	120.3	101.6	98.4	101.9	98.4
23	(E)-2-Heptenal	26.1	-	-	-	-	-
24	2,6-Dimethylpyrazine	0.0	7.3	5.4	10.5	6.4	10.5
25	2,3-Dimethylpyrazine	0.0	4.3	3.8	2.2	4.1	2.2
26	Hexanol	44.1	1.8	14.4	7.6	2.6	7.6
27	2,4,6-Trimethylpyridine	0.0	1.9	1.3	2.7	0.0	2.7
28	2-Ethyl-6-methylpyrazine	-	0.8	-	0.6	0.5	0.6
29	2-Nonanone	0.0			2.8	3.1	2.8
30	2-Ethyl-5-methylpyrazine	-	3.6	3.3	1.5	1.2	1.5
31	Nonanal	48.6	-	-	-	-	-
32	Trimethyl pyrazine	51.7	444.2	262.7	317.2	260.2	317.2
33	(E)-3-Octen-2-one	29.5	-	-	-	-	-
34	3-Ethyl-2-methyl-1,3-hexadiene	21.6	-	-	-	-	-
35	1,3-Di-tert-butylbenzene	-	3.2	4.7	5.6	2.2	5.6
36	(E)-2-Octenal	79.9	0.0	16.7	2.1	8.3	2.1
37	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	-	8.9	4.3	9.9	13.4	9.9
38	2-Decanone	-	3.9	3.8	-	-	-
39	1-Octen-3-ol	68.6	11.9	38.3		23.0	
40	Acetic acid	-	-	-	14.9	-	14.9

표 17. 계속

(단위 : Peak area/1,000,000)

NO.	Compound name	M1	M1-1	M1-2	M1-3	M1-4	M1-5
41	Heptanol	21.0	-	-	-	-	-
42	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine	-	-	-	9.1	13.9	9.1
43	Tetramethyl pyrazine	257.1	778.4	494.8	448.2	569.2	448.2
44	(E,E)-2,4-Heptadienal	13.8	3.5	11.7	3.6	5.3	3.6
45	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	-	39.9	17.6	11.0	22.1	11.0
46	Benzaldehyde	103.2	96.0	101.5	92.7	166.7	92.7
47	2-Pentyl-4,5-dimethyloxazole	25.4	-	-	-	-	-
48	(E)-2-Nonenal	8.2	-	-	-	-	-
49	Octanol	32.8	3.1	11.9	-	8.9	-
50	3-Butylpyridine	23.8	-	-	-	-	-
51	2-Methylpropanoicacid	-	-	-	-	30.9	-
52	(E,E)-3,5-Octadien-2-one	-	19.5	-	33.1	-	33.1
53	(E)-2-Decenal	41.1	-	-	-	-	-
54	Acetophenone	-	9.2	9.8	7.5	9.7	7.5
55	2-Butyl-2-octenal	54.0	-	-	-	-	-
56	3-Methylbutanoicacid	-	193.1	64.3	181.0	158.3	181.0
57	(E,E)-2,4-Nonadienal	61.1	0.0	7.9	0.0	4.1	0.0
58	N-(2-Methylpropyl)acetamide	-	15.5	18.3	78.2	92.5	78.2
59	(E,Z)-2,4-Decadienal	8.7	-	-	-	-	-
60	3-Methyl-N-(2-phenylethylidene)-1-butanamine	-	-	-	6.8	3.0	6.8
61	(E,E)-2,4-Decadienal	31.3	-	-	-	-	-
62	1-Phenyl-1,2-propanedione	-	-	-	2.7	9.7	2.7
63	Hexanoic acid	110.9	16.7	19.4	11.5	5.5	11.5
64	2-Methoxy phenol	-	13.6	45.5	6.1	6.3	6.1
65	N-(3-Methylbutyl)acetamide	-	4.9	8.8	43.7	11.0	43.7
66	Benzyl alcohol	-	4.6	3.1	5.2	3.5	5.2
67	Phenethyl alcohol	-	13.1	4.5	7.4	3.0	7.4
68	3-Methyl-butanamide	-	0.0	0.0	6.3	2.5	6.3
69	Benzyl nitrile	-	0.0	4.7	3.6	5.5	3.6
70	2,4,6-Cycloheptatrien-1-one	-	-	-	15.1	-	15.1
71	Phenol	-	10.0	20.8	13.4	-	13.4
72	Dihydro-5-pentylfuran-2(3H)-one	-	5.6	5.7	6.5	6.1	6.5
73	Octanoic acid	7.6	-	-	-	-	-
74	2-Nonenoic acid γ -lactone	72.6	2.3	14.5	4.8	11.2	4.8
75	Hexanamide	24.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
76	2,4-Di-tert-butylphenol	-	1.2	1.6	2.6	1.9	2.6
77	4-Vinyl phenol	-	3.7	1.8	1.7	0.7	1.7
78	Benzoic acid	-	1.1	0.9	1.2	2.2	1.2
79	1H-Indole	3.6	2.9	2.3	3.3	1.4	3.3
80	N-(2-Phenylethyl)acetamide	-	-	-	3.8	-	3.8

제 3 절 시제품의 향기 재현 평가

1. 연구수행 방법

가. 시제품 중 향기성분의 모니터링 및 동태 파악

(1) 시료

한국식품연구원으로부터 3회(2013년 5월, 11월 및 12월)에 걸쳐 총 52종(1차-24종, 2차-28종, 3차-8종)의 시제품을 제공받아 지표 향기성분을 모니터링 하였다.

