

보안과제( ), 일반과제(○)

과제번호 107061-3

수출용 고품질 대두발효식품의 제조를 위한  
소형 생산시스템 개발

(Development of Small-Sized Process System for Production of High-Quality Fermented Soybean Products)

대두 발효식품의 품질특성(세부과제)

(Quality Properties of Fermented Soybean Products)

대두 발효식품의 세레우스 저감화(협동과제)

(Reduction of *Bacillus cereus* in Fermented Soybean Products)

순 천 대 학 교

농 립 수 산 식 품 부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “수출용 고품질 대두발효식품의 제조를 위한 소형 생산시스템 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2010 년 5 월 29일

주관연구기관명 : 순천대학교

주관연구책임자 : 박 석 규

세부연구책임자 : 서 재 신

연 구 원 : 김 성 희

연 구 원 : 이 승 화

연 구 원 : 왕 수 빈

연 구 원 : 강 가 화

협동연구기관명 : 진주산업대학교

협동연구책임자 : 이 상 원

연 구 원 : 이 광 수

연 구 원 : 류 차 열

# 요 약 문

## I. 제 목

수출용 고품질 대두발효식품의 제조를 위한 소형 생산시스템 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### ○ 연구 목적

자연발효 형식으로 제조되는 전통 '대두발효식품'의 품질향상을 위하여 수출용 브랜드화에 적합하도록 전통적 발효기술을 접목한 「소형 생산시스템」을 개발하고자 함.

### ○ 개발 필요성

- 쌀 대체작물로서 콩 재배면적 확산에 따른 콩 가격 하락 우려
- 서구화 식문화의 문제점을 해소할 수 있는 콩의 대체건강식품으로 부상
- 전통 대두발효식품의 지속적 제조공정의 과학적 관리 절실히 요구
  - <발효스타트 케이크의 불균일성 및 위해곰팡이 번식문제>
  - <자연 발효조건의 온도-통풍-습도, 실내 위치별 일조량 차이>
  - <염장숙성·자연발효 장독의 일광 편중 현상, 용기내 표면오염>
- 신세대 및 외국인의 기호도에 만족하는 제품 요구
  - <장시간 저장변색, 특수한 이미 및 이취 개선문제 시급한 사안>
- 주변 환경으로 부터 제조공정에서 세레우스 오염 및 저감화 방안
  - <국제 규격 :  $10^4/1g$  마리 이하로 존재,  $10^6/1g$  마리 이상 중독발생>
  - <서구인들의 식중독 세균으로서 우려 - 예방대책 강구>
- 겨울철 집중생산에 따른 수출에 적합한 년중 생산이 불가능
  - <일정한 품질을 정기적으로 소비자가 요구하는 시기 제공 곤란>
- 건실한 '대두발효식품' 회사의 해외진출 판매확대 기여
- 수출용 전통 대두발효식품(100%) 제조·유통에서 해결할 주요 '5대 사항'
  - <균일품질+기호성(냄새)+유통변색(흑변)+연중생산체계+세레우스 저감화>

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### ○ 고품질 스타트케이크 및 수출용 대두발효식품의 「소형 생산시스템」 개발

- 고품질 스타트 케이크 생산을 위한 「고정화 성형기」 개발
  - 증자콩 분쇄도가 스타트 케이크 성형에 미치는 영향
  - 성형 크기·조건, 압착력이 스타트 케이크 품질에 미치는 영향
- 발효용기의 개발 및 「회전·음향진동공법」의 최적조건 탐색
  - 용기의 형태, 크기(용량) 및 내면에 따른 품질특성
  - 발효용기 회전주기 및 음향진동에 따른 품질평가
- 「대두발효식품」의 연중 생산을 위한 성형기 제조공정의 최적화
  - 계절에 따른 스타트케이크의 크기 조절
  - 계절별 국균의 고정화 및 염장숙성조건 검토

#### ○ 소형 생산공정 단계별 대두 발효식품의 '품질특성' 평가

- 「스타트 케이크」의 품질특성 평가 및 최적 발효공정 검토
  - 동아시아 '대두발효식품'의 문헌조사 및 정보수집
  - 스타트 케이크의 발효도 평가
- 발효·숙성 단계중의 전통장류의 품질특성 조사
  - 용기의 형태 및 크기(용량)
  - 용기회전 주기 및 음향진동조건
- 연중 생산된 「대두발효식품」 품질특성 조사 및 평가

#### ○ 기능성 농산물과 발효균에 의한 「세레우스 저감화」 방안

- 기능성 농산물을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안
  - 기능성 농산물을 이용한 *B. cereus* 생육패턴
  - *B. cereus* 생육억제를 위한 항균미생물
- 유산균을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안
  - 발효원별 *B. cereus* 분포도 조사
  - 유산균 및 바실러스균의 상호 생육도 조사
- 포자발아율 증진법을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안
  - 우리나라 대두발효식품의 *B. cereus* 오염도
  - 각 공정단계별 *B. cereus* 분포도 및 저감화 효과
  - 포자의 영양세포로 전환율 및 열충격 사멸조건

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 연구개발 결과

#### 가. 고품질 '스타트케이크' 제조 및 소형 생산시스템 개발

- 메주 스타트케이크의 농가 보급형 성형기는 파쇄기 장치(I), 계량부위(II), 유압식 압착부위(III), 다양한 크기와 형태의 메주 '스타트 케이크'를 수동식 성형부위(탈·부착용)로 구성하였다.
- 성형기 압력이 높을수록 케이크의 쪼개짐과 균사 침투 성장율이 낮았으며, 유해 곰팡이 번식율도 낮추는 효과가 나타났다.
- 증자콩의 온도와 파쇄도가 높일수록 쪼개짐과 균사 침투율이 낮았으며, 약간 낮은 콩 단백질 분해율을 나타내었다.
- 증자콩의 스타트케이크의 크기가 대형으로 되면, 쪼개짐과 균사 침투 성장율이 상대적으로 높았다.
- 외층부 고정화균으로 *A. oryzae*가 그 쪼개짐이 가장 적었고, 균사 침투 성장율도 높았으며, 콩 단백질 분해율도 가장 높았다. 적국균은 성장속도가 매우 낮았으며, 동충하초는 빠른 성장속도와 발효 향을 은근하게 생성하는 특징이었고, 중간층의 코팅화 스타트 케이크의 내부로의 성장 억제를 균사체 세포벽 분해에 따른 내부로 성장률은 매우 낮았다.
- 발효용기의 형태는 폭이 넓고, 장직경의 중심 하단이 낮은 볼록용기가 발효·숙성에서 태양광선을 많이 받는 적합한 형태임을 알 수 있었다.
- 유약 무코팅+발효균 배양의 실험구 용기가 유약 무코팅 실험구 용기와 대조구 용기에 비하여 아미노태질소 성분의 생성을 촉진하였다.
- 회전용기에서 아미노태 질소함량이 점진적으로 높아지는 경향을 나타내었으며, 생된장에도 용기 부위별 된장의 평균값으로 아미노태 질소는 용기 회전방법이 효과적이었다.

- 트랜스듀스 강도(level 3~4)가 높아질수록 발효균 성장과 장류 아미노태질소 함량을 높혀 주었고, 블록용기 좌·우 측면보다는 바닥면에 약간의 거리를 두고 분산·설치하는 것이 효과적이었다.
- 아미노태질소는 저온건조(A)와 고온다습(D)기간에서 그 함량이 낮아졌으며, 종국 함량이 높아질수록 낮아지는 경향을 나타내었다.
- 황국균은 모든 계절에서 0.4%로 첨가하면 스타트 제조가 가능하였으며, 백국균은 0.6% 이상으로 첨가하여야 하며, 성장속도가 낮았다.
- 주생산 A·B 기간은 저염도 18~20도에서 발효·숙성을 하였고, 고온건조 C·고온다습 D 구간은 일반염도 21도로 실시하였다.
- 스타트 케이크에 매실, 느타리버섯, 양파를 첨가하여 만든 전통된장은 품질증진에 타 기능성 농산물에 비하여 효과적이었다.
- 연중 제조하는 메주 스타트케이크의 발효기간·크기·종국은 각각 90~30일, 4,500~3,000 cm<sup>3</sup>, 0.4~0.2%로 감소시켜야 하며, 고온건조 C·고온다습 D구간에서는 염도 증가 필요하였다.

#### 나. 소형 생산공정 단계별 대두 발효식품의 품질특성 평가

- 일반 및 바실러스균은 산소공급과 수분함량이 높은 중간층이 왕성하게 성장하였으며, 버섯균사체의 중심부는 장시간 발효조건 때문에 국균과는 달리 바실러스 세균의 분포가 높은 경향을 나타내었다.
- 스타트 케이크의 중간층이 왕성한 결과로 인하여 발효도 간접지표로 활용되는 amylase와 protease 효소생산에 효과적인 것으로 나타났다.
- 황국균과 적국균은 비교적 높은 값을 나타내었으며, 동충하초는 성장속도는 빠르지만 버섯균사체배양에서 다소 낮은 값을 나타내었다.
- 환원당과 총당은 양파 > 마늘 > 생강 순으로 높았고, 아미노태 질소는 마늘과 생강이 아주 낮았으며, 양파를 첨가한 스타트 케이크가 가장 높은 함량을 나타내었다.

- 바실러스 세균은 매실이 가장 낮은 분포를 나타내었으며, 밀과 쌀 등의 탄수화물 재료는 비교적 높은 성장을 나타내었다. 아미노태 질소는 표고를 첨가한 스타트 케이크에서 가장 높은 함량을 나타내었다.
- 볼록용기를 주기적으로 회전시킴으로서 일조량을 고르게 받을 수 있어서, 전통된장 품질에 영향을 줄 수 있을 것으로 판단되었다.
- 소성 온도별로 용기의 내측면에서 총 유리아미노산은 1,300℃는 2,811 mg%로 최대 400 mg% 정도의 차이를 나타내었다.
- 유리당과 유리아미노산은 저온건조+장기 발효기간인 LTOH(I) > 저온저습 LTLH(II) > 고온중습 HTMH(III) 순이었다.
- 유기산은 고온 다습 LTHH(IV) > HTMH(III) > LTOH(I) 순이었다.

#### 다. 기능성 농산물과 발효균에 의한 세레우스 저감화 방안

- *Bacillus cereus*의 항균성은 서목태, 검정쌀, 검정옥수수에서 투명환이 13 mm로 가장 뚜렷하고 넓게 나타나 항균력이 높았으며, 최소저해농도(MIC)는 9~16 mm로 나타났다.
- 지실, 후박, 감초, 두충 및 쑥 등은 효과적으로 *B. cereus*의 생육을 억제하였으나, *B. subtilis*의 생육도 동시에 억제하는 경향을 나타내어 전통콩 발효식품을 제조하는데 사용하는 것은 어려운 것으로 판단되었다.
- 느타리버섯의 추출물은 *B. cereus*의 생육을 억제하고 *B. subtilis*의 생육에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.
- 전통된장 용액에 느타리버섯 추출물을 첨가한 시험구에서 균수의 감소가 느리게 일어났으나 *B. cereus*를 접종한 시험구에서는 대조구보다 느타리버섯 추출물을 첨가한 시험구에서 균수의 감소가 빠르게 일어남을 알 수 있었다.
- 식품위생미생물에 대하여 강한 항균활성을 나타내는 유산균을 발효균주

로 사용할 경우 콩 배지에서 비교적 생육이 양호한 *L. plantarum* KCTC 3104 균주를 발효균주로 사용하여도 될 것으로 판단되었다.

- 식중독을 유발하는 *B. cereus* 균수는 검토한 시료에 따라 약간의 차이는 있었지만 모든 식품에서  $10^1 \sim 10^3$  cfu/g 수준으로 검출되었으며 고추장, 된장 및 청국장보다 메주에서 약간 많은 균수가 검출되었다.
- *B. cereus* 균수는 계절에 따라 약간 차이를 나타내어  $10^1 \sim 10^3$  cfu/g을 나타내었다. 이상의 결과로 총 균수 및 *B. cereus* 균수는 봄과 겨울보다는 기온이 높은 여름철인 8월에 수거한 시료에서 약간 높게 나타났다.
- 원료 콩, 메주, 염수 및 최종제품인 된장 중의 *B. cereus* 오염도를 검토한 결과 원료 콩에서 *B. cereus*의 오염도가  $10^4$  cfu/g를 나타내어 가장 높은 오염도를 나타내었으며 그 다음은 메주, 염수 및 된장의 순으로 나타났다.
- 에탄올의 농도가 0%에서 20%농도까지 증가함에 따라 *B. cereus*의 생육 및 포자의 발아는 약간씩 억제되었지만 30% 이상의 농도에서는 급격하게 억제되는 것으로 나타났다.
- 20%의 NaCl농도에서는 약간의 생육저해를 받는 것으로 나타났다. 그리고 포자 발아를 검토한 결과 5%까지는 전혀 영향이 없었으나 20%의 농도에서는 약간 영향을 받는 것으로 나타났다.
- 청국장 점질물의 2% 첨가까지는 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났으나 3% 시험구에서는 크게 영향을 받아 대조구에 비하여 약 50% 정도만이 발아하지 않은 것으로 나타났다.
- 15℃이하 및 45℃ 이상의 온도에서는 *B. cereus* 포자발아율이 낮은 것으로 판단되었다.



## 2. 활용에 대한 건의

본 과제에서 수출용 전통장류의 제조공정 최적화와 그 응용에 대한 연구는 캡슐형 메주 스타트케이크의 제조공정 최적화 도출 및 염장숙성이나 생된장 숙성·발효공정에서 발효용기, 음향진동·간헐적 회전법의 적용을 통한 그 품질증진에 대한 것으로, 이 결과를 근거로 하여 메주 스타트케이크의 응용면에 대한 더욱 진보적인 품질특성 개선 및 기능성에 관한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 아울러 본 연구의 결과는 양념소·김치, 누룩·전통주 등 다른 전통발효식품 등에 그대로 적용 가능하리라 사료된다. 본 연구결과는 특허출원하고, 관련 중소기업의 수출용 제품 생산라인을 갖춘 기업체에 기술을 이전하여 산업화가 가능할 것으로 판단된다.