표 18. 시제품 시료 목록

번호	ID	시료명	비고	번호	ID	시료명	비고
1	AL_1	AL_M1	1차 시제품	32	B-1-0d	SWM-2-blank-0d	2차 시제품
2	AL_2	AL_M2	"	33	B-1-21d	SWM-2-blank-21d	"
3	AL_3	AL_B1	"	34	B-1-35d	SWM-2-blank-35d	"
4	AL_4	AL_B2	"	35	B-1-42d	SWM-2-blank-42d	"
5	AL_5	AL_B1+M1	"	36	B-2-21d	SWM-2+Y3-21d	"
6	AL_6	AL_B1+M2	"	37	B-2-35d	SWM-2+Y3-35d	"
7	AL_7	AL_B2+M2	"	38	B-2-42d	SWM-2+Y3-42d	"
8	AL_8	AL_B1+M1-33d	"	39	C-1-0d	SWM-3-blank-0d	"
9	AL_9	AL_B1+M2-33d	"	40	C-1-21d	SWM-3-blank-21d	"
10	AL_10	AL_B2+M2-33d	"	41	C-1-35d	SWM-3-blank-35d	"
11	BL_1	BL_Con-B1+M1	"	42	C-1-42d	SWM-3-blank-42d	"
12	BL_2	BL_B1+M1	"	43	C-2-21d	SWM-3+Y3-21d	"
13	BL_3	BL_Con-B1+M1	"	44	C-2-35d	SWM-3+Y3-35d	"
14	BL_4	BL_B1+M1	"	45	C-2-42d	SWM-3+Y3-42d	"
15	BL_5	BL_Con-B1+M1-22d	"	46	D-1-0d	SWM-4-blank-0d	"
16	BL_6	BL_B1+M1-22d	"	47	D-1-21d	SWM-4-blank-21d	"
17	SWM_1	SWM-1(B1)	"	48	D-1-35d	SWM-4-blank-35d	"
18	SWM_2	SWM-2(B1+M1)	"	49	D-1-42d	SWM-4-blank-42d	"
19	SWM_3	SWM-3(B1+M2)	"	50	D-2-21d	SWM-4+Y2-21d	"
20	SWM_4	SWM-4(B2+M2)	"	51	D-2-35d	SWM-4+Y2-35d	"
21	SWM_5	SWM-1-21d	"	52	D-2-42d	SWM-4+Y2-42d	"
22	SWM_6	SWM-2-21d	"	53	FL_2_0d	FL-2(B1+M1)-0d	3차 시제품
23	SWM_7	SWM-3-21d	"	54	FL_2_7d	FL-2-7d	"
24	SWM_8	SWM-4-21d	"	55	FL_2_14d	FL-2-14d	"
25	A-1-0d	SWM-1-blank-0d	2차 시제품	56	FL_2_25d	FL-2-25d	"
26	A-1-14d	SWM-1-blank-14d	"	57	FL_4_0d	FL-4(B2+M2)-0d	"
27	A-1-28d	SWM-1-blank-28d	"	58	FL_4_7d	FL-4-7d	"
28	A-1-32d	SWM-1-blank-32d	"	59	FL_4_14d	FL-4-14d	"
29	A-2-14d	SWM-1+Y1-14d	"	60	FL_4_25d	FL-4-25d	"
30	A-2-28d	SWM-1+Y1-28d	"				
31	A-2-32d	SWM-1+Y1-32d	"				

B1: SW-03-7, B2: KO-SM-11, M1: SW-03-1, M2: KO-03-5, Y1: 12-DJ-DD-15, Y2: 12-KO-DJ-4, Y3: 12-SW-DJ-3

(2) 실험방법

① 지표 향기성분의 추출

속성제조 된장 시제품의 지표 향기성분의 추출은 SPME fiber holder가 장착된 autosampler (MPS2-XT, GERSTEL GmbH&Co. KG Germany)를 이용하였다. PALDVB/PDMS/CAR fiber는 SPME holder에 장착하고 분석에 앞서 250°C injector에서 60분 동안 노출시켜 conditioning하였고 각각의 시료 1 mL를 headspace vial(20 mL, 22.5 mm × 75.5 mm)에 취하여 70°C에서 300 rpm으로 교반하면서 20분 동안 incubation한 후 40분간 시료 내의 휘발성 향기성분을 fiber에 흡착시켰다. 휘발성 향기성분이 포집된 SPME fiber는 자동으로 GC injector에 주입되어 splitless mode에서 3분간 휘발성분을 탈착하였다.

② 휘발성 향기성분의 분석

지표성분의 분석을 위해 GC/MS는 Agilent 5975C Mass selective detector(Agilent technologies Inc., USA)가 연결된 Agilent 7890A gas chromatograph를 사용하였다. 휘발성 향기성분의 분리를 위해 column은 Stabilwax(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, Restek, USA) 또는 DB-WAX(60 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, J&W, USA)를 사용하였고, oven의 온도는 40°C에서 3분간 유지한 다음 2°C/min의 속도로 150°C까지 상승시키고 다시 4°C/min의 속도로 200°C까지 상승시킨 후 10분간 유지하였으며, 이때 carrier gas의 유속은 1 mL/min(He)로 유지하였다. 분리된 화합물의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였으며 ionization voltage와 ion source의 온도는 각각 70 eV와 230°C로 설정하였고, 분석할 분자량의 범위는 40~350(m/z)로 설정하였다. GC/MS에 의해 total ionization chromatogram (TIC)에 분리된 각 peak의 성분 분석은 mass spectrum library (WILEY7N, NBS75K, NTIS08)와 mass spectral data book의 spectrum과의 일치, 문헌상의 retention index와의 일치 및 표준물질의 분석 data를 비교, 확인하였다.

나. 품질 관리용 지표 성분 도출

시제품 중에서 관능적으로 기호도가 우수한 것으로 나타난 시료(1차 시제품)와 특정 발효단계 시료(2차시제품)의 휘발성 향기성분 조성을 확인하고 품질 관리로 사용가능한 지표 성분을 모색하였다.

2. 연구수행 결과

가. 시제품 중 향기성분의 모니터링 및 동태 파악

전통된장의 화학적 지표로 선정된 향기성분은 2,5-Dimethyl pyrazine(A), trimethylpyrazine(B), tetramethylpyrazine(C), benzaldehyde(D), 3-Methyl butanoic acid(E) 총 5종으로 3-methyl butanoic acid는 2-methyl butanoic acid와 분리되지 않아 1개의 peak로 처리하여 면적을 산출하였다. Candy, sweety의 향기특성을 가지는 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine을 지표성분에 추가하여 비교하였다. 시제품에서 지표성분의 모니터링 결과는 표 19와 20에 나타내었다.

1차 시제품에서 지표성분을 분석한 결과, AL_B series에서 trimethylpyrazine과 tetramethylpyrazine이 높게 나타났으며, AL_B1의 경우 된장 특유의 고린내를 내는 2/3-methyl butanoic acid의 상대적 비율은 낮으면서, pyrazine류의 비율이 높아 관능적으로 기호도가 높을 것으로 생각된다. 동일 처리구에서 제조일과 33일 후 지표성분을 분석한 결과 2,5-dimethylpyrazine을 제외하고 함량이 증가하는 것으로 확인되었다. SWM series의 경우 8% 추가 처리구에서는 지표성분이 상당량 확인되었으나, 무처리구에서는 2,5-dimethylpyrazine, tetramethylpyrazine 및 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine이 검출되지 않았다.

2차 시제품에서 지표성분을 분석한 결과, A-1의 경우 0d에서 지표성분이 확인되었으며, trimethylpyrazine은 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. Tetramethylpyrazine은 28d까지 유지되다가 32d에서는 1/2수준으로 감소하는 것으로 나타났다. A-2에서는 시간이 경과하면서 지표성분의 양이 증가하는 경향을 나타내었으며, termethylpyrazine은 비슷한 수준을 유지하였다. B-1과 B-2에서는 각 지표성분의 peak area가 유사하게 나타났으며, B-2-42d에서 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine이 35d와 비교하여 약 15배 증가한 것으로 확인되었다. C-1 및 C-2에서 지표성분이 다른 시료보다 높게 확인되었으며, 2/3-methyl butanoic acid도 높게 나타나 향기의 강도는 높으나 특성은 다른 시료와 유사할 것으로 판단되었다. D-1의 경우 지표성분의 강도가 시간에 따라 큰 변화가 없었지만, D-2에서는 termethylpyrazine과 2,3,5-trimethyl-6-ethyl-pyrazine이 증가하는 것으로 확인되었다. 시제품의 지표성분을 모니터링한 결과 D-1과 D-2 처리구가 관능적으로 우수한 된장제조에 적합할 것으로 생각된다.

3차 시제품에서 지표성분을 분석한 결과, FL-4 보다 FL-2에서 지표성분의 강도가 높은 것으로 확인되었으며, 두 시제품 모두에서 발효기간이 경과함에 따라 pyrazine류 함량의 변화보다 benzaldehyde 및 2/3-methyl butanoic acid의 함량 변화가 높게 나타났다.

표 19. 1차 시제품의 지표성분 분석

(Unit : Peak area/100,000)

No.	ID	A ¹⁾	B	C	D	E	F
1	AL_1	691	865	499	789	271	35
2	AL_2	216	242	104	760	273	20
3	AL_3	859	2344	12711	2580	842	1763
4	AL_4	288	1832	11083	775	1134	1245
5	AL_5	1068	2322	10068	356	1879	1064
6	AL_6	1073	3096	11760	168	1739	2455
7	AL_7	406	2696	12980	114	1949	1674
8	AL_8	614	2289	14638	417	4092	1014
9	AL_9	599	4474	17119	237	2901	3013
10	AL_10	1099	4587	13955	359	3015	2579
11	BL_1	1265	69	5786	195	548	50
12	BL_2	769	2447	8655	25	760	813
13	BL_3	81	59	369	79	144	12
14	BL_4	229	53	481	723	88	39
15	BL_5	90	231	682	173	114	18
16	BL_6	150	245	726	139	134	57
17	SWM_1	ND ²⁾	ND	ND	113	57	ND
18	SWM_2	ND	4	ND	116	34	ND
19	SWM_3	ND	5	ND	154	131	ND
20	SWM_4	34	25	14	95	228	ND
21	SWM_5	828	3883	11919	220	4537	493
22	SWM_6	472	3041	14490	204	2057	478
23	SWM_7	1539	5948	16915	726	1128	826
24	SWM_8	714	3931	13293	276	5004	500

¹⁾A: 2,5-Dimethyl pyrazine, B: Trimethylpyrazine, C: Tetramethylpyrazine, D: Benzaldehyde, E: 2/3-Methyl butanoic acid, F: 2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine, ²⁾ND: not detected.

표 20. 2차 시제품의 지표성분 분석

(Unit: Peak area/100,000)

No.	ID	A ¹⁾	B	C	D	E	F
1	A_1_0d	951	5367	17575	804	5862	848
2	A_1_14d	768	5309	17832	1014	5974	780
3	A_1_28d	681	4873	18184	993	6092	945
4	A_1_32d	697	2641	9816	581	3133	957
5	A_2_14d	662	4565	16681	770	4892	792
6	A_2_28d	560	4403	17687	1128	3840	844
7	A_2_32d	489	4390	18325	1367	3960	860
8	B_1_0d	518	4621	18552	624	4220	585
9	B_1_21d	485	4570	19129	609	4256	610
10	B_1_35d	453	4493	19700	592	4294	655
11	B_1_42d	387	4128	19204	595	4513	654
12	B_2_21d	388	4274	19156	642	4178	642
13	B_2_35d	283	3687	17890	579	3426	602
14	B_2_42d	283	3755	10159	616	4129	9376
15	C_1_0d	1019	8242	33756	1040	8635	1761
16	C_1_21d	1077	9016	33127	892	12195	1409
17	C_1_35d	1048	8597	33509	794	10342	1632
18	C_1_42d	1194	9191	32370	854	11439	1445
19	C_2_21d	709	7497	35728	1131	9108	2012
20	C_2_35d	665	7661	36309	669	9332	1993
21	C_2_42d	626	7344	18322	461	6719	2050
22	D_1_0d	782	7485	37188	556	935	2781
23	D_1_21d	744	6710	33493	897	2270	3602
24	D_1_35d	763	6776	30381	775	2489	2282
25	D_1_42d	699	6565	32414	801	2334	3187
26	D_2_21d	904	7194	16663	613	1446	2021
27	D_2_35d	1059	8312	41391	460	778	3592
28	D_2_42d	923	8317	49777	500	1029	5140

¹⁾A: 2,5-Dimethyl pyrazine, B: Trimethylpyrazine, C: Tetramethylpyrazine, D: Benzaldehyde, E: 2/3-Methyl butanoic acid, F: 2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine.