## SUMMARY

For the production of high-quality fermented soybean foods with functional foodstuffs and seed strains such as an useful mold, mycelial mushroom and bacteria, the quality of *Meju* starter cake was important in the point of fermentation condition, safety of microbial contamination and its application. *Meju* molder was composed in the four parts of cruching(I), measuring(II), oil- pressing(III) and molding(IV) components. Splitting and mycelial growth into inner part of *Meju* 'starter cake' was different by pressure of cake molder, temperature of cooked soybean, size of cake. Optimal fermenting microbes of outer part of *Meju* stater cake, added with 0.3%(w/w), were confirmed to be *Apergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* and mycelial mushroom, *Cordyceps militaris*. Cetral and midium parts of cake were *Bacillus subtilis* SJ-61 and *B. subtilis* HS-25 and optimal concentration were 0.2% and 0.5%, respectively. Acoustic vibration, rotating and non coating inner surface of *Ongki* were effective in increasing the quality of *Doenjang* of natural fermentation process systems. Optimal manufacturing conditions throughout year were found to be the fermentation period, 90 to 30 days ; cake volume, 4,500 to 3,000 cm<sup>3</sup> and seed starter, 0.4 to 0.2%(w/w) according to process steps (I)~(IV). Growth of *B. cereus* was effectively inhibited by black foods of soybean, rice and corn. Extract of *Pleurotus ostreatus* flesh(fruiting body) were or not selectively inhibited against *B. cereus* and *B. subtilis*, respectively, and then viscous substance of *Chungkukjang* prohibited the endospore germination over 3% concentration.

## CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	12
Chapter 2. Domestic and International Trends .....	14
Chapter 3. Research Contents and Results .....	15
1. Development of molding system of meju starter cake .....	15
2. Development of strain immobilized Ongki and music vibration- rotated Ongki system .....	26
3. Optimization of starter cake molding system throughout year ...	44
4. Assesment of starter cake quality for optimal process .....	52
5. Quality properties of capsule meju cake/fermented soyfood .....	65
6. Assesment of quality properties and process of traditional fermented soyfood throughout year .....	84
7. Reduction of <i>B. cereus</i> by functional agro-foodstuffs .....	88
8. Reduction of <i>B. cereus</i> by lactic acid bacteria .....	111
9. Reduction of <i>B. cereus</i> by spore germination/ .....	120
Chapter 4. Degrees of Achieving the Research Goals and Contribution to the Related Fields .....	128
Chapter 5. Plans for the Utilization of Results .....	129
Chapter 6. Scientific and Technological Informations Collected during the Study .....	131
Chapter 7. References .....	131

## 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	12
제 2 장	국내외 기술개발 현황	14
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	15
제 1 절	고품질 스타트 케이크 생산을 위한 「고정화 성형기」 개발	15
1.	재료 및 방법	15
2.	결과 및 고찰	16
제 2 절	발효용기의 개발 및 「회전·음향진동공법」의 최적조건	26
1.	재료 및 방법	26
2.	결과 및 고찰	29
제 3 절	「대두발효식품」 연중생산을 위한 성형기 제조공정의 최적화	44
1.	재료 및 방법	44
2.	결과 및 고찰	45
제 4 절	「스타트 케이크」의 품질특성 평가 및 최적 발효공정 검토	52
1.	재료 및 방법	53
2.	결과 및 고찰	56
제 5 절	발효·숙성 단계중의 전통장류의 품질특성 조사	65
1.	재료 및 방법	65
2.	결과 및 고찰	67
제 6 절	연중 생산된 「대두발효식품」 품질특성 조사 및 평가	84
1.	재료 및 방법	84
2.	결과 및 고찰	84
제 7 절	기능성 농산물을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안	88

1. 재료 및 방법 .....	88
2. 결과 및 고찰 .....	92
제 8 절 유산균을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안 .....	111
1. 재료 및 방법 .....	111
2. 결과 및 고찰 .....	113
제 9 절 포자발아율 증진법을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안 .....	120
1. 재료 및 방법 .....	120
2. 결과 및 고찰 .....	122
제 4 장    목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	128
제 5 장    연구개발결과의 활용계획 .....	129
제 6 장    연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	131
제 7 장    참고문헌 .....	131

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발 목적

자연발효를 통하여 제조되는 전통 '대두발효식품'의 품질향상을 통한 수출용 브랜드화에 적합한 전통적 발효기술의 「소형 생산시스템」을 개발하고자 함.

### 제 2 절 연구개발 필요성

- 쌀 대체작물로서 콩 재배면적 확산에 따른 콩 가격 하락 우려  
<전국적으로 농지보상비 등의 지원으로 국산콩 생산량 증가>
- 서구화 식문화의 문제점을 해소할 수 있는 콩의 대체건강식품으로 부상  
<대두발효식품의 성인병, 심순환계질환의 예방 효과 부분적 입증>
- 전통 대두발효식품의 지속적 제조공정의 과학적 관리 절실히 요구  
<발효스타트 케이크의 불균일성 및 위해곰팡이 번식문제>  
<자연 발효조건외 온도-통풍-습도, 실내 위치별 일조량 차이>  
<염장숙성·자연발효 장독의 일광 편중 현상, 용기내 표면오염>
- 신세대 및 외국인의 기호도에 만족하는 제품 요구  
<장시간 저장변색, 특수한 이미 및 이취 개선문제 시급한 사안>
- 주변환경으로부터 제조공정에서 세레우스 오염 및 저감화 방안  
<국제 규격 :  $10^4/1g$  마리 이하로 존재,  $10^6/1g$  마리 이상 중독발생>  
<서구인들의 식중독 세균으로서 우려 - 예방대책 강구>
- 겨울철 집중생산에 따른 수출에 적합한 년중 생산이 불가능  
<일정한 품질을 정기적으로 소비자가 요구하는 시기 제공 곤란>
- 건설한 '대두발효식품' 회사의 해외진출 판매확대 기여
- 수출용 전통 대두발효식품(100%) 제조·유통에서 해결할 주요 '5대 사항'  
<균일품질+기호성(냄새)+유통변색(흑변)+연중생산체계+세레우스 저감화>

### 제 3 절 연구개발 내용 및 범위

구분	세부과제	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차 년도	제1세부	고품질 스타트 케이크용 고정화 성형기 개발	○ 증자콩 분쇄도가 스타트 케이크 성형에 미치는 영향 ○ 성형 크기, 조건, 압착력이 스타트 케이크 품질에 미치는 영향
	제2세부	스타트 케이크의 품질특성 · 최적 발효공정	○ 동아시아 '대두발효식품'의 문헌조사 및 정보수집 ○ 스타트 케이크의 발효도 평가
	제3협동	기능성 농산물을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안	○ 최종 국균과 버섯균사체의 성장속도와 발효 특성 ○ 기능성 농산물과 스타트케이크 발효균과의 증식도 ○ 기능성 농산물을 이용한 <i>B. cereus</i> 생육패턴 ○ <i>B. cereus</i> 생육억제를 위한 항균미생물
2차 년도	제1세부	발효용기 개발 및 회전 · 음향진동공법의 최적조건	○ 용기의 형태 및 크기(용량)의 최적화 ○ 용기내면 미세 다공성구조의 발효용기 제조 ○ 발효용기 회전주기 및 음향진동 최적화 조건
	제2세부	발효 · 숙성 단계중 전통장류의 품질특성 조사	○ 용기의 형태 및 크기(용량) ○ 용기회전 주기 및 음향진동조건 ○ 용기 내면의 다공성
	제3협동	발효균을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화	○ 발효균의 선정 및 대두 발효특성 평가 ○ 발효원별 <i>B. cereus</i> 분포도 조사 ○ 고초균 및 유산균의 상호 생육도 조사
3차 년도	제1세부	연중 생산을 위한 성형기 제조공정의 최적화	○ 계절에 따른 스타트케이크의 크기 조절 ○ 계절별 국균의 고정화 및 염장숙성조건 검토 ○ 기능성 농산물 첨가의 영향
	제2세부	연중 생산된 「대두발효식품」 품질 특성 조사 · 평가	○ 기능성 농산물 종류에 따른 '대두발효식품'의 품질평가 ○ 발효균주 구성에 따른 '대두발효식품'의 품질평가 ○ 염장숙성 조건에 따른 '대두발효식품'의 품질평가
	제3협동	포자 발아율을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안	○ 우리나라 대두발효식품의 <i>B. cereus</i> 오염도 ○ 각 공정단계별 <i>B. cereus</i> 분포도 및 저감화 효과 ○ 포자의 영양세포로 전환을 및 열충격 사멸조건 ○ 발효균주 구성에 따른 항균활성 패턴

## 제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

- 고품질 기능성 된장 퓨전식품 제조기술개발 (된장을 이용한 닭고기 등의 퓨전소스 개발한 것)
  - 발효에 의한 생물활성 강화 기능성 대두제품 개발(자연 발효공정 개선에 관한 것이 아니고, 발효과정 중에 대두 성분변화 및 생리활성 변화 분석함)
  - 한국전통식 간장 · 된장의 이취 제거용 균주 및 발효기법 개발-(곰팡이 배양을 병용하여 냄새성분 낙산을 제거할 수 있는 것)
  - 생체측매시스템과 고에너지 처리에 의한 된장의 발효속성 촉진방법-(청국장과 일식코지를 혼합하는 속성된장 제조법에 관한 것)
  - 버섯균사체를 이용한 기능성 간장 · 된장 생산기술 개발-(전통메주에 외 표면에 구멍(holl)을 뚫어 균사성장하게 한 실험으로 전체 표면에 번식속도가 늦고, 현장 공정개선에 전무)
  - 전통 간 · 된장의 기능성 물질 탐색 · 동정 및 기능성강화 제조공정 설정-(시중 전통된장의 단순 분석결과이며, 현장 공정개선에 관한 것은 전무)
- ☞ <전체적인 활용현황 분석> 대두발효식품의 연구과제가 아직은 특별하게 산업화 현장에 기술 이전하여 실용화 단계에 적용한 실례는 거의 찾을 수 없었으며, 단지 관련 논문투고 등의 수준에서 연구결과들이 주로 대부분이었음.



## 제 3 장 연구 개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 고품질 스타트 케이크 생산을 위한 「고정화 성형기」 개발

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. 실험재료

본 실험에서 대두스타트케이크 제조용의 콩은 전통장류 발효에 적합한 중간크기의 건실한 태광 품종을 사용하였다.

##### 나. 메주의 제조

콩은 대두를 사용하여 수돗물에 12시간 불린 다음 상압에서 4시간(강-중-약불) 삶은 후 메주를 성형하였는데, 메주의 전체 크기는 10×20×8 cm(1600 cm<sup>3</sup>)의 목각형으로 만들었다. 그 중 외층은 수침하고 껍질을 박피한 증자 검정콩(흑태)를 마쇄하여 종국(*Aspergillus oryzae*)을 0.3% 농도(w/w)로 고르게 섞어 두께를 1 cm 정도로 하였으며, 중간층은 대두를 외층보다 더욱 세밀하게 분쇄하여 *Bacillus subtilis* SJ-61 균체액을 0.5% 농도(w/w) 혼합하여 두께를 0.5 ~ 0.8 cm로 코팅하여 캡슐형 메주 스타트케이크로 성형하였다. 그리고 내층도 박테리오신을 강하게 생성하는 전통 청국장으로부터 분리·동정된 *Bacillus subtilis* HS-25균주 배양액 균체를 0.2%(w/w) 농도로 첨가하였다. 3일간 자연건조하여 캡슐메주와 동시에 한국전통발효식품연구소의 황토방 발효실에서 온도 25℃, 습도 60%로 메주를 7일 동안 발효시킨 후, 실외<평균기온 12월(3.6℃), 1월(0.5℃)>에서 2차 발효를 30일간 실시하였다.

## 다. 실험방법

### 1) 수분함량

발효가 종료된 스타트 케이크에서 부위별(표면, 중간 및 중심부)의 수분함량은 105℃ 건조법을 이용하여 측정하였다.

### 2) 아미노태질소

아미노태 질소(NH<sub>2</sub>-N)는 Formol 적정법으로 하였는데, 시료 5 g을 250 mL 비이커에 넣고 증류수 100 mL을 가하여 1시간 동안 교반하여 충분히 혼합한 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 적정하였다. 이때에 중성포르말린 용액을 20 mL한 다음 다시 pH가 산성화되면 0.05 N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 적정하여 다음 식으로 아미노태 함량을 계산하여 mg%(w/w)로 나타내었다.

$$\text{NH}_2\text{-N}(\%) = \frac{(A-B) \times 1.4 \times F \times 100}{\text{시료량 (g)}}$$

A : 0.05N NaOH 용액의 시료 적정량(mL)

B : 0.05N NaOH 용액의 공시험 적정량(mL)

C : 0.05N NaOH의 factor

## 2. 결과 및 고찰

자연발효 메주의 표면에는 제조과정중 공기로부터 착생하여 번식하는 곰팡이가 많이 발생할 수 있는데, 그 중에서 유용 곰팡이로는 털곰팡이(*Mucor*속), 거미줄곰팡이(*Rhizopus*속) 및 일부 국곰팡이(*Aspergillus*속)이 주류를 이루어 메주표면에서 부수적인 발효를 행한다. 한편 메주의 내부에는 주로 메주콩 자체에서 유래되는 주요 고초균(*Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* 등)을 포함한

*Bacillus*속 세균이 증식하면서 독특한 냄새를 발생하고 단백질 분해효소 등 각종 효소를 생성하여 메주의 주도적인 발효를 행하는데, 이들 발효균이 전통장류의 독특한 맛과 향을 좌우하는 역할을 행한다. 따라서 메주는 우리나라 전통장류 제조를 위해 중요한 starter cake로 사용되며 그 품질이 장의 맛과 위생적인 품질지표를 결정하는 중요한 발효 소재이다.

그러나 장기간 자연발효 시키는 전통메주의 문제점으로는 첫째 겨울철에 비가 많이 오거나 습도가 높아지는 불리한 자연환경 조건에서는 메주 표면이나 표면으로부터 내부 2~3 cm에 푸른 곰팡이, 검은 곰팡이 및 붉은 곰팡이 등 야생 곰팡이가 발생할 수 있다. 그 중에는 유용 발효균주인 황국균(*Asp. oryzae*)과 외형적으로 거의 유사한 *Asp. flavus* 및 *Asp. parasiticus* 등이 오염되어 강력한 발암물질로 알려진 aflatoxin과 같은 인체에 유해한 곰팡이 독소(mycotoxin)가 생성될 잠재성이 충분히 있다. 둘째 메주를 외부 환경에서 2~3개월간 장기 발효시키므로 그 표면이 과도하게 건조되어 갈라지게 되며, 그 틈으로 야생 곰팡이가 메주 내부까지 깊게 번식할 가능성이 높다. 셋째 과도한 건조에 의한 메주 표면의 콩 단백질의 분해율이 낮아지고, 넷째 메주 표면에 콩 지방의 산패가 일어나므로 메주 콩에 함유된 불포화지방산이 산소와 접촉하여 변색, 불쾌한 냄새나 맛을 형성하거나 영양적 가치가 손실되는 등 품질이 저하된다.