표 21. 3차 시제품의 지표성분 분석

(Unit: Peak area/100,000)

No.	ID	A ¹⁾	B	C	D	E	F
1	FL_2_0d	195	268	139	91	515	17
2	FL_2_7d	242	365	297	127	675	20
3	FL_2_14d	230	358	254	179	1121	23
4	FL_2_25d	229	321	181	316	1309	21
5	FL_4_0d	83	108	114	164	234	4
6	FL_4_7d	80	134	167	116	677	6
7	FL_4_14d	106	165	204	327	960	8
8	FL_4_25d	80	159	179	690	720	7

¹⁾A: 2,5-Dimethyl pyrazine, B: Trimethylpyrazine, C: Tetramethylpyrazine, D: Benzaldehyde, E: 2/3-Methyl butanoic acid, F: 2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine.

나. 품질 관리용 지표 성분 도출

1차 시제품 중 선정된 제품의 휘발성 향기성분 분석 결과는 표 21과 같으며, 2차 시제품 중 선정된 시료의 휘발성 향기성분 분석 결과는 표 22~25와 같다.

1차 시제품 중 선정된 제품에서 확인된 휘발성 향기성분의 수는 AL-M1, AL-M2, AL-B1 및 AL-B2에서 각각 24, 26, 30 및 32종이 확인되었으며, AL-B류에서 tetramethylpyrazine이 대부분을 차지하는 것으로 나타났다.

2차 시제품 중 선정된 제품에서 확인된 휘발성 향기성분의 수는 45~57종(표 26)으로 1차 시제품 보다 다수의 휘발성 향기성분이 동정 되었으며, D-1 및 D-2를 제외한 9종의 시료에서 지표성분으로 선정된 2/3-methylbutanoic acid 등 acid류와 tetramethyl pyrazine 등의 질소화합물이 향기성분 조성의 대부분을 차지하는 것으로 확인되었다. B와 C시료에서 buttery, rancid, cheesy, sweaty으로 특징지어지는 butanoic acid가 상당량 확인되었으며, 특히 B에서는 tetramethyl pyrazine 보다 butanoic acid가 상대적으로 높게 나타나 다른 시제품에 비해 관능적으로 기호도가 떨어질 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 HPLC 및 GC로 분석이 가능한 tetramethyl pyrazine과 butanoic acid이 품질 관리를 위한 지표성분으로 활용 가능할 것으로 생각된다.

표21. 선정된 1차 시제품의 휘발성 향기성분 분석

(Unit : Peak area/1,000,000)

No.	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	A ⁴⁾	B	C	D
1	1060	Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	ND ⁵⁾	ND	ND	4.4
2	1074	Ethyl 3-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	ND	ND	ND	3.2
3	1086	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	18.1	5.6	4.3	2.8
4	1186	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	28.4	10.7	11.1	6.3
5	1204	2,4,5-Trimethyloxazole	C ₆ H ₉ NO	111	3.3	0.9	35.8	29.2
6	1216	2/3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	8.8	3.1	52.8	21.6	22.1
7	1261	3-Octanone +5-Methyl-2-heptanone	C ₈ H ₁₆ O	12.8	17.9	5.7	33.1	20.0
8	1273	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	2.3	2.3	3.6	3.6
9	1290	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	309.3	295.9	192.8	242.3
10	1330	2,5-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	85.5	21.8	98.0	321
11	1336	2,6-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	3.5	1.1	3.9	1.7
12	1354	2,3-Dimethyl pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	1.5	0.8	10.5	12.1
13	1362	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	3.7	6.3	1.2	1.9
14	1393	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	3.8	1.9	4.8	4.5
15	1400	3-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	ND	1.4	1.8	2.7
16	1412	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	107.0	25.3	266.9	199.9
17	1454	3-Ethyl-2,5-dimethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	6.0	5.2	35.1	21.8
18	1455	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	ND	29.1	15.4	27.1
19	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	108.7	102.5	100.7	122.9
20	1465	Heptanol	C ₇ H ₁₆ O	116	ND	ND	22.0	2.4
21	1470	2,6-Diethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	ND	ND	101	60
22	1484	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	61.7	11.3	1461.1	1222.9
23	1495	2-Isobutyl-3-methyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	15.6	ND	198.0	10.6
24	1523	2,3,5-Trimethyl-6-ethyl pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	ND	ND	205.1	138.1
25	1527	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	183.5	80.3	264.9	84.1
26	1550	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	380.4	653.7	ND	ND
27	1572	5-Isobutyl-2,3-dimethyl pyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	ND	ND	255.9	42.4
28	1600	2-Isobutyl-3,5,6-trimethyl pyrazine	C ₁₁ H ₁₈ N ₂	178	ND	ND	19.5	ND
29	1679	3/2-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	40.7	31.2	101.0	126.6
30	1726	3-(Methylthio)-1-propanol	C ₄ H ₁₀ OS	106	ND	3.7	ND	ND
31	1770	Methoxy-phenyl-oxime	C ₈ H ₉ NO ₂	151	21.7	12.8	8.0	6.1
32	1869	2-Methoxy phenol	C ₇ H ₈ O ₂	124	ND	ND	ND	13.4
33	1886	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	8.9	28.7	19.7	3.8
34	1922	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	2.7	77.3	70.0	93.5
35	1980	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	11.9	33.0	15.5	24.6

¹⁾RI: retention index, ²⁾MF: molecular formular, ³⁾MW: molecular weight, ⁴⁾A: AL-F-1, B: AL-F-2, C: AL-B-1, D: AL-B-2, ⁵⁾ND: not detected.