본 연구자들은 이와 같은 전통메주의 문제점을 해결하기 위하여 “캡슐형 메주”를 착안하게 되었으며(Fig. 3.1.1), 그 제조방법은 대두보다 유용곰팡이의 증식속도가 빠르고, 지방성분의 함량이 낮으며 기능성 물질의 함량이 높은 검정콩을 그대로 쓰거나 종피를 박피하여 메주 유용발효균(곰팡이, 버섯균사체 등)을 혼합한 다음 메주의 표면에 얇게 코팅시켜서 2단계 발효를 행한다. 즉 외층은 검정콩과 발효균으로 이루어지며 유용 발효균 곰팡이나 버섯이 야생곰팡이의 생육을 차단시키게 되며, 중간층은 세밀하게 마쇄한 대두에 *Bacillus*속 세

균을 접종하여 외층의 유용 발효균의 내부 침투 차단시키는 역할을 한다. 또한 내층은 전통메주처럼 굵은 입자의 대두로 이루어지며, 자연 유래의 전통메주 발효세균 혹은 혈전용해능, 고역가 효소 및 박테리오신 등을 분비하는 스타트 발효세균을 접종에 의하여 메주 발효의 주도적 역할을 하게 된다.

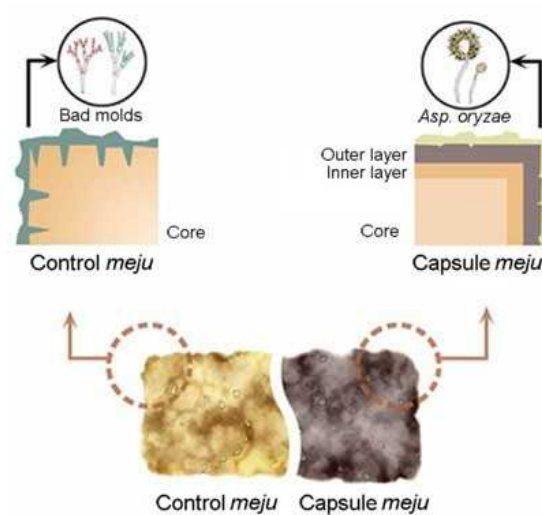


Fig. 3.1.1. Shape and longitudinal cross section of conventional *Meju*(as control) and capsule type *Meju* coated with cooked soybean or black bean and *Asp. oryzae koji* powder during fermentation.

#### 가. 성형기 제작 및 특성

식품 위생적 안전성이 확보된 균일한 품질의 메주 ‘스타트 케이크’를 제조하기 위하여 다음과 같이 단속적인 농가 보급형 「소형 성형기」를 제작하였다. 각 공정의 기계 부위별로는 불림 콩을 증자시키는 파쇄기 장치(I), 일정한 무게를 다는 계량부위(II), 작업 효율성을 높이기 위한 유압식 압착부위(III), 다양한 크기와 형태의 메주 ‘스타트 케이크’를 수동식 성형부위(탈 부착 가능, 크기 조절)로 구분되어 있다(Fig. 3.1.2).

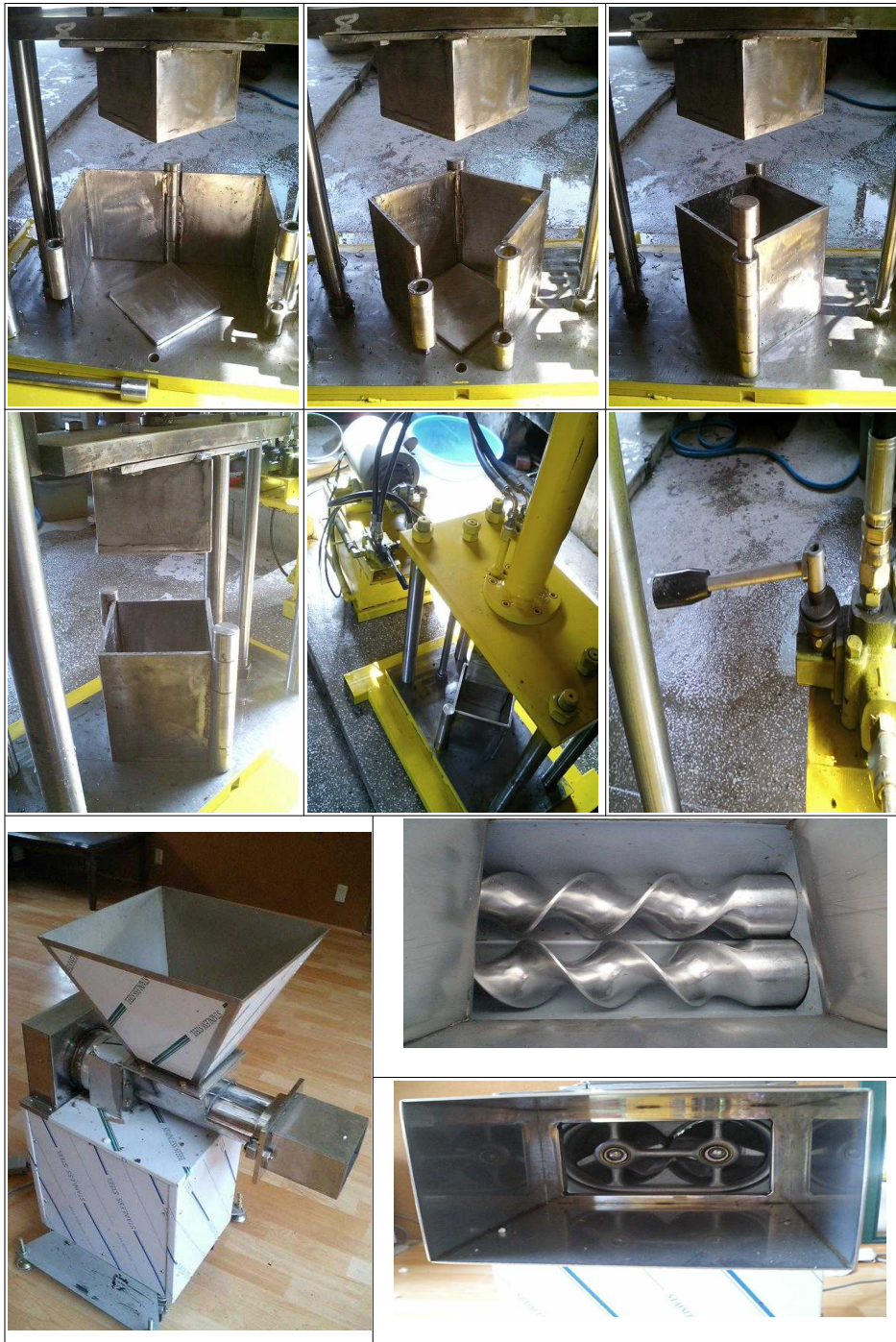


Fig. 3.1.2. Small-sized process system for making of *Meju* 'starter cake'.

나. 성형기 압력이 '스타트 케이크' 특성에 미치는 영향

전통 메주의 품질과 식품위생 안전성 확보 차원에서 기계적으로 개량된 캡슐형 메주 개발을 위한 성형기 압력별 '스타트 케이크'의 품질특성을 조사한 결과는 Table 3.1.1과 같다. 압력을 높일수록 찌개짐과 균사 침투 성장율이 낮았으며, 낮은 콩 단백질 분해율을 나타내었지만 큰 차이는 없었다. 그러나 유해 곰팡이 (푸른 곰팡이, 검은 곰팡이 등) 번식율을 낮추는데 효과적인 것으로 나타났다.

성형판의 상·하-형틀은 크기와 형태 등이 다른 몰드를 탈·부착 가능하도록 되어 있으며, 압력을 측정할 수 있는 집합부가 있고, 메주 성형온도는 현 단계에서는 증자 솔에서 나오면 자연 방냉하여 적절한 온도에 이르면 성형하는 방식으로 되어있다. 메주 파쇄기는 롤러 통한 압착으로 출구에서 메쉬 크기에 따라 파쇄정도를 다르게 하는 방식으로 '스타트 케이크'를 제조하였다.

Table 3.1.1. Effect of moulder pressure on quality characteristics of *Meju* 'starter cake' prepared with *Aspergillus oryzae*

Pressure	Quality characteristics of starter cake							
	Splitting	Fungus (Inner)	Moisture (%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
			Surface	Middle	Center	Surface	Middle	Center
Low	+++	+++	41.8	54.8	58.3	432.1	344.2	288.0
Medium	++	+++	45.2	56.8	56.1	438.5	347.9	279.5
High	++	++	48.4	57.6	57.6	356.7	357.1	280.6

+ 약하다, ++ 강하다, +++ 아주 강하다

다. 증자콩 온도가 '스타트 케이크' 특성에 미치는 영향

전통 메주 스타트케이크는 내부는 바실러스 세균이 성장하고 표면은 하등 곰팡이를 포함한 사상균의 성장이 양호한 캡슐형 스타트케이크를 개발하고

자 하였다. 이런 점을 고려하여 압착 메주 증자콩의 온도별 '스타트 케이크'의 품질특성을 조사한 결과는 Table 3.1.2와 같다. 증자콩 온도가 높일수록 찌개짐과 균사 침투 성장율이 낮았으며, 약간 낮은 콩 단백질 분해율을 나타내었지만 큰 차이는 없었고, 중심부 단백질 분해율은 중간부위별 보다는 약간 차이가 나타났다.

Table 3.1.2. Effect of temperature of cooked soybean on quality characteristics of *Meju* 'starter cake' prepared with *Aspergillus oryzae*

Temp. of cooked soybean	Quality characteristics of starter cake							
	Splitting	Fungus (Inner)	Moisture (%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
			Surface	Middle	Center	Surface	Middle	Center
40°C	+++	+++	42.6	50.2	57.4	438.2	340.2	268.5
60°C	++	+++	44.8	51.6	58.1	428.4	350.6	278.4
80°C	+	++	52.3	56.4	57.8	420.7	356.2	260.1

라. 증자 콩의 파쇄도가 '스타트 케이크' 특성에 미치는 영향

자연발효의 스타케이크로서 우리 전통메주의 증자 콩 파쇄도는 그 발효도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3.1.3과 같다. 증자 콩의 파쇄도가 높을수록 찌개짐과 균사 침투 성장율이 낮았으며, 콩 단백질 분해율을 낮은 값을 나타내었지만, 압력이나 증자콩 성형온도의 영향과 같이 중심부의 콩 단백질 분해율이 중간 부위별 보다는 약간 낮은 값을 나타내었다.

Table 3.1.3. Effect of crushing degree of cooked soybean on quality characteristics of *Meju* 'starter cake' prepared with *Aspergillus oryzae*

Crushing	Quality characteristics of starter cake							
	Splitting	Fungus (Inner)	Moisture (%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
			Surface	Middle	Center	Surface	Middle	Center
Low	+++	+++	30.4	52.9	58.6	444.7	350.4	300.2
Midium	++	++	38.9	54.7	59.2	463.2	356.4	299.5
High	++	++	43.2	54.2	57.8	480.3	377.2	312.4

마. 성형 크기가 '스타트 케이크'의 특성에 미치는 영향

전통 메주용 스타트 케이크의 크기는 메주성형의 압착도나 증자 콩의 파쇄도와 마찬가지로 그 발효도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 3.1.4와 같다. 증자 콩의 메주 스타트케이크의 크기가 대형으로 크게 되면, 쪄개짐과 균사 침투 성장율이 상대적으로 높았으며, 그러나 약간 낮은 콩 단백질 분해율을 나타내었지만 큰 차이는 없었다. 중심부 단백질 분해율은 중간부위별 보다는 큰 차이가 없었다.

바. 발효균 「고정화 조건」이 '스타트 케이크'의 특성에 미치는 영향

① 외층부의 고정화

메주 스타트케이크의 외층부의 유해곰팡이 오염을 억제하기 위하여 버섯균사체(동충하초 *Paecilomyces japonica*, 팽이 *Flammulina velutipes*, 느타리



*Pleurotus ostreatus*)와 국균(백국 *Rhizopus oligo sporus*, 황국 *Aspergillus oryzae*, 홍국 *Monascus anka*, Fig. 3.1.3, 3.1.4)을 1%(w/w) 농도로 파쇄시킨 증자 콩에 균일하게 혼합시킨 다음, 압착 성형기로 고르게 코팅하여 그 발효도 품질특성을 조사한 결과는 Table 3.1.5와 같다.

*Aspergillus oryzae*가 쪄개짐이 가장 적었고 균사 침투 성장율이 상대적으로 높았으며, 콩 단백질 분해율도 가장 높았다. 수분 함유율도 비교적 높게 나타났는데, 그 이유는 균사체 성장 속도가 높아서 전체적인 스타트 케이크의 형태 유지가 양호하므로써, 내부 수분이동과 표면증발이 낮은 이유로 판단된다. 그리고 적국균은 성장속도가 매우 낮았으며, 콩 단백질 분해율도 버섯균사체와 마찬가지로 낮은 경향이였다. 동충하초는 다른 버섯 균사체보다 빠른 성장속도를 나타내었으며, 발효 향을 은근하게 생성하는 특징을 나타내었다.

Table 3.1.4. Effect of molding size of cooked soybean on quality characteristics of *Meju* 'starter cake' prepared with *Aspergillus oryzae*

Molding size(cm <sup>3</sup> )	Quality characteristics of starter cake							
	Splitting	Fungus (Inner)	Moisture (%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
			Surface	Middle	Center	Surface	Middle	Center
2,500	++	++	42.4	47.5	58.3	475.4	450.6	328.4
3,500	++	++	46.2	49.4	57.1	480.2	457.3	321.3
4,500	+++	+++	48.3	47.2	59.6	497.6	476.3	310.5

Table 3.1.5. Effect of mycelial mushroom and fungus of cooked soybean on quality characteristics of *Meju* 'starter cake'

Microbes	Microbial characteristics of starter cake							
	Splitting	Fungus (Inner)	Moisture (%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
			Surface	Medium	Center	Surface	Medium	Center
White	++	++	44.3	49.7	57.6	362.8	414.6	338.6
Yellow	+	+++	48.9	53.2	58.7	475.2	446.9	337.2
Red	+++	+	37.6	42.8	56.3	280.6	406.7	340.3
PJ	++	++	40.2	43.7	50.6	312.6	441.4	327.4
FV	+++	+	35.4	38.5	52.4	298.6	436.4	315.7
PO	+++	+	36.1	39.4	51.8	284.7	387.8	320.3

White, *Rhizopus oligosporus* ; Yellow, *Aspergillus oryzae* ; Red, *Monascus anka*  
 PJ, *Paecilomyces japonica* ; FV, *Flammulina velutipes* ; PO, *Pleurotus ostreatus*

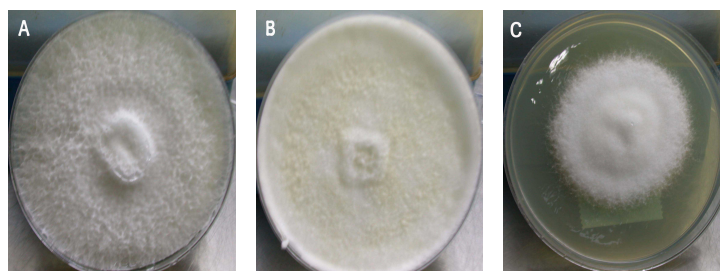


Fig. 3.1.3. Photographs of a potent hydrolytic enzyme-producing mushrooms used in this study.