표 22. 2차 시제품 A-1 및 A-2의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	A-1-0d	A-1-32d	A-2-32d
1	1048	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	15.5	11.0	ND ⁴⁾
2	1152	Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	16.6	7.3	ND
3	1198	2,4,5-Trimethyloxazole	C ₆ H ₉ NO	111	23.0	14.3	22.6
4	1212	2/3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	52.9	34.5	21.8
5	1225	Butyl butanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	6.0	3.7	ND
6	1239	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	14.0	15.4	16.9
7	1260	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	5.3	5.2	14.7
8	1262	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	36.7	22.9	42.1
9	1272	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	16.3	7.8	ND
10	1282	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	ND	ND	11.1
11	1286	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	68.5	56.2	66.9
12	1299	3-Methylbutyl3-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	ND	ND	25.4
13	1322	2,5-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	97.2	71.0	49.6
14	1328	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	9.9	10.5	8.8
15	1346	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	11.5	16.5	12.0
16	1360	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	11.5	9.4	ND
17	1391	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	4.4	3.4	23.4
18	1401	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	537.9	509.5	442.5
19	1440	Ethyl octanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	2.0	1.8	ND
20	1445	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	12.4	11.7	9.2
21	1459	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	27.8	20.3	17.7
22	1460	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	ND	ND	17.7
23	1466	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	ND	ND	4.5
24	1461	2,3-Dimethyl-5-(1-methylethyl)pyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	159.2	230.1	4.5
25	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1,741.5	1,874.1	1,842.8
26	1511	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	84.6	91.2	84.8
27	1521	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	80.2	95.4	136.8
28	1537	2,3-Dimethyl-5-(1-methylpropyl)pyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	9.4	8.6	8.7
29	1545	2,3-Butanediol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90	143.6	188.8	140.0
30	1576	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	76.5	79.8	40.4
31	1635	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	282.9	315.6	ND
32	1644	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	21.0	28.7	26.3
33	1647	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	78.6	60.3	120.5
34	1668	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	14.8	16.5	ND
35	1675	2/3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	586.6	600.7	400.6
36	1732	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	33.9	26.5	31.2
37	1735	N-(2-Methylpropyl) acetamide	C ₆ H ₁₃ NO	115	ND	ND	32.0
38	1760	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	5.1	4.4	ND
39	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	5.9	4.6	5.3

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 22. 계속

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	A-1-0d	A-1-32d	A-2-32d
40	1801	3-Methyl-2-butenoic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	13.8	14.6	ND ⁴⁾
41	1809	4-Methylpentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	51.6	52.2	ND
42	1813	1-Phenylethanol	C ₈ H ₁₀ O	122	28.9	30.4	25.9
43	1843	Methyl 3-phenylpropionate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	4.9	4.8	ND
44	1853	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	15.5	16.6	ND
45	1854	2-Methyl-2-butenoic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	17.5	18.5	ND
46	1860	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	48.7	44.8	45.4
47	1876	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	21.1	21.9	34.5
48	1882	Ethyl-3-phenylpropionate	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	5.7	4.6	ND
49	1908	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	494.4	425.6	303.8
50	1956	2-Ethylhexanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	11.9	15.2	17.4
51	1961	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	99.8	121.0	135.6
52	1966	1,2,3-Trimethoxybenzene	C ₉ H ₁₂ O ₃	168	7.4	ND	ND
53	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	21.8	23.0	26.5
54	2032	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	ND	ND	62.8
55	2046	3-Phenylpropanol	C ₉ H ₁₂ O	136	6.0	4.9	ND
56	2068	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	22.9	21.9	15.2
57	2173	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	147.0	76.7	71.8
58	2180	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	ND	ND	324.2
59	2198	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	8.5	6.2	ND
60	2270	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	7.6	5.8	6.0
61	2279	Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	8.9	1.7	ND
62	2401	4-Vinyl phenol	C ₈ H ₈ O	120	40.8	33.3	ND
63	2439	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	37.2	13.8	14.8
64	2564	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	3.7	4.6	ND
65	2582	N-(2-Phenylethyl)acetamide	C ₁₀ H ₁₃ NO	163	ND	ND	6.4

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 23. 2차 시제품 B-1 및 B-2의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	B-1-0d	B-1-42d	B-2-42d
1	1035	2-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	74	23.6	14.1	ND ⁴⁾
2	1047	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	94.2	58.3	31.3
3	1132	Propyl butanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	19.1	16.7	11.4
4	1198	2,4,5-Trimethyloxazole	C ₆ H ₉ NO	111	16.0	13.2	7.1
5	1212	2/3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	9.2	3.9	10.7
6	1225	Butylbutanoate	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	6.3	11.5	7.1
7	1239	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	3.8	6.2	5.2
8	1260	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	9.7	12.8	8.7
9	1272	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	8.8	10.3	11.3
10	1286	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	27.3	25.3	21.0
11	1322	2,5-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	53.1	40.0	28.9
12	1328	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	7.4	4.3	3.2
13	1346	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	11.9	12.4	13.9
14	1362	Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	5.7	ND	ND
15	1400	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	460.3	422.9	380.9
16	1420	Hexylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	4.5	5.1	4.8
17	1445	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	4.2	ND	ND
18	1460	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	21.1	ND	ND
19	1461	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	151.2	217.0	206.5
20	1475	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	1845.8	1953.8	1817.2
21	1512	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	56.8	67.1	63.0
22	1521	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	62.0	60.4	63.2
23	1538	2,3-Dimethyl-5-(1-methylpropyl)pyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	5.7	9.6	6.1
24	1576	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	65.9	81.1	63.7
25	1629	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	2687.9	2724.8	2733.3
26	1645	3-Methyl benzaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	ND	18.9	18.8
27	1648	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	10.1	8.6	8.4
28	1668	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	9.5	5.6	6.6
29	1676	2/3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	416.7	454.1	413.0
30	1760	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	5.4	7.3	5.0
31	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	3.8	4.0	4.5
32	1801	3-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	7.3	7.2	6.8
33	1809	4-Methylpentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	49.8	62.8	54.0
34	1843	Methyl 3-phenylpropionate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	4.3	3.8	4.4
35	1853	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	11.3	10.6	11.4
36	1854	2-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	12.7	12.9	12.2
37	1860	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	66.7	67.9	59.6
38	1877	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	8.6	8.3	9.5
39	1909	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	43.7	22.0	19.3

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 23. 계속

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	B-1-0d	B-1-42d	B-2-42d
40	1932	4-Methylhexanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	ND	17.2	14.3
41	1956	2-Ethylhexanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	9.1	ND ⁴⁾	5.5
42	1961	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	103.1	101.8	103.1
43	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	62.9	67.6	66.0
44	2022	Dihydro-5-pentylfuran-2(3H)-one	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	14.8	17.0	15.3
45	2032	4-Ethyl guaiacol	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	10.7	11.7	11.2
46	2068	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	24.3	12.7	14.0
47	2173	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	126.0	14.5	39.5
48	2180	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	21.0	12.7	13.5
49	2198	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	ND	2.0	ND
50	2270	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	12.8	11.6	13.6
51	2279	Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	11.1	ND	ND
52	2401	4-Vinyl phenol	C ₈ H ₈ O	120	ND	13.3	15.1
53	2401	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	16.2	2.8	13.0
54	2443	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	47.7	13.7	5.0
55	2564	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	13.8	9.4	7.7

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 24. 2차 시제품 C-1 및 C-2의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	C-1-0d	C-1-42d	C-2-42d
1	1047	Ethyl butanoate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	12.9	11.8	8.9
2	1134	3-Methylbutylacetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	10.0	ND ⁴⁾	ND
3	1198	2,4,5-Trimethyloxazole	C ₆ H ₉ N ₂ O	111	25.9	27.3	17.1
4	1215	2/3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	28.3	28.5	60.4
5	1239	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	6.4	6.6	8.0
6	1260	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	19.1	20.2	19.6
7	1272	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	32.6	4.2	60.4
8	1282	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	6.3	23.7	7.9
9	1287	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	45.9	47.0	39.6
10	1299	3-Methylbutyl3-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	5.7	4.3	7.6
11	1322	2,5-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	99.6	122.0	64.7
12	1328	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	17.7	23.3	14.0
13	1346	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	44.0	44.0	42.0
14	1391	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	5.4	3.1	6.6
15	1401	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	798.4	942.1	758.2
16	1445	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	8.4	9.2	9.3
17	1461	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	25.3	4.5	44.8
18	1461	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	193.5	284.8	148.2
19	1476	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	3,327.1	3,294.6	3,708.4
20	1511	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	173.1	147.0	209.5
21	1521	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	102.5	89.0	45.3
22	1549	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	74	11.3	14.5	37.2
23	1575	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	96.1	140.3	72.9
24	1580	2,3,5-Trimethyl-6-propylpyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	14.0	8.9	14.9
25	1590	2,3,5-Trimethyl-6-Isobutylpyrazine	C ₁₁ H ₁₈ N ₂	178	133.3	77.6	176.8
26	1634	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	514.3	638.5	359.6
27	1644	3-Methyl benzaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	ND	24.6	8.4
28	1647	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	11.0	9.4	12.2
29	1670	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	13.0	10.0	9.6
30	1675	2/3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	867.7	1,132.5	672.1
31	1724	Phenylacetone	C ₉ H ₁₀ O	134	18.6	23.1	26.4
32	1735	N-(2-Methylpropyl) acetamide	C ₆ H ₁₃ NO	115	34.7	31.3	46.1
33	1760	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	10.1	9.2	10.4
34	1763	2-Acetyl-3,5,6-trimethylpyrazine	C ₉ H ₁₂ N ₂ O	164	3.6	2.0	4.1
35	1786	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	3.9	4.6	4.4
36	1801	3-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	35.2	41.0	23.1
37	1809	4-Methylpentanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	39.3	45.0	28.6
38	1813	2-Phenylethanol acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	17.8	11.0	9.9
39	1826	1-Phenyl-2-propanol	C ₉ H ₁₂ O	136	5.5	5.5	6.6

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 24. 계속

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	C-1-0d	C-1-42d	C-2-42d
40	1853	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	6.8	9.3	ND ⁴⁾
41	1854	2-Methyl-2-butenic acid	C ₅ H ₈ O ₂	100	21.0	25.5	16.8
42	1860	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	59.2	68.3	63.8
43	1880	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	20.3	15.5	44.4
44	1915	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	118.4	102.7	365.0
45	1932	4-Methylhexanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	130	36.7	46.4	34.5
46	1956	2-Ethylhexanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	ND	6.2	ND
47	1961	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	106.1	103.9	115.3
48	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	22.9	15.2	16.7
49	2022	Dihydro-5-pentylfuran-2(3H)-one	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	16.4	15.7	15.8
50	2068	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	7.2	9.8	3.0
51	2173	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	20.6	38.4	17.9
52	2270	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	9.2	9.1	7.9
53	2321	2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206	ND	6.1	3.9
54	2440	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	122	5.1	8.9	2.7
55	2444	1H-Indole	C ₈ H ₇ N	117	6.5	5.9	3.3
56	2564	2-Phenylacetic acid	C ₈ H ₈ O ₂	136	26.2	21.5	5.8

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 25. 2차 시제품 D-1 및 D-2의 휘발성 향기성분