A, *Pleurotus ostreatus* M-034 ; B, *Paecilomyces japonica* M-075 ; C, *Flammulina velutipes* M-084



Fig. 3.1.4. Changes in surface layer of capsule type *Meju* coated with cooked soybean or black bean and *Asp. oryzae* *koji* powder and fermented at 25°C for 14 days as first stage of fermentation(A, initial time ; B, 2 days ; C, 7 days of fermentation).

## ② 중간층의 코팅화

중간층은 스타트 케이크의 내부로의 성장억제를 적절하게 차단하기 위하여 이들 버섯균사체 및 국균의 세포벽 분해 세균으로 *Bacillus subtilis* SJ-61 균체액을 외층보다 더욱 세밀하게 분쇄한 대두에 0.5% 농도(w/w)혼합하고, 그 두께를 0.5 ~ 0.8 cm로 코팅하여 캡슐형 메주 스타트케이크로 성형하였다. 그 결과로는 균사체 세포벽 분해에 따른 균사체 내부로 성장률은 매우 낮았으며, 성형작업이 수동적으로 되므로 인하여 재현성이 있게 코팅하는 기술이 아직 부족한 실정인데, <회전형> 성형작업이 시작이 되면 중간층 코팅의 균일성이 높아서 코팅효과를 정확하게 평가할 수 것으로 판단되었다.

## 제 2 절 발효용기의 개발 및 「회전·음향진동공법」의 최적 조건 탐색

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 메주제조 및 된장 담그기

콩은 대두를 사용하여 수돗물에 12시간 불린 다음 상압에서 4시간(강-중-약불) 삶은 후 메주를 성형하였는데, 메주의 전체 크기는 10×20×8 cm(1600 mL)의 목각형으로 만들었다. 그 중 외층은 수침하고 껍질을 박피한 증자 검정콩(흑태)을 마쇄하여 종국(*Aspergillus oryzae*)을 0.3% 농도(w/w)로 고르게 섞어 두께를 1 cm 정도로 하였으며, 중간층은 대두를 외층보다 더욱 세밀하게 분쇄하여 *Bacillus subtilis* SJ-61 균체액을 0.5% 농도(w/w) 혼합하여 두께를 0.5 ~ 0.8 cm로 코팅하여 캡슐메주로 성형하였다. 그리고 내층도 박테리오신을 강하게 생성하는 전통 청국장으로부터 분리·동정된 *Bacillus subtilis* HS-25 균주 배양액 균체를 0.2%(w/w) 농도로 첨가하였다. 3일간 자연건조하여 캡슐메주와 동시에 한국전통발효식품연구소의 황토방 발효실에서 온도 25℃, 습도 60%로 메주를 7일 동안 발효시킨 후, 실외<평균기온 12월(3.6℃), 1월(0.5℃)>에서 2차 발효를 30일간 실시하였다. 조건별로 발효용기에 메주를 염수와 함께 담아서 캡슐메주를 최대 설정기간 동안 염장·숙성한 후에 생된장을 분리하고, 생된장을 실외에서 120일간 발효·숙성하면서 분석시료로 하였다.

#### 나. 음향진동 발효장치의 구조 및 원리

음향진동(Acoustic vibration system) 발효법은 음파발생장치(I), 음파증폭장치(II), 음파에너지를 진동에너지로의 전환장치인 트랜스듀스(III)로 크게 3가지로 구분한다(Fig. 3.2.1). 그 원리는 음향진동 효과에 의하여 수소결합 등으로 전기적 인력으로 형성되어 있는 큰 다발(cluster)의 물 분자들이 작은 다발

의 소형 물분자 집단으로 전환되므로, 관련 발효미생물의 증식 촉진과 식품의 거친 맛을 부드럽고 깊은 맛으로 변환시켜주는 효과를 부여하는 것으로 알려져 있다(Fig. 3.2.2).



Fig. 3.2.1. Photos of Sonic Sound Amplifier and Transducer system.

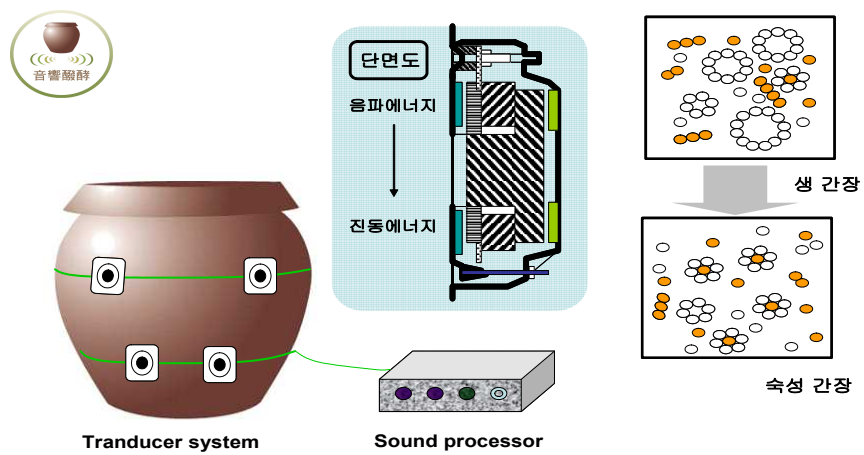


Fig. 3.2.2. Photos of Sonic Sound Amplifier, Transducer and Ongki system.

#### 다. 발효도 평가 분석

##### 1) 적정산도

적정산도는 시료 10 g에 증류수 50 mL를 가하여 0.1 N NaOH로 pH 8.3을 종말점으로 하여 그 소비량(mL)을 젖산의 함량으로 환산하여 %(w/w)로 나타내었다

##### 2) 환원당

환원당은 시료 5 g에 증류수 100 mL를 가하여 추출한 후 DNS (2,4-dinitrosalysilic acid)법으로 정량하여 시료 5 g을 250 mL로 정용하여 2,000 rpm, 1시간 동안 혼합하여 50 mL 취한 후 10% acetate 5 mL을 주입하고, 3.2% sodium oxalate 5 mL을 넣고, 여과지(No. 2)를 이용하여 여과하여 100 mL로 정용하였다. 그리고 1 mL을 취하여 DNS시약 3 mL을 첨가해 5분 동안 끓여 냉각 후 25 mL로 정용하여 혼합한 후, 흡광도 550 nm에서 측정하여 glucose함량으로 환산하였다.

##### 3) 아미노태질소

아미노태 질소(NH<sub>2</sub>-N)는 Formol 적정법으로 하였는데, 시료 5 g을 250 mL 비이커에 넣고 증류수 100 mL를 가하여 1시간 동안 교반하여 충분히 혼합한 후 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 적정하였다. 이때에 중성포르말린 용액을 20 mL한 다음 다시 pH가 산성화되면 0.05 N NaOH 용액으로 pH 8.4까지 적정하여 다음 식으로 아미노태 함량을 계산하여 mg%(w/w)로 나타내었다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 옹기의 형태와 크기(용량) 최적화

옹기의 입구와 밑바닥의 비율을 25 : 25로 하여, 장축 직경을 기준으로 높이(길이)의 비율을 3 : 7 ~ 4 : 6으로 하는 일반옹기(type I), 동일한 비율인 5 : 5로 하는 직립옹기(type II) 및 6 : 4 ~ 4 : 6으로 하는 볼록옹기(type III)로 구분하였다(Fig. 3.3.3).

옹기 입구 : 밑바닥 = 25 : 25



5 : 5

<직립옹기 type III>

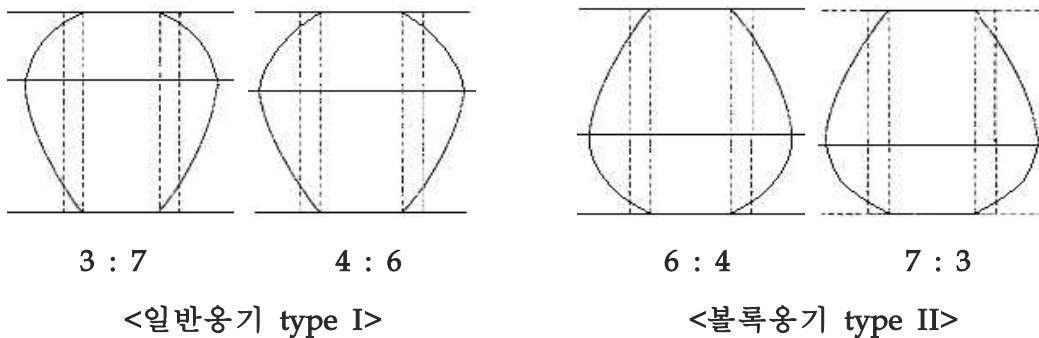


Fig. 3.3.3. Diagram photos of the different size - fermented *Ongki*.

### 1) 적정산도의 변화

옹기의 형태를 전통적으로 많이 사용하는 일반옹기(type I, 4:6)와 중앙

부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II, 6:4) 및 일체형으로 민민한 직립옹기(type III, 5:5)의 발효특성을 조사하기 위하여, 옹기를 4개월간 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃) 에서 발효하면서 된장의 적정산도를 조사한 결과는 Table 3.2.1과 같다. 산도(acidity)만으로 품질평가를 하는 어려운 점이 있지만, 볼록 옹기가 전통된장의 발효·숙성에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태임을 알 수 있었으며(120일, 0.69%), 상대적으로 일반형(0.69%) 및 직립형(0.53%)은 옹기의 전체적으로 햇빛을 받기에는 불리한 점으로 작용하여 발효균의 생육이나 생화학적 반응에서 다소 바람직하지 못한 것으로 판단되었다.

Table 3.2.1 Change in titratable acidity of traditional *Doenjang* prepared by the different shape of *Ongki* (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Shape)		
	I	II	III
0	0.32±0.05	0.36±0.04	0.33±0.08
60	0.45±0.02	0.51±0.07	0.38±0.03
90	0.57±0.06	0.67±0.02	0.47±0.05
120	0.69±0.06	0.78±0.09	0.53±0.07

(I) type : general *Ongki*, (II) type : wide *Ongki*, (III) type : straight *Ongki*

옹기의 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 옹기 크기별로 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장중의 적정산도를 조사한 결과는 Table 3.2.2와 같다. 옹기의 크기는 클수록 산생성이 낮은 것으로 나타났으며(0.73%→0.49%), 옹기가 크면서 발효·숙성기간이 경과하므로 큰 폭으로 증가하지는 않았기 때문에 대용량 옹기발효에서 신맛의 생성 정도는 추가적으로 실험이 수행되어야 할 것으로 생각된다(0.36% → 0.49%).



Table 3.2.2 Change in titratable acidity of traditional *Doenjang* prepared by the different volume of *Ongki* (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Volume)		
	10 L	20 L	40 L
0	0.34±0.07	0.32±0.02	0.36±0.03
60	0.48±0.04	0.41±0.04	0.39±0.08
90	0.59±0.07	0.52±0.06	0.43±0.03
120	0.73±0.04	0.64±0.03	0.49±0.06

## 2) 환원당의 변화

옹기의 형태를 일반적으로 많이 사용하는 전통옹기(type I)와 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II) 및 일체형으로 민민한 직립옹기(type III)의 발효특성을 조사하기 위하여 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장중의 환원당의 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.3과 같다. 환원당은 아미노태 질소의 함량과 마찬가지로 전통된장의 발효도를 나타내는 간접지표로서 의미가 있다. 그 결과 옹기의 형태는 폭이 넓고, 상대적으로 장직경의 중심 하단이 낮은 볼록옹기(type II)가 60일 전후로는 다른 형태의 옹기와 환원당 함량에서 차이를 나타내었다(120일, I형 1.67%, II형 1.92%). 일사광선의 조사량에서 불리한 직립형 옹기(type III)는 환원당의 함량이 상대적으로 낮은 경향을 나타내었다(1.32%).

옹기의 형태를 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 옹기 크기별로 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장중의 환원당을 조사한 결과는 Table 3.2.4와 같다. 전통옹기의 용량은 클수록 환원당의 생성이 약간 높은 것으로 나타났지만, 큰 차이를 나타내지를 않았다. 특히 발효·숙성기간이 경과하므로 환원당의 함량은 비례적인 증가를 나타내었다. 60일까지는 지속적인 증가현상이 뚜렷하였지만, 그 이후로는 완만 증가를 나타

내었다.

Table 3.2.3 Change in reducing sugar of traditional *Doenjang* prepared by the different shape of *Ongki* (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Shape)		
	I	II	III
0	0.64±0.05	0.58±0.10	0.63±0.07
60	0.81±0.09	0.97±0.06	0.67±0.13
90	1.38±0.11	1.78±0.23	1.12±0.14
120	1.67±0.14	1.92±0.16	1.32±0.09

(I) type : general *Ongki*, (II) type : wide *Ongki*, (III) type : straight *Ongki*

Table 3.2.4 Change in reducing sugar of traditional *Doenjang* prepared by the different volume of *Ongki* (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Volume)		
	10 L	20 L	40 L
0	0.56±0.08	0.54±0.06	0.55±0.11
60	0.76±0.03	1.04±0.17	0.98±0.08
90	1.47±0.09	1.86±0.17	1.73±0.19
120	1.68±0.17	2.13±0.13	1.84±0.15

### 3) 아미노태질소의 변화

옹기의 형태를 일반적으로 많이 사용하는 전통옹기(type I)와 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II) 및 일체형으로 민민한 직립옹기(type III)의 발효특성을 조사하기 위하여 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장증의 아미

노태질소의 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.5와 같다. 아미노태 질소의 함량은 콩단백질 식품으로서 전통된장의 발효도를 나타내는 직접지표로서 의미가 크다. 일사광선을 받는 영향에서 전통용기의 형태는 폭이 넓고, 상대적으로 장직경의 중심 하단이 낮은 볼록용기(type II)가 60일 이후부터 90일까지 급격하게 증가하는 경향이었으며 다른 형태의 용기와 그 함량에서 큰 차이를 나타내었다.

Table 3.2.5 Changes in amino type nitrogen of traditional *Doenjang* prepared by the different shape of *Ongki* (mg%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Shape)		
	I	II	III
0	150.23±10.38	146.80±13.69	154.2±17.03
60	180.64±13.56	208.21±12.84	156.79±13.94
90	250.72±10.72	279.45±17.51	180.54±11.87
120	286.49±17.23	315.84±14.07	210.45±16.88

(I) type : general *Ongki*, (II) type : wide *Ongki*, (III) type : straight *Ongki*

용기의 형태를 중앙부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 용기 크기별로 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장중의 아미노태 질소 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.6과 같다. 전통용기의 용량은 환원당 함량의 영향에 비하여 그 크기에 따라 아미노태 질소 함량이 점진적으로 높게 나타났으며, 특히 발효·숙성기간이 경과하므로 그 함량은 비례적인 증가를 나타내었다.

Table 3.2.6. Change in amino type nitrogen of traditional *Doenjang* prepared by the different volume of *Ongki* (mg%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Volume)		
	10 L	20 L	40 L
0	149.45±13.37	150.47±12.82	146.59±18.84
60	175.69±12.98	188.58±16.60	197.72±17.73
90	236.63±14.09	257.61±13.98	286.65±15.63
120	243.58±10.31	278.04±11.25	296.76±14.64

나. 「옹기내면 미세 다공성구조」를 이용한 “발효옹기” 제조

#### 1) 적정산도의 변화

옹기의 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)에 무공해 옹기용 유약의 코팅 및 발효균 배양 유무에 따른 발효특성을 조사하기 위하여, 4개월간 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효하면서 전통된장중의 적정산도를 조사한 결과는 Table 3.2.7과 같다. 그 결과 볼록옹기에 유약을 코팅하지 않고 발효균(*Bacillus subtilis* HS-25, SMY-212)을 미리 액상 배양한 실험구 옹기(WOW)가 유약을 코팅하지 않고 발효균을 사전배양하지 않은 실험구 옹기(WOWO)와 일반 유약코팅만 실시한 대조구 옹기(WWO)에 비하여 전통된장의 발효·숙성에서 촉진효과가 있다는 것을 알 수 있었다. 즉, 유약을 코팅한 일반적인 전통옹기(WWO)는 플라스틱이나 스텐레스 옹기에 비하여 효과적이었지만, 유용 발효균을 옹기내벽의 담체로 작용할 수 있는 다공성 구조가 많은 발효옹기(WOW)가 효과적으로 작용하는 것으로 판단된다.

Table 3.2.7. Change in titratable acidity of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without glaze and microbes (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Glaze or microbes)		
	WOWO	WOW	WWO
0	0.37±0.09	0.39±0.06	0.35±0.03
60	0.57±0.04	0.74±0.03	0.42±0.07
90	0.64±0.02	0.84±0.08	0.56±0.03
120	0.82±0.02	1.05±0.04	0.68±0.05

WOWO type : *Ongki* without glaze and without microbes

WOW type : *Ongki* without glaze and with microbes

WWO type : *Ongki* with glaze and without microbes

## 2) 환원당의 변화

용기의 중앙부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)에 무공해 용기용 유약의 코팅 및 발효균 배양 유무에 따른 발효특성을 조사하기 위하여, 4개월간 실온(최고 15°C, 최저 -3°C, 평균 7°C) 에서 발효하면서 전통된장중의 환원당 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.8과 같다. 표에 나타난 바와 같이 유약 무코팅+발효균 배양의 실험구 용기(WOW)가 유약 무코팅 실험구 용기(WOWO)와 일반 유약코팅 대조구 용기(WWO)에 비하여 전통된장의 탄수화물로부터 발효당 생성효과를 촉진할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 즉, 유약을 코팅한 일반적인 전통용기(WWO)는 플라스틱이나 스텐레스 용기에 비하여 효과적이었다.

Table 3.2.8. Change in reducing sugar of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without glaze and microbes (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Glaze or microbes)		
	WOWO	WOW	WWO
0	0.61±0.02	0.65±0.07	0.60±0.09
60	0.85±0.10	1.08±0.14	0.72±0.12
90	1.49±0.08	1.95±0.16	0.98±0.05
120	1.74±0.12	2.20±0.08	1.27±0.10

WOWO type : *Ongki* without glaze and without microbes

WOW type : *Ongki* without glaze and with microbes

WWO type : *Ongki* with glaze and without microbes

### 3) 아미노태질소의 변화

옹기의 중앙부위가 폭이 넓은 블록옹기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 4개월간 실온에서 발효하면서 전통된장중의 아미노태질소의 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.9와 같다. 그 결과 유리 아미노산을 포함한 아미노태질소의 함량은 콩단백질 식품으로서 전통된장의 발효도 지표로서 중요하며, 유약 무코팅+발효균 배양의 실험구 옹기(WOW)가 유약 무코팅 실험구 옹기(WOWO)와 일반 유약코팅 대조구 옹기(WWO)에 비하여 전통된장의 콩단백질로부터 맛 성분의 간접지표로서 아미노태질소 관련 성분의 생성효과를 촉진할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 이는 WOW 혹은 WOWO 실험구 옹기의 다공성 구조와 사전 담체 미생물들이 전통된장의 발효·숙성에 영향을 미치는 것으로 판단되며, 400~500 kg의 대용량 전통된장 옹기발효와 상관성 효과의 정도를 앞으로 조사하고자 한다.

Table 3.2.9. Changes in amino type nitrogen of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without glaze and microbes

(mg%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Condition of <i>Ongki</i> (Glaze or microbes)		
	WOWO	WOW	WWO
0	160.58±14.70	150.76±11.83	148.32±13.51
60	200.26±12.90	220.45±17.74	187.43±16.44
90	275.12±16.88	290.29±13.73	204.17±16.35
120	298.68±13.79	338.43±12.25	245.38±12.57

WOWO type : *Ongki* without glaze and without microbes

WOW type : *Ongki* without glaze and with microbes

WWO type : *Ongki* with glaze and without microbes

다. 발효용기 「회전주기」 등의 최적화 조건 검토

#### 1) 적정산도의 변화

용기의 회전을 통한 일조량을 고르게 하고, 중앙부위가 폭이 넓은 불룩용기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 염장 메주담금 및 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장중의 적정산도의 변화를 조사한 결과는 Table 3.2.10과 같다. 표에서 나타난 바와 같이 염장·메주 담금과정에서 용기 회전을 통한 중앙, 옆면, 상부에서 동일한 양의 액상 침출부분(생간장)을 채취한 경우, 전체적으로 회전을 하는 용기에서 적정산도는 점진적으로 높아지는 경향을 나타내었으며, 염장 담금 후의 고형물을 분리하여 으깨기와 균질화를 실시한 생된장의 경우에도 각 용기의 부위별 된장중의 적정산도는 용기를 매일 규칙적으로 오전 10시에 1/4(90°) 씩 시계 방향으로 이동

시켜 전체적인 옹기된장의 일조량을 균일하므로 그 산생성 미생물의 생육을 촉진키는 것으로 판단된다.

Table 3.2.10. Changes in titratable acidity of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without rotating (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Salting step		Aging step	
	Control	<i>Kanjang</i> *	Control	<i>Doenjang</i> **
0	0.23±0.06	0.29±0.04	0.39±0.08	0.40±0.05
60	0.38±0.08	0.40±0.03	0.48±0.04	0.57±0.06
90	0.41±0.03	0.49±0.08	0.64±0.06	0.84±0.12
120	0.50±0.07	0.61±0.13	0.78±0.09	0.90±0.08

*Kanjang*\* & *Doenjang*\*\* : Impulsively rotating the porous wide *Ongki* at an angle of 90 degrees daily.

Control : stopping the porous wide *Ongki* outside.

## 2) 환원당의 변화

옹기의 회전을 통한 일조량을 고르게 하고, 중앙부위가 폭이 넓은 블록옹기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 염장·메주 담금 및 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장중의 환원당의 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.11과 같다. 표에서 나타난 바와 같이 염장·메주 담금과정에서 옹기 회전을 통한 중앙, 옆면, 상부에서 동일한 양의 액상 침출부분(생간장)을 채취한 경우, 전체적으로 회전을 하는 옹기에서 환원당 함량이 점진적으로 높아지는 경향을 나타내었으며, 염장 담금 후의 고형물을 분리하여 으깨기와 균질화를 실시한 생된장의 경우에도 각 옹기의 부위별 된장중의 환원당 함량은 옹기를 매일 규칙적으로 90° 회전방법이 전체적인 옹기된장의 균일하면서 발효도를 증진시키는 것으로 판단된다.



Table 3.2.11. Changes in reducing sugar of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without rotating (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Salting step		Aging step	
	Control	<i>Kanjang</i> <sup>*</sup>	Control	<i>Doenjang</i> <sup>**</sup>
0	0.21±0.04	0.26±0.06	0.56±0.11	0.64±0.12
60	0.32±0.09	0.43±0.10	0.89±0.16	0.97±0.18
90	0.67±0.16	0.79±0.07	1.43±0.23	1.67±0.10
120	0.74±0.12	0.91±0.13	1.59±0.09	1.97±0.21

*Kanjang*<sup>\*</sup> & *Doenjang*<sup>\*\*</sup> : Impulsively rotating the porous wide *Ongki* at an angle of 90 degreee daily.

Control : stopping the porous wide *Ongki* outside

### 3) 아미노태질소의 변화

옹기의 회전을 통한 일조량을 고르게 하고, 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 염장 메주담금 및 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장중의 아미노태질소의 함량을 조사한 결과는 Table 3.2.12와 같다. 그 결과 염장·메주 담금과정에서 회전을 통한 옹기의 각 부위별 동일 양의 액상부분을 채취한 경우, 전체적으로 회전을 하는 옹기에서 아미노태 질소함량이 점진적으로 높아지는 경향을 나타내었으며, 생된장의 경우에도 각 옹기의 부위별 된장중의 평균값으로 아미노태 질소는 옹기 회전방법이 효과적이었다. 한편 정지된 상태의 옹기 된장독보다 회전 된장독의 된장 내용량이 많아질수록, 또한 그 발효·숙성기간이 길어질수록 아미노태 질소 함량 차이는 많이 나타날 것으로 판단된다.

Table 3.2.12. Changes in amino type nitrogen of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with or without rotating (mg%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Salting step		Aging step	
	Control	<i>Kanjang</i> *	Control	<i>Doenjang</i> **
0	39.89±6.65	42.23±10.18	147.69±11.08	145.46±15.05
60	166.48±16.63	184.21±12.63	168.31±13.37	183.80±11.62
90	224.13±13.54	266.18±11.51	196.14±13.26	224.14±14.73
120	257.74±11.06	294.74±16.38	248.48±17.43	286.82±10.79

*Kanjang*\* & *Doenjang*\*\* : Impulsively rotating the porous wide *Ongki* at an angle of 90 degrees daily.

Control : stopping the porous wide *Ongki* outside.

#### 라. 발효용기 「음향진동」의 영향

음파에너지를 진동에너지로 전환시키는 트랜스듀스를 발효용기에 부착하여 미생물의 생육 촉진 및 물분자 다발의 소규모화로 장류 맛을 부드럽게 순화시키는 작용을 이용한 전통장류의 발효특성을 조사하였다.

##### 1) 적정산도의 변화

음파에너지의 음향진동(강도, 트랜스듀스 부착 위치) 효과에 의한 중앙 부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장증의 적정산도의 변화를 조사한 결과는 Table 3.2.13과 같다. 표에서 나타난 바와 같이 용기의 중앙 부에서 된장을 채취한 경우, 트랜스 듀스(TD)의 강도(level 3~4)가 높은 것이

발효균의 성장과 유기산 생성에 촉진되는 것으로 판단된다. 다음으로 TD의 용기 부착위치는 좌우 측면보다는 바닥면에 분산되게 설치하는 것이 효과적인 것으로 보인다.

Table 3.2.13. Changes in titratable acidity of traditional *Doenjang* prepared by *Ongki* with a tiny acoustic transducer (%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Transducer (Power)		Transducer (Position)	
	Low	High	Side	Bottom
0	0.36±0.09	0.35±0.07	0.33±0.04	0.36±0.04
60	0.52±0.10	0.58±0.11	0.49±0.08	0.58±0.13
90	0.68±0.07	0.79±0.04	0.63±0.11	0.82±0.06
120	0.79±0.04	0.93±0.06	0.89±0.05	1.23±0.14

Low = level 1-2, High = level 3-4 / Side (right = 1 TD, left = 1TD), Bottom (2 TD)

## 2) 환원당의 변화

음파에너지의 음향진동(강도, 트랜스듀스 부착 위치) 효과에 의한 중앙 부위가 폭이 넓은 블록용기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장중의 환원당 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 3.2.14와 같다. 표에서 나타난 바와 같이 용기의 중앙부에서 된장을 채취한 경우, 트랜스 듀스(TD)의 강도(level 3~4)가 높은 것이 발효균의 성장과 유기산 생성에 촉진되는 것으로 판단되는데, 이는 환원당의 함량이 콩 단백질의 효소적 가수분해 산물로서 생체 정보전달의 구성단위 분자인 유리아미노산의 지표로서 아미노태 질소(NH<sub>2</sub>-N)과 마찬가지로 전통콩발효식품의 발효도를 나타내는 성분이다. 다음으로 진동에너지로 전환시키는 소형 TD의 블록용기에 부착위치는 좌·우 측면보다는 용기 바닥면에 약간

의 거리를 두고 분산되게 설치하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

Table 3.2.14. Changes in reducing sugar of traditional *Doenjang* prepared by different *Ongki* with a tiny acoustic transducer (% , fresh *Doenjang*)

Time (days)	Transducer (Power)		Transducer (Position)	
	Low	High	Side	Bottom
0	0.57±0.03	0.53±0.08	0.49±0.06	0.59±0.10
60	0.63±0.11	0.71±0.04	0.62±0.13	0.87±0.13
90	0.93±0.07	1.17±0.12	0.88±0.10	1.32±0.08
120	1.02±0.10	1.32±0.18	0.95±0.05	1.58±0.13

Low = level 1-2, High = level 3-4 / Side (right = 1 TD, left = 1TD), Bottom (2 TD)

### 3) 아미노태질소의 변화

음파에너지의 음향진동(강도, 트랜스듀스 부착 위치) 효과에 의한 중앙 부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)의 발효특성을 조사하기 위하여 생된장 발효·숙성과정을 4개월간 실온에서 실시하면서 전통된장중의 아미노태질소 함량의 변화를 조사한 결과는 Table 3.2.15와 같다. 표에서 나타난 바와 같이 용기의 중앙부에서 된장을 채취한 경우, 트랜스 듀스(TD)의 강도(level 3~4)가 높은 것이 발효균의 성장과 전통장류의 발효도 지표성분인 아미노태 질소 함량을 높혀 주는데 촉진되는 것으로 판단된다. 이는 총질소(TN)에서 암모니아 태 질소(NH<sub>3</sub>-N)와 펩타이드태 질소를 제외한 값으로 TN과의 비율이 높을수록 우수한 장류로 판단할 수 있다. 다음으로는 볼록용기의 진동발생을 시키는 위치로서 음파에너지를 진동에너지로 전환시키는 “소형 TD”의 볼록용기에 부착위치의 경우, 볼록용기의 좌·우 측면보다는 용기 바닥면에 약간의 거리를

두고 분산되게 설치하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

Table 3.2.15. Changes in amino type nitrogen of traditional *Doenjang* prepared by *Ongki* with a tiny acoustic transducer (mg%, fresh *Doenjang*)

Time (days)	Transducer (Power)		Transducer (Position)	
	Low	High	Side	Bottom
0	142.23±16.73	140.86±12.71	140.58±12.11	143.09±11.14
60	174.56±14.90	190.07±16.03	166.90±14.72	198.42±13.83
90	241.32±15.48	278.18±12.52	200.32±15.09	297.53±12.54
120	259.52±16.17	287.80±12.54	243.33±12.18	324.64±13.41

Low = level 1-2, High = level 3-4 / Side (right = 1 TD, left = 1TD), Bottom (2 TD)

### 제 3 절 「대두발효식품」의 연중 생산을 위한 성형기 제조 공정의 최적화

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. 메주의 제조 최적화 배합비율

메주 스타트케이크 전통적으로 메주를 제조하는 전반부 시기인 12월~1월의 경우는 “A cake”, 약간 늦은 2~3월에 제조하는 후반부 시기는 “B meju”, 아주 늦은 4~5월의 봄철에 제조하는 “C cake” 및 늦여름 혹은 초가을에 제조하는 “D cake”로 구분하여 각각의 캡슐형 메주 크기를 4,500~3,000 mL로 조절하여 기본적인 발효특성을 조사하였다.