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	D-1-0d	D-1-42d	D-2-42d
1	1188	2-Heptanone	C ₇ H ₁₄ O	114	4.6	2.9	3.3
2	1198	2,4,5-Trimethyloxazole	C ₆ H ₉ NO	111	46.6	35.4	46.2
3	1218	2/3-Methyl butanol	C ₅ H ₁₂ O	88	22.3	31.3	103.2
4	1239	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O	138	11.8	10.7	10.9
5	1260	3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	10.2	12.2	19.6
6	1261	Ethenyl benzene	C ₈ H ₈	104	34.7	29.6	12.7
7	1268	Methyl pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	94	5.6	5.8	6.5
8	1272	3-Methylbutyl butanoate	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	-	4.9	-
9	1283	3-Methylbutyl2-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	-	-	3.1
10	1287	3-Hydroxy-2-butanone	C ₄ H ₈ O ₂	88	212.8	182.7	38.5
11	1299	3-Methylbutyl3-methylbutanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	-	-	6.5
12	1321	2,5-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	78.3	71.9	94.9
13	1328	2,6-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	20.8	18.1	24.5
14	1346	2,3-Dimethylpyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	108	38.7	41.4	42.6
15	1391	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O ₂	142	13.4	6.6	13.2
16	1401	Trimethyl pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	748.0	677.7	859.2
17	1444	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	8.7	9.8	13.6
18	1460	2,3-Dimethyl-5-ethylpyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	39.8	47.7	84.1
19	1463	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	12.7	14.5	8.7
20	1467	Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	60	13.0	23.9	23.3
21	1476	Tetramethyl pyrazine	C ₈ H ₁₂ N ₂	136	3,686.3	3,353.5	5,107.4
22	1511	2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	273.5	338.0	527.1
23	1521	Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	106	54.1	87.3	68.1
24	1537	2,3-Dimethyl-5-(1-methylpropyl)pyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	5.8	4.6	-
25	1577	2-Methylpropanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	10.8	25.8	15.2
26	1579	2,3,5-Trimethyl-6-propylpyrazine	C ₁₀ H ₁₆ N ₂	164	4.1	4.2	8.1
27	1589	2,3,5-Trimethyl-6-Isobutylpyrazine	C ₁₁ H ₁₈ N ₂	178	8.4	27.9	262.8
28	1637	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	88	16.5	32.3	3.7
29	1643	Benzacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	6.0	35.7	0.0
30	1643	3-Methyl benzaldehyde	C ₈ H ₈ O	120	-	-	13.9
31	1647	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	120	15.5	17.0	19.0
32	1672	Furfuryl alcohol	C ₅ H ₆ O ₂	98	5.5	4.0	-
33	1676	2/3-Methyl butanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	102	90.7	207.1	72.3
34	1678	p-Methoxystyrene	C ₉ H ₁₀ O	134	282.5	136.1	174.5
35	1732	1,2-Dimethoxy benzene	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	114.5	53.6	92.7
36	1760	Methyl 2-phenylacetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	1.1	1.0	-
37	1763	2-Acetyl-3,5,6-trimethylpyrazine	C ₉ H ₁₂ N ₂ O	164	2.5	2.8	6.4
38	1771	α-Bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	204	-	10.4	92.7
39	1785	Ethyl 2-phenylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	5.1	3.8	-

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight. ⁴⁾Not detected.

표 25. 계속

(단위 : Peak area/1,000,000)

No	RI ¹⁾	Compound name	MF ²⁾	MW ³⁾	D-1-0d	D-1-42d	D-2-42d
40	1813	β -Phenethylacetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	10.5	8.1	ND ⁴⁾
41	1853	Benzylacetone	C ₁₀ H ₁₂ O	148	ND	11.7	6.1
42	1860	Guaiacol(2-Methoxy phenol)	C ₇ H ₈ O ₂	124	15.9	23.6	12.7
43	1884	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	108	5.6	7.0	ND
44	1919	Phenethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	122	368.6	374.0	479.9
45	1961	Maltol	C ₆ H ₆ O ₃	126	22.4	27.0	2.4
46	1966	1,2,3-Trimethoxybenzene	C ₉ H ₁₂ O ₃	168	43.9	15.8	31.2
47	2009	Phenol	C ₆ H ₆ O	94	4.8	4.4	2.9
48	2022	Dihydro-5-pentylfuran-2(3H)-one	C ₉ H ₁₆ O ₂	156	7.8	9.2	ND
49	2043	3,4-Dimethoxystyrene	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	19.3	7.4	26.6
50	2068	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	144	ND	4.0	ND
51	2173	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	7.1	19.0	8.4
52	2180	4-Ethyl phenol	C ₈ H ₁₀ O	122	ND	ND	3.4
53	2198	2-Methoxy-4-vinylphenol	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	5.1	8.1	13.1
54	2270	2,6-Dimethoxy phenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	3.2	4.2	3.1
55	2321	2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206	ND	4.9	3.6
56	2401	4-Vinyl phenol	C ₈ H ₈ O	120	22.9	25.2	8.0

¹⁾Retention index, ²⁾Molecular formula, ³⁾Molecular weight, ⁴⁾Not detected.

표 26. 2차 시제품에서 확인된 휘발성 향기성분의 관능기별 분류 및 상대적 비율

Functional groups	A-1-0d		A-1-32d		A-2-32d	
	Num.	%Area	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	13	26.3	14	27.0	7	11.8
Alcohols	15	17.4	15	16.1	11	21.1
Aldehydes	2	1.9	2	2.3	2	3.4
Esters	9	1.4	8	0.8	3	0.9
Ketones	5	4.7	6	4.8	5	7.5
N-Compounds	9	46.6	10	48.6	14	53.4
Miscellaneous	4	1.7	1	0.4	3	1.9
Total	57	100	56	100	45	100
Functional groups	B-1-0d		B-1-42d		B-2-42d	
	Num.	%Area	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	14	53.1	13	53.6	14	55.6
Alcohols	12	4.3	12	3.5	10	3.5
Aldehydes	1	0.9	2	1.2	2	1.3
Esters	8	2.2	8	1.7	8	1.2
Ketones	5	2.4	5	2.4	5	2.4
N-Compounds	10	37.0	9	37.5	9	35.9
Miscellaneous	1	0.1	1	0.1	1	0.1
Total	51	100	50	100	49	100
Functional groups	C-1-0d		C-1-42d		C-2-42d	
	Num.	%Area	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	14	25.8	15	31.3	13	18.9
Alcohols	8	3.8	9	3.3	9	7.7
Aldehydes	1	1.4	2	1.4	2	0.7
Esters	8	1.4	7	0.9	7	1.5
Ketones	7	3.0	7	2.8	7	3.1
N-Compounds	14	64.5	14	60.2	14	68.0
Miscellaneous	1	0.1	1	0.1	1	0.1
Total	53	100	55	100	53	100
Functional groups	D-1-0d		D-1-42d		D-2-42d	
	Num.	%Area	Num.	%Total	Num.	%Total
Acids	5	2.1	6	5.1	5	1.5
Alcohols	10	7.2	11	8.2	10	7.5
Aldehydes	2	0.9	2	2.0	2	1.0
Esters	3	0.3	4	0.3	2	0.1
Ketones	7	4.5	8	4.4	7	1.2
N-Compounds	14	77.1	14	75.7	13	83.5
Miscellaneous	6	7.9	7	4.3	7	5.2
Total	47	100	52	100	46	100