##### 나. 계절별 발효시기와 기간

전통장류의 연중 생산을 위한 메주 제조시기를 주생산 저온A구간(12월초 메주 만들기 → 2월말 장 담그기), 주생산 저온B구간(2월초 메주 → 3월말 장), 고온건조 C구간(4월초 메주 → 5월말 장) 및 고온다습 D구간(9월 중순 메주 → 11월 중순 장)으로 구분하여 메주와 장 담그기를 실시하였다. 염장 속성은 각각 45일~30일간으로 실시하였다.

##### 다. 분석법

###### 1) 환원당

환원당은 시료 5 g에 증류수 100 mL을 가하여 추출한 후 DNS(2,4-dinitrosalysilic acid)법으로 정량하여 시료 5 g을 250 mL로 정용하여 2,000 rpm, 1시간 동안 혼합하여 50 mL 취한 후 10% acetate 5 mL을 주입하고, 3.2% sodium oxalate 5 mL을 넣고, 여과지(No. 2)를 이용하여 여과하여 100 mL로 정용하였다. 그리고 1 mL을 취하여 DNS시약 3 mL을 첨가해 5분

동안 끓여 냉각 후 25 mL로 정용하여 혼합한 후, 흡광도 550 nm에서 측정하여 glucose 함량으로 환산하였다.

## 2) 아미노태질소

제1절. 1. 재료 및 방법. 다. 실험방법 2) 아미노태 질소 분석법과 동일함.

## 3) 색차계 색도

색도의 측정은 시료 20 g을 색채색차계(Chroma Meter CR-200, MINOLTA)의 측정대에 고르게 담은 후, L(lightness), a(redness) 및 b(yellowness)값을 각각 5회 반복 측정하였으며, 이때 사용한 표준 백색판의 L, a, b값은 각각 89.2, 0.921 및 0.78이었다.

## 4) 관능평가

관능검사는 순천대학교 대학원생 및 학부생 10명을 panel로 선정하여 5점 평정법(매우 좋다, 좋다, 보통, 나쁘다, 매우 나쁘다)으로 종합적인 기호(over all palatability)도 검사를 실시하였다. 각 된장을 백색 플라스틱 접시에 담아 세 자리 숫자를 기입하여 제공하였으며, 한 개의 시료 평가(색·향·맛)한 후 반드시 물로 입안을 헹군 뒤 다음 시료를 평가하도록 하였다. 실험결과는 SAS package를 이용하여 분산분석(ANOVA ; analysis of variance)을 하고 유의차가 있는 항목을 Duncan's multiple range test에 의해 시료간의 유의차( $p < 0.05$ )를 검정하였다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 계절에 따른 스타트케이크(SK)의 크기 조절

전통적으로 메주를 제조하는 전반부 시기인 12월~1월의 경우는 “A

cake”, 약간 늦은 2~3월에 제조하는 후반부 시기는 “B meju”, 아주 늦은 4~5월의 봄철에 제조하는 “C cake” 및 늦여름 혹은 초가을에 제조하는 “D cake”로 구분하여 각각의 캡슐형 메주 크기를 4,500~3,000 mL로 조절하여 기본적인 발효특성을 조사하였다(Table 3.3.1). 색차계 색도의 명도(L, lightness) 값은 계절별로 저온건조(A)기간에서 고온 다습(D)한 기간으로 명도가 낮아지는 경향이었으며, 종국 함량이 높아질수록 다소 낮아지는 경향을 나타내었다. 환원당(reducing sugar)은 큰 차이는 나타나지 않았지만, 종국 함량이 높을수록 계절적인 차이가 많이 나타났다. 그리고 아미노태 질소(amino type nitrogen)함량도 저온건조(A)기간에서 고온 다습(D)한 기간으로 그 함량이 낮아지는 경향이었으며, 종국 함량이 높아질수록 낮아지는 경향을 나타내었는데, A~D 계절구간에 따른 발효기간과 발효속도 차이에 영향인 것 같다.

Table 3.3.1. Effect of molding size of cooked soybean and seed starter on quality characteristics of *Meju* 'starter cake' with different manufacturing time

Manufac- turing time	Quality characteristics of starter cake								
	Hunter 'L' value			Reducing sugar(%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
	0.2	0.4	0.6**	0.2	0.4	0.6	0.2	0.4	0.6
A(4,500*)	57.5	55.0	53.2	3.2	3.8	4.2	497.6	546.3	550.5
B(4,000)	56.7	53.1	53.9	3.0	3.7	3.9	480.2	527.1	542.9
C(3,500)	54.2	52.4	51.0	2.9	3.2	3.5	457.3	506.7	521.4
D(3,000)	52.9	51.6	50.3	3.0	3.3	3.5	435.4	450.6	468.4

\*Molding size(cm<sup>3</sup>) / \*\*Seed starter(%) prepared with *Aspergillus oryzae*



나. 계절별 국균의 고정화 조건 검토

스타트 케이크의 기호적 특성을 고려하여 계절별로 발효기간을 달리하고 스타트케이크의 크기를 3,000~4,500cm<sup>3</sup>으로 구분하여 제조한 결과, 균사체 성장속도는 Table 3.3.2와 같다. 성장속도가 빠른 황국균(*Aspergillus oryzae*)은 전통장류의 주 생산기간인 A~D 계절 구간에서 0.4%(w/w) 첨가하면 스타트 제조가 가능하였으며, 백국균(거미줄 곰팡이, *Rhizopus oligosporus*)은 A~D 계절 구간에서 0.6%(w/w)이상을 첨가하면 가능하였다. 버섯균사체(동충하초)은 각 계절기간마다 발효기간이 길어져야 하며, 잡균(푸른 곰팡이) 오염이 발생하는 경우가 있었다.

Table 3.3.2. Effect of molding size of cooked soybean and seed starter on basic quality characteristics of *Meju* 'starter cake' with different manufacturing time

Manufacturing time	Mycelial growth characteristics of starter cake								
	<i>Rhizopus</i>			<i>Aspergillus</i>			<i>Mushroom</i>		
	0.2	0.4	0.6**	0.2	0.4	0.6	0.2	0.4	0.6
A(4,500*)	+	++	+++	++	+++	+++	+	++	++
B(4,000)	+	++	+++	++	+++	+++	+	+	++
C(3,500)	+	+	++	+	++	+++	-	-	+
D(3,000)	+	+	++	+	++	++	-	-	+

\*Molding size(cm<sup>3</sup>)

다. 계절별 염장 숙성 조건 검토

캡슐형 코팅-스타트케이크를 염수농도 18~22도의 범위에서 '주생산 A'와 '주생산 B' 기간의 경우는 다소 저염도 18~20도에서 발효-숙성을 하고,

‘고온건조 C’와 ‘고온다습 D’의 구간은 일반 염도에서 발효-숙성 조건을 설정한다(Table 3.3.3).

Table 3.3.3. Effect of molding size and brine concentration on basic quality characteristics of *Doenjang* with different manufacturing time

Manufac- turing time	Quality characteristics of <i>Doenjang</i>								
	Titratable acidity(%)			Reducing sugar(%)			NH <sub>2</sub> -N (mg%)		
	18	20	22	18	20	22	18	20	22
A(4,500*)	0.57	0.53	0.47	3.2	3.8	4.2	598.3	563.7	537.3
B(4,000)	0.65	0.60	0.52	3.0	3.7	3.9	561.3	535.2	521.3
C(3,500)	0.71	0.68	0.62	2.9	3.2	3.5	498.4	474.0	454.6
D(3,000)	0.89	0.74	0.63	3.0	3.3	3.5	442.9	431.3	421.8

\*Molding size(cm<sup>3</sup>) / \*\*Seed starter(%) prepared with *Aspergillus oryzae*

#### 라. 기능성 농산물 첨가의 영향 검토

캡슐형 스타트케이크의 중간부에 기능성 농산물 소재로서 녹차, 발효차, 양파, 마늘, 생강을 사용하였으며, 맛성분 농산물 소재로서 호박, 밀, 보리, 쌀, 다시마, 표고, 느타리 버섯이나 매실을 사용하여 계절별 품질특성을 조사한 결과(Table 3.3.4), 대체로 매실, 느타리버섯, 양파가 대조구의 스타트케이크로 만든 전통된장에 비하여 효과적이었다. 특히 외부환경의 온도가 높은 매실을 1~2%를 첨가한 스타트케이크가 ‘고온건조 C’와 ‘고온다습 D’의 구간에서 효과적이었고, 다른 기능성 농산물중에는 종합적인 기호도가 가장 우수한 된장을 제조할 수 있었으며, ‘주생산 A’와 ‘주생산 B’ 기간의 경우는 느타리버섯을 2~4%를 첨가한 경우가 양호하였다.

Table 3.3.4. Sensory evaluation of molding size and brine concentration on basic quality characteristics of *Doenjang* with different manufacturing time

Manufacturing time	Quality characteristics of <i>Doenjang</i>									
	Cont.	Maesil(%)			Onion(%)			Mushroom ( <i>P. ostreatus</i> ,%)		
	0	1	2	4	1	2	4	1	2	4
A(4,500*)	3.4 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>	4.3 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>
B(4,000)	3.5 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	3.9 <sup>ab</sup>	3.8 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>
C(3,500)	2.9 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>b</sup>	3.6 <sup>b</sup>	3.3 <sup>b</sup>	2.9 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	3.5 <sup>b</sup>	3.4 <sup>a</sup>	3.7 <sup>ab</sup>	3.5 <sup>b</sup>
D(3,000)	2.6 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>	3.3 <sup>b</sup>	3.1 <sup>b</sup>	3.0 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	3.5 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>	3.3 <sup>b</sup>	3.1 <sup>b</sup>

Each value of sensory evaluation was 5 score of over all quality.

Each value is mean±SD (n=10).

Means with the same letter are not significantly different at p<0.05 as Duncan's multiple range test.


#### 마. 계절에 따른 최적화공정 확립

연중 대두발효식품을 제조하기 위한 전통장류 최적화 공정으로 그 주요공정은 옷 입은 '캡슐형' 메주 스타트케이크 제조·발효공정(I), 용기를 회전하면서 음향진동 자연발효를 이용한 염장숙성·발효공정(II), 된장·간장 발효공정(III), 살균·충진공정(IV)으로 구분하였다.

메주 스타트케이크의 제조공정 특성에서 우리나라 전통장류는 11월말~12월 초순에 메주를 만들기 시작하여 2월말~3월초 이전에 염장숙성(1.5개월, 염도21) 과정을 거치고 생된장과 간장으로 분리되어 여름철을 지나 3개월 이상 부터는 단기간의 햇 된장이 출하된다. 이와 같은 전통된장 제조공정은 특정한 계절에 한정하여 일련의 제조과정을 거치게 되므로 연중 소비되는 최종적 콩된장의 색도, 향, 맛 등이 차이가 많이 나타난다. 따라서 3월 이후에서 11월 까지 자연발효로서 좋은 상태 유지가 어려운 계절에서 장류 제조공정의 최적

화를 위한 기본조건들은 조사한 결과는 Table 3.3.5, Fig. 3.3.1과 같다. 주생산 기간인 저온조건에서 여름철 전후의 고온조건으로 변화되면, 메주 스타트케이크의 발효기간, 크기, 종국 첨가량을 각각 90~30일, 4,500~3,000 cm<sup>3</sup>, 0.4~0.2%로 감소시켜야 함을 알 수 있었다. 그에 반하여 염장숙성의 과정에서는 염도는 18~21도로 4~5월의 메주 제조에서는 그 염장담금의 염도를 다소 증가시켜야 하는 것으로 판단되었다.

Table. 3.3.5. Condition for making of *Meju* 'starter cake' and fermented soybean foods throughout year



Condition (I~IV)	Meju 'starter cake'					Salt brine		Raw doenjang
	Making	Fermentation(Day)	Seed starter(%)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Food stuff	Soaking (Day)	Conc.(%)	Food stuff
LTOH(I)	December	90	0.4	4,500	Mush	45	18	Maesil
LTLH(II)	February	60	0.4	4,000	Mush	40	18	Maesil
HTMH(III)	April	40	0.2	3,500	Mush	30	19	Maesil
LTHH(IV)	October	30	0.2	3,000	Mush	30	20	Maesil

- ☞ LTOH, Low temp. very low humidity ; LTLH, Low temp. low humidity  
HTMH, High temp. medium humidity ; LTHH, High temp. high humidity
- ☞ Seed starters of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oligosporus* for LTOH(I) ~ LTLH(II) and *Aspergillus oryzae* for HTMH(III)~LTHH(IV) were used for the concentration of 0.4 to 0.2%(w/w).
- ☞ Mush(*Pleurotus ostreatus*) flesh and maesil extract were an effective food stuffs in the range of 3~5% for the making of meju 'starter cake' and raw doenjang.

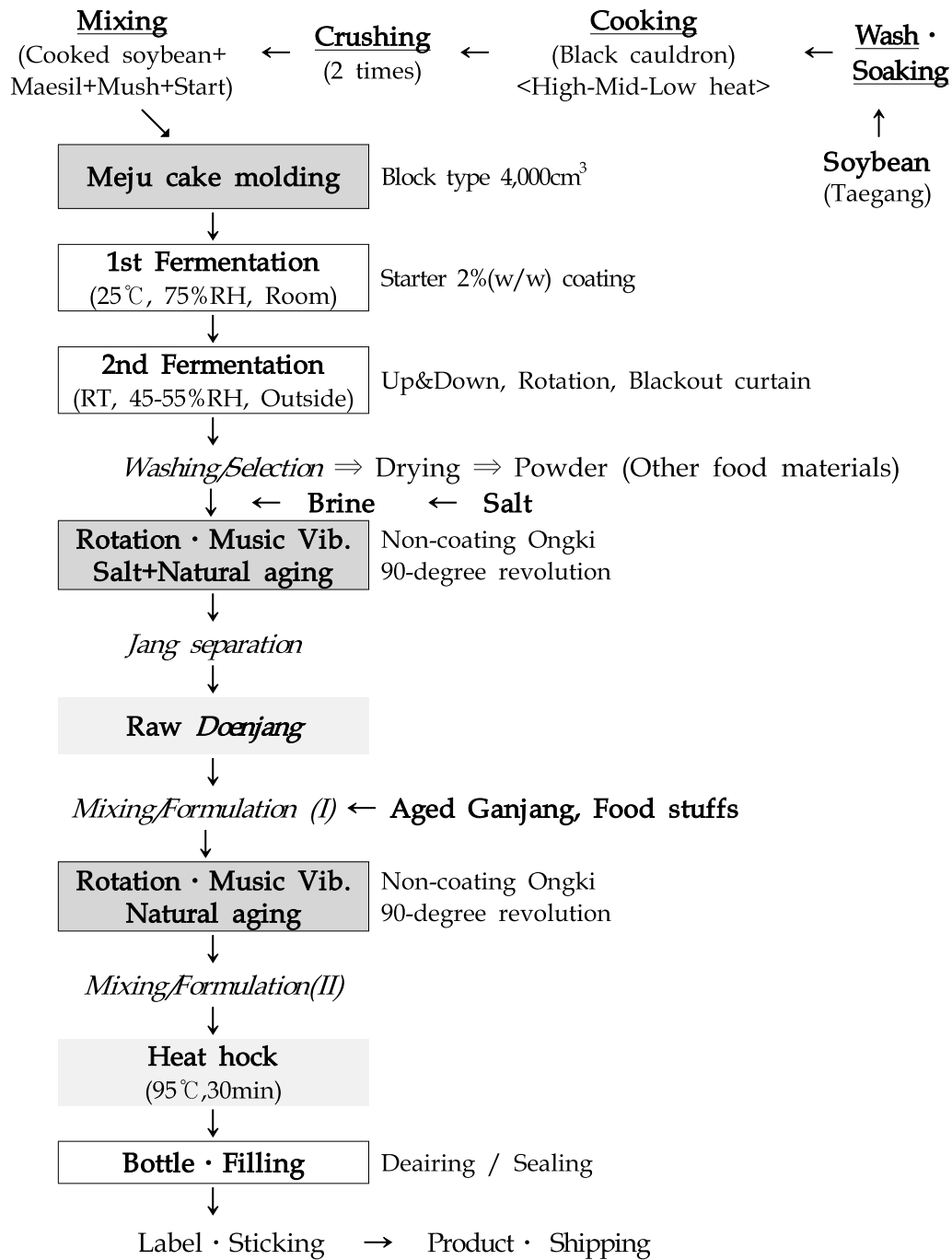


Fig. 3.3.1. Manufacturing procedure of Korean fermented soybean foods.

## 제 4 절 「스타트 케이크」의 품질특성 평가 및 최적 발효공정 검토

우리나라 장맛의 고급화를 위하여 가장 중요한 고품질 개량매주 '스타트케이크'의 개발에 있으며, 그로 인하여 영세한 전통장류 산업을 활성화시키는데도 크게 기여 할 것으로 판단된다. 이러 점을 고려하여 전통 장맛을 유지하면서 식품안전성 확보와 기능성 부가를 위하여 다음과 같이 스타트 케이크를 개발할 필요가 있다(Fig. 3.4.1).

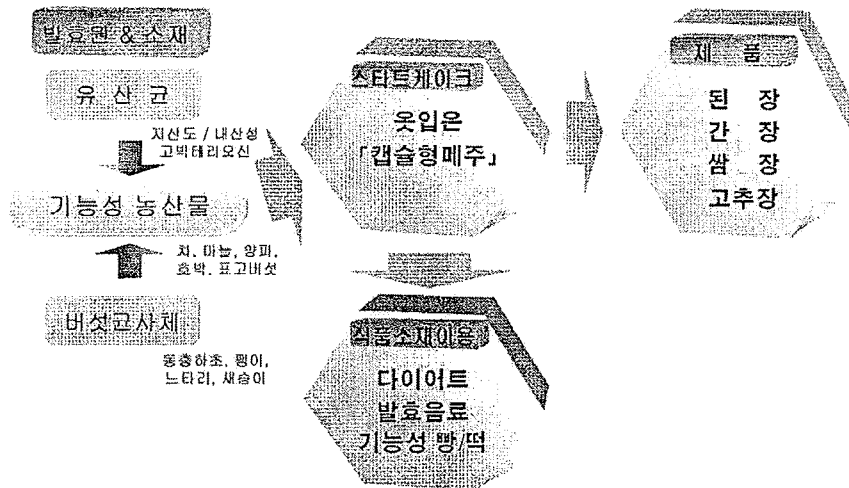


Fig. 3.4.1. Production of capsule type Meju 'starter cake' and utilization of cake as intermediate food stuffs.

## 1. 재료 및 방법

### 가. 미생물 분포

일반 생균수의 측정은 무균적으로 시료를 멸균 생리식염수로 3단계 희석법에 따라 희석한 다음, 세균수용 건조필름배지에 접종하여 잘 흡수시키고  $35\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 2~5일간 배양한 후 나타난 colony수를 측정하였다. 바실러스균은 검체 25 g을 취한 후, 225 mL의 멸균 인산완충 희석액에 가하여 2분간 고속으로 균질화하여 시험용액으로 사용하였다. 그리고 멸균 인산완충희석액을 사용하여  $10^{-2}$ 에서  $10^{-6}$ 까지 10배 단계로 희석액을 만들었으며, MYP 한천평판배지(배지46)에 단계별 희석용액 0.2 mL씩 5장을 도말하여 총 접종액이 1 mL이 되게 한 후,  $30^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양한 후 집락 주변에 lecithinase를 생성하는 혼탁한 환이 있는 분홍색 집락을 계수하였다.

### 나. 효소활성

#### ① 조효소액 조제

조효소액은 homogenizer로 마쇄한 시료 10 g과 증류수 100 mL를 혼합하여 실온에서 2시간 동안 진탕추출하고 원심분리하여 조제하였다.

#### ② Amylase 활성도

Amylase 활성 측정은 조효소액 1 mL에 1% 수용성 전분을 함유한 0.1 M acetate buffer(pH 4.8) 10 mL를 가하고  $30^\circ\text{C}$ 에서 반응시킨다. 10분후에 반응액 1 mL를 취하고 여기에 0.1N-HCl 10 mL를 가하여 반응을 정지시킨다. 그 액 0.5 mL에 0.005% iodine과 0.05% potassium iodine을 함유한 발색액 10 mL를 가한 후 660 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다.  $\alpha$ -Amylase의 1 unit는 amylose-iodine complex의 blue color가 10% 감소되는 효소량으로 하였다.

### ③ Protease 활성도

기질액은 milk casein 1.8 g을 sodium phosphate buffer(pH 7.2) 300 ml에 녹여 0.6% casein-용액으로 조제하였다. 효소활성 측정은 기질용액 1 ml와 증류수 1 ml를 시험관에 넣고 항온수조에서 전처리한 후, 조효소액 1 ml를 가하여 35℃, 30분간 반응시킨 다음, 0.4 M trichloro acetic acid(TCA) 3 ml를 가하고 35℃에서 30분간 방치하여 반응을 중지시켰다. 반응중지액을 원심분리하여 침전물을 제거한 다음, 상정액 2 ml에 0.5M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5 ml와 1/3 Folin phenol 시약 1 ml를 가하여 35℃ 항온수조에서 30분간 발색시킨 후 실온으로 냉각시킨 다음, UV/Vis spectrophotometer로서 660 nm에서 optical density(O.D.)를 측정하여 tyrosine( $\mu\text{g/ml}$ )의 양으로 환산하여 protease 활성을 나타내었다. Protease의 1 unit는 조효소액 1 ml가 1분간에 1  $\mu\text{g}$ 의 tyrosine을 생성하는 효소의 양으로 하였다.

### 다. 총당 및 유리당 분석

총당은 일반상법에 따라 추출한 후 phenol-sulfuric acid법으로 정량하여 glucose량으로 나타내었다. 유리당은 시료 1 g을 정확히 취하여 시험관에 넣고 99% ethanol 3 mL와 80% ethanol 3 mL를 가하여 혼합시킨 후 20분간 방치한 후 20℃의 항온상태에서 80% ethanol을 4 mL 더 가하여 정용한 다음, 원심분리(10,000 rpm, 10 min)하여 상정액을 C<sub>18</sub> Sep-pak cartridge와 0.2  $\mu\text{m}$  membrane filter로서 색소 등의 이물질을 제거한 여과액을 분석용 시료로 사용하여, HPLC로 분석 (Shimadzu LC10A) 하였다.

### 라. 유리아미노산 분석

유리아미노산의 분석은 시료 5 g에 증류수 100 mL를 가하고 마쇄하여 500 mL로 정용한 후 60℃에서 30분간 추출하였다. 이 추출액을 0.2  $\mu\text{m}$



membrane filter와 Sep-pak C<sub>18</sub> cartridge로 여과한 후 아미노산 분석기 (Biochrom 20)로 분석하였다.

#### 마. 유기산 분석

시료 1 g을 칭량 후 sample tube에 넣고 증류수 10 mL를 가하고 잘 섞은 후 35℃의 incubator에서 1시간 방치한 후 원심분리 (10,000 rpm, 10 min)하여 상정액을 C<sub>18</sub> Sep-pak cartridge와 0.2 μm membrane filter로서 색소 등의 이물질을 제거한 여과액을 분석용 시료로 사용하여 HPLC로 분석 (Shimadzu LC10A)하였다.

#### 마. 갈변도와 색차계 색도

지용성 색소는 시료 5 g에 n-hexane 50 mL씩을 가하여 3회 탈지시킨 후 여과하고 잔사를 chloroform - methanol(2 : 1, v/v)혼합액 50 mL로서 3회 추출한 것을 시료로 측정하였으며, 또한 수용성 색소의 측정은 추출잔사에 methanol-증류수(1 : 1, v/v)혼합액 50 mL를 가하여 20℃에서 12시간 동안 추출한 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 색차계 색도는 제3절, 1. 재료 및 방법, 나. 분석법 3) 색차계 색도와 동일함.

#### 바. 적정산도

적정산도는 시료 10 g에 증류수 50 mL를 가하여 0.1 N NaOH로 pH 8.3을 종말점으로 하여 그 소비량(mL)을 젖산의 함량으로 환산하여 %(w/w)로 나타내었다

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 스타트 케이크의 발효도 평가

#### 1) 발효균 균주의 분포도 및 증식도, 효소활성 측정

##### ① 발효균주 분포 및 증식도

전통메주 스타트 케이크의 내·외층 발효균주 분포를 조사한 결과는 외층에서 버섯균사체는 동층하초 균사체가 가장 고르게 분포하였으며, 다음으로 느타리 > 팽이 > 새송이 균사체의 순으로 고르게 분포하였다. 내층은 *Bacillus subtilis* 고초균의 분포도를 중앙, 중간, 외층 쪽으로 구분하여 조사한 결과 큰 차이는 없었으나, 중앙보다는 외층 바로 아래에서부터 중간층 사이에 많은 분포를 하였다 (Table 3.4.1). 일반세균이 바실러스균은 외층보다는 산소공급과 수분함량이 높은 중간층이 왕성하게 성장하였으며, 버섯균사체의 중심부는 장시간 발효조건 때문에 국균과는 달리 바실러스 세균의 분포가 높은 경향을 나타내었다. 특히 캡슐형 메주 스타트 케이크는 전통메주에 비하여 상당히 낮은 바실러스 세균의 분포를 나타내었다.

##### ② 효소활성

전통메주의 스타트 케이크에서 당질과 단백질의 발효도의 Table 3.4.1에서 같이, 일반세균과 바실러스 세균 성장이 외층보다는 산소공급과 수분이 충분한 중간층이 왕성한 결과로 인하여 발효도 간접지표로 활용되는 amylase와 protease 효소생성이 효과적인 것으로 나타났다. 그리고 중심부의 버섯균사체는 장기 발효에 따른 국균과는 달리 바실러스 세균의 성장도가 높은 탓으로 protease생성량이 비교적 높은 경향을 나타내었다(Table 3.4.2). 그러나 대조구의 전통메주는 표면의 과도한 건조와 메주 갈라짐으로 인하여 발효균 성장억제와 그에 따른 효소생성이 상당히 낮은 경향을 나타내었다.

Table 3.4.1. Distribution and growth of general and *Bacillus* sp. bacteria from *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus

Microbes	Microbial characteristics of starter cake					
	General bacteria ( $\times 10^6/g$ )			<i>Bacillus</i> sp. ( $\times 10^5/g$ )		
	Surface	Medium	Center	Surface	Medium	Center
Control <sup>1)</sup>	2.8	3.6	4.1	1.9	2.2	2.3
White	5.9	6.4	4.9	3.8	4.4	2.8
Yellow	4.5	6.1	5.2	3.2	3.9	2.5
Red	6.2	6.3	4.7	4.1	4.3	3.1
PJ	6.1	7.4	6.3	3.5	5.2	5.4
FV	5.9	7.2	6.7	3.4	4.8	4.9
PO	6.6	8.0	6.1	3.1	5.2	5.6

<sup>1)</sup>*Meju* prepared with traditional method.

Table 3.4.2. Amylase and protease activities of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus

Microbes	Amylase (IU)			Protease (IU)		
	Surface	Medium	Center	Surface	Medium	Center
Control <sup>1)</sup>	0.5	2.1	1.3	10.8	13.5	12.2
White	3.1	3.9	1.8	22.4	29.6	18.3
Yellow	2.5	2.9	2.0	23.5	32.2	20.3
Red	2.0	3.4	1.5	18.7	26.6	19.6
PJ	2.3	3.4	2.4	22.5	26.3	26.6
FV	1.9	2.8	2.6	21.4	26.5	28.3
PO	1.8	3.3	1.7	23.1	28.3	26.4

<sup>1)</sup>*Meju* prepared with traditional method.