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표달성도

연구개발의 목표	연구개발의 결과	달성도
Prototype 전통된장의 화학적 향기 평가	<ul style="list-style-type: none"> 전통된장의 주요 휘발성 향기성분 : Butanoic acid, 3-methyl butanoic acid, benzacetaldehyde, benzaldehyde, 1-octen-3-ol, teramethyl pyrazine, phenethyl alcohol, 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-ethyl phenol 등 	100%
Prototype 전통된장의 지표 향기성분 도출	<ul style="list-style-type: none"> 된장의 향기특성에 긍정적인 영향을 미치는 pyrazine류 중 2,5-dimethyl pyrazine, trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine, benzaldehyde와 된장 특유의 고린내를 내는 3-methyl butanoic acid를 지표 향기성분으로 선정 	100%
시제품의 향기 재현 평가	<ul style="list-style-type: none"> 5종의 지표성분에 2,3,5-trimethyl-6-ethyl-pyrazine을 추가하여 모니터링한 결과 negative 인자로 선택한 2/3-methyl butanoic acid의 비율은 낮으면서 pyrazine류들이 높게 나타나는 것을 확인하였음 	100%

제 2 절 관련분야에의 기여도

- 된장의 주요 향미 특징별 성분 규명을 통한 기호형 맞춤 된장의 개발이 가능함
- 고유의 향미 특징은 유지하면서, 소비자의 기호를 충족할 수 있는 다양한 향미를 가진 된장 재현이 가능함

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

○ 연구개발 성과

발표일	논문명	발표자	학술대회명	국내외 여부
2011. 11. 01.	Analysis of volatile flavor compounds in long-aged Deonjang by automated SPME-GC-MSD	서혜영, 이선영, 구경형, 구민선	2011 한중일 분석과학회 국제심포지엄	국내
투고 진행중	Volatile profiles of long-aged <i>Deonjang</i> , a Korean traditional fermented soybean paste	서혜영, 한애리, 김경수, 구경형, 구민선	Food Chemistry	국외

○ 성과활용 계획

- 본 연구결과는 숙성발효 된장의 품질에 대한 기초자료로 활용할 계획임

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해당사항 없음.

제 7 장 참고문헌

- Schultz TH, Flath RA, Mon TR, Eggling SB, Teranishi R. 1977. Isolation of volatile components from a model system. *J Agric Food Chem* 25: 446-449.
- Robert PA. 1995. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, IL, USA.
- Stenhagen E, Abrahamson S, McLafferty FW. 1974. The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. John Wiley and Sons, NY, USA.
- Davies NW. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J Chromatogr* 503: 1-24.
- Sadtler Research Laboratories. 1986. The Sadtler standard gas chromatography retention index library. Sadtler, Philadelphia, PA, USA.
- Komthong P, Hayakawa S, Katoh T, Igura N, Shimoda M. 2006. Determination of potent odorants in apple by headspace gas dilution analysis. *Lebensmitt-Wissensch Technol* 39: 472-478.
- Kim GE, Kim MH, Choi BD, Kim TS, Lee JH. 1992. Flavor compounds of domestic *Meju* and *Doenjang*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 557-565
- Kim MJ, Rhee HS. 1994. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation. *Korean J. Soc. Food Sci.* 6: 1-8.
- Shin MR, Joo KJ. 1999. Fractionated volatile flavor components of soybean paste by dynamic headspace method. *J. Korean So. Food Sci. Nutr.* 28: 305-311.
- Lee MH, Kwok KF. 1987. Studies on the flavor components of soy sauce. *J. Chinese Agr. Chem. Soc.* 25: 101-111
- Fors S. 1983. Sensory properties of volatile Maillard reaction products and related compounds: A literature review. pp. 185-286 In: *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition*. Waller GR, Feather MS (eds). American Chemical Society, Washington DC, USA.
- Lee SJ, Ahn BI. 2008. Thermal changes of aroma components in soybean pastes (*Doenjang*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 271-276.
- Ji WD, Lee EJ, Kim JK. 1992. Volatile flavor components of soybean pastes manufactured with traditional *Meju* and improved *Meju*. *J. Korea Agric. Chem.* 35: 284-253.
- Kim JK, Seo JS, Chang HG, Lee SJ. 1993. Characteristic flavor of Korean soybean paste. *J. Microbiol. Biotechnol.* 3: 277-284.
- Ku KL, Chen TP, Chiou RY. 2000. Apparatus used for small-scale volatile extraction from ethanol-supplemented low-salt miso and GCMS characterization of the extracted flavors. *J. Agr. Food Chem.* 48: 3507-3511.
- Chou CC, Hwan CH. 1994. Effect of ethanol on the hydrolysis of protein and lipid during the aging of a Chinese fermented soya bean curds, sufu. *J. Sci. Food Agr.* 66: 393-398.
- Cullere, L., A. Escudero, J. Cacho and V. Ferreira. 2004. Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality spanish aged Red wines. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1653-1660.