## 2) 맛 성분

### ① 유리당

메주 스타트 케이크의 중심부 유리당 함량에 대한 결과는 모든 시료에서 Table 3.4.3에 나타난 것과 같이 glucose가 가장 높게 나타났으며, 다음으로는 fructose, sucrose 순으로 나타났고 maltose가 가장 낮게 나타났다. 한편 대조구의 전통메주는 다른 맛 성분과 유사하게 상당히 낮은 값을 나타내었으며, 국균에서는 백국이 오히려 황국이나 적국보다는 높은 값을 나타내었는데, 이는 발효성당을 많이 소비시킨 때문으로 판단된다. 버섯균사체의 경우는 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 3.4.3. Contents of free sugars of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus (mg%, dry basis)

Free sugars	Control <sup>1)</sup>	Fungus			Mushroom		
		White	Yellow	Red	PJ	FV	PO
Sucrose	35.8	248.3	60.4	52.5	240.9	18.1	150.6
Glucose	1,435.6	2,219.8	1,632.1	1,994.2	1,805.2	2,660.2	1,912.9
Fructose	45.2	56.2	43.4	81.1	44.1	96.3	68.9
Maltose	23.8	246.2	27.4	163.1	53.2	66.6	122.5

<sup>1)</sup>Meju prepared with traditional method.

### ② 유기산

유기산 함량에 대한 조사 결과는 Table 3.4.4와 같다. 메주 스타트케이크의 중심부의 유기산 함량은 6가지 시료에서 유의성을 가진 함량을 나타내지 않는 함량 분포를 나타내었으며 citric acid > tartaric acid > malic acid > lactic acid > succinic acid > malonic acid > acetic acid > oxalic acid의 순으로 함량이 높게 나타났다. oxalic acid의 경우 2개의 시료에서는 함량이 확인 되었으나

나머지 제품에서는 나타나지 않았다.

Table 3.4.4. Contents of organic acids of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus (mg%, dry basis)

Organic acids	Control <sup>1)</sup>	Fungus			Mushroom		
		White	Yellow	Red	PJ	FV	PO
Tartaric acid	89.3	291.5	530.5	109.7	248.4	271.5	295.0
Malonic acid	23.0	81.2	14.8	334.5	66.6	30.4	124.3
Lactic acid	-	7.2	70.9	5.4	0.0	5.4	20.9
Oxalic acid	-	-	7.9	3.8	-	-	-
Acetic acid	-	5.8	3.8	-	3.8	1.9	3.4
Citric acid	78.9	273.5	194.7	155.3	248.5	183.3	218.0
Succinic acid	78.5	104.2	475.0	413.5	389.1	368.6	345.5
Malic acid	67.8	1,113.1	574.5	659.4	630.0	493.6	744.2

<sup>1)</sup>Meju prepared with traditional method.

### ③ 유리아미노산

메주 스타트 케이크의 유리아미노산 함량에 대한 조사 결과는 Table 3.4.5와 같다. 각 6가지의 중심부의 유리아미노산 함량은 5가지 제품 모두에서 유사한 경향의 함량을 나타 내었으며 glutamic acid의 함량이 가장 높았고, aspartic acid, lysine, histidine, alanine, tyrosine 등의 함량은 비교적 높게 나타났는데, proline, methionine, phenylalanine의 함량은 매우 낮게 나타났다. 그러나 대조구의 전통메주는 표면건조에 의한 갈라짐과 그에 따른 메주내부 수분증발에 의한 단백질 분해율의 상당히 낮은 수치를 나타내었다. 황국균과 적국균은 비교적 높은 값을 나타내었으며, 동충하초는 성장속도는 빠르지만

버섯균사체배양에서 다소 낮은 값을 나타내었다.

Table 3.4.5. Contents of free amino acids of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus (mg%, dry basis)

Amino acids	Control <sup>1)</sup>	Fungus			Mushroom		
		White	Yellow	Red	PJ	FV	PO
Aspartic acid	78.9	216.7	268.0	350.7	191.7	312.3	255.8
Threonine	23.4	90.5	135.0	127.9	80.6	115.5	103.5
Serine	56.3	125.3	123.8	139.2	114.1	135.8	121.6
Glutamic acid	190.4	826.6	1,681.5	423.2	868.2	360.4	949.9
Proline	23.7	417.2	-	1,481.6	-	717.7	474.7
Glycine	13.9	72.0	92.4	87.7	68.3	343.1	80.3
Alanine	19.0	57.9	63.4	60.0	21.3	134.2	50.6
Cystine	-	-	-	-	-	-	-
Valine	34.6	105.5	114.0	104.7	85.8	114.0	102.5
Methionine	9.8	27.2	14.0	5.9	6.1	24.6	13.3
Isoleucine	-	-	-	-	-	-	-
Leucine	11.2	55.4	62.0	64.2	43.1	66.7	56.2
Tyrosine	41.7	177.7	202.6	195.9	27.8	98.4	151.0
Phenylalanine	12.6	70.0	70.5	72.0	51.9	73.2	66.1
Histidine	67.3	313.9	403.7	377.4	253.7	326.9	337.2
Lysine	20.6	178.3	196.6	160.2	173.0	178.1	177.0
Arginine	47.3	240.3	268.9	242.6	213.8	247.0	241.4

<sup>1)</sup>Meju prepared with traditional method.

### 3) 색도 측정

#### ① 갈변도

메주 스타트케이크의 중심부의 갈변도 색도는 Table 3.4.6과 같다. 수용성 갈변 색도는 평균값으로 보면 1.82로 가장 높았고, 다음의 시료가 0.95를 나타내었으며, 가장 낮은 시료가 0.44를 나타내었다. 그리고 지용성 갈변 색도는 가장 높은 시료는 2.48이었으며, 다음으로 1.39와 1.03으로 상당한 차이를 나타내었다. 메주의 갈변도는 메주의 발효도와 높은 상관관계를 나타내는데, 대체로 황색보다는 적갈색을 나타내는 발효도를 유지하는 방향으로 관리할 필요가 있다.

Table 3.4.6. Browning index of lipophilic and hydrophilic extracts of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus (OD at 420 nm)

Fungus		Position			Mushroom	Position		
		Surface	Middle	Center		Surface	Middle	Center
White	WSB	0.49	0.30	1.09	PJ	1.98	0.88	0.96
	LSB	0.47	0.11	0.18		0.26	0.11	0.26
Yellow	WSB	0.68	1.29	2.54	FV	2.69	1.88	1.80
	LSB	0.38	0.26	0.14		0.14	6.01	0.23
Red	WSB	0.44	0.42	0.48	PO	0.36	0.51	0.42
	LSB	2.76	2.97	1.36		3.13	2.18	2.56

## ② 색차계 색도

메주 스타트 케이크의 각 부위별 색차계에 의한 색도에 대한 연구 결과는 Table 3.4.7과 같다. 앞서의 갈변도와 마찬가지로 전통메주의 품질과 관련된 지표로도 사용될 수 있는데, 국균과 버섯균사체의 생육에 따라서 차이

가 나타나는 경향이었는데, 국균의 중간층은 버섯균사체 보다 상대적으로 명도가 높은 편이었다.

Table 3.4.7. Hunter color value of *Meju* 'starter cake' prepared with some mycelial mushroom and fungus

Fungus	Position			Mushroom	Position			
	Surface	Middle	Center		Surface	Middle	Center	
White	L	54.48	57.22	52.49		45.05	50.4	52.31
	a	+3.6	+2.80	+4.73	PJ	+5.58	+3.84	+4.18
	b	23.73	4.79	20.65		17.45	25.02	16.66
Yellow	L	46.08	48.58	35.29		45.34	21.76	38.39
	a	+3.4	+2.28	+8.52	FV	+5.38	+2.71	+4.89
	b	33.79	29.92	17.5		4.21	2.89	21.36
Red	L	57.81	58.96	52.37		61.6	32.35	57.69
	a	+8.03	+3.57	+6.59	PO	+2.69	+2.74	+4.22
	b	23.61	20.63	26.21		24.59	23.19	23.76

#### 나. 기능농산물 첨가별 '스타트 케이크' 제조 및 최종 품질특성 평가

##### 1) 기능성 소재 첨가

매주 스타트 케이크의 내층에 소위 '기능성 농산물'과 같이 불리는 녹차와 발효차, 마늘, 양파, 생강을 5%(w/w)를 첨가하여 성형시킨 다음에 발효시킨 결과는 Table 3.4.8과 같다. 바실러스 세균은 양파분말을 혼합한 시료가 5.38로서 가장 높았으며, 환원당과 총당은 양파 > 마늘 > 생강 순으로 높았고, 아미노태 질소는 마늘과 생강이 아주 낮았으며, 양파를 첨가한 스타트 케이크가 가장 높은 함량을 나타내었다.



Table 3.4.8. Quality characteristics of *Meju* 'starter cake' added with some agro-food stuffs

Materials (Powder)	<i>Bacillus</i> sp.(x 10 <sup>5</sup> )	Titratable acidity(%)	Sugars(%)		NH <sub>2</sub> -N (mg%)
			Reducing sugar	Total sugar	
Green tea	3.52	0.15	3.42	8.84	327.43
Fermented tea	4.02	0.19	2.29	8.46	347.23
Onion	5.38	0.25	8.35	18.50	452.63
Garlic	2.76	0.12	3.96	13.24	257.83
Ginger	2.98	0.13	3.54	11.47	245.74

## 2) 맛 성분 소재 첨가

호박, 밀, 보리, 쌀은 증자한 것을 사용하였으며 다시마, 표고, 매실은 갈아서 10%(w/w)를 첨가하여 성형시킨 다음에 발효시킨 결과는 Table 3.4.9와 같다. 바실러스 세균은 매실이 가장 낮은 분포를 나타내었으며, 밀과 쌀 등의 탄수화물 재료는 비교적 높은 성장을 나타내었다. 환원당은 매실, 표고, 다시마는 낮은 함량을 나타내었고, 탄수화물 재료 등은 발효도와 재료 자체의 당 함량으로 높은 값을 나타내었다. 아미노태 질소는 표고를 첨가한 메주 '스타트 케이크'에서 가장 높은 함량을 나타내었는데, 이는 표고 자체의 질소성분과 발효에 의한 증가인 것으로 보여 진다.

Table 3.4.9. Quality characteristics of *Meju* 'starter cake' added with some agro-food stuffs

Materials (Fresh)	<i>Bacillus</i> sp. ( × 10 <sup>6</sup> )	Titratable acidity (%)	Sugars		NH <sub>2</sub> -N (mg%)
			Reducing sugar(%)	Total sugar (%)	
Pumpkin	6.03	0.21	8.35	20.54	227.44
Wheat	6.41	0.23	9.64	22.65	258.92
Barley	6.23	0.26	7.65	21.69	207.91
Rice	6.33	0.28	8.41	24.50	239.66
Kelp	5.53	0.35	5.49	13.59	168.93
Pyogo	5.98	0.37	6.43	12.78	498.56
Maesil	3.59	0.89	6.88	11.65	230.41

## 제 5 절 발효·숙성 단계중의 전통장류의 품질특성 조사

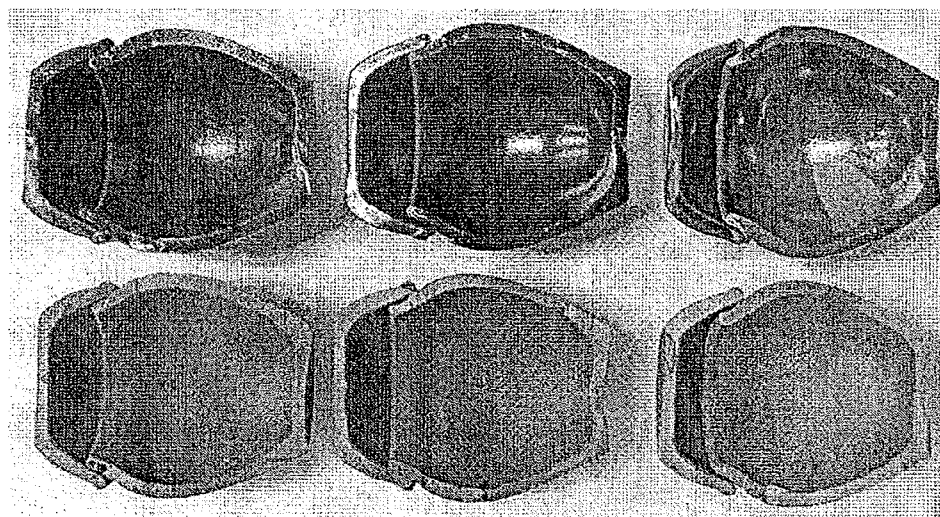
### 1. 재료 및 방법

#### 가. 실험재료

<제1 세부과제>에서 각 조건별로 제공되는 전통된장의 시료를 냉장(5℃) 보관하면서, 자연 상태의 된장 혹은 동결건조 상태로서 처리된 것을 분석시료로 사용하였다.

#### 나. 발효용기의 소성온도별 구분

발효용기를 소성온도별(1,175℃, 1,250℃, 1,300℃)로 구분하여 제조하므로, 용기의 다공성 구조를 구분하여 제조하였다(Fig. 3.5.1). 대체로 용기는 소성온도가 높을수록 다공성 구조가 더 발달되고 용기로서 매질의 밀착성이 높아진다고 알려져 있다.



<1,175℃>

<1,250℃>

<1,300℃>

Fig. 3.5.1. Photos of Ongki prepared by the different sintering temperature.

## 다. 분석항목 및 방법

### ① 유리당 분석

유리당의 분석은 시료 1 g을 정확히 취하여 시험관에 넣고 99% ethanol 3 mL와 80% ethanol 3 mL를 가하여 혼합시킨 후 20분간 방치한 후 20°C의 항온상태에서 80% ethanol을 4 mL 더 가하여 정용한 다음, 원심분리 (10,000 rpm, 10 min)하여 상정액을 C<sub>18</sub> Sep-pak cartridge와 0.2 μm membrane filter로서 색소 등의 이물질을 제거한 여과액을 분석용 시료로 사용하여, HPLC로 분석 (Shimadzu LC10A) 하였다.

### ② 유리아미노산 분석

유리아미노산의 분석은 시료 5 g에 증류수 100 mL를 가하고 마쇄하여 500 mL로 정용한 후 60°C에서 30분간 추출하였다. 이 추출액을 0.2 μm membrane filter와 Sep-pak C<sub>18</sub> cartridge로 여과한 후 아미노산 분석기 (Biochrom 20)로 분석하였다.

### ③ 유기산 분석

시료 1 g을 칭량 후 sample tube에 넣고 증류수 10 mL를 가하고 잘 섞은 후 35°C의 incubator에서 1시간 방치한 후 원심분리 (10,000 rpm, 10 min)하여 상정액을 C<sub>18</sub> Sep-pak cartridge와 0.2 μm membrane filter로서 색소 등의 이물질을 제거한 여과액을 분석용 시료로 사용하여 HPLC로 분석 (Shimadzu LC10A)하였다.

## 2. 결과 및 고찰

가. 용기내 “위치”에 따른 전통된장의 품질평가

### ① 유기산 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 용기를 120일간 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장 중의 유기산을 조사한 결과는 Table 3.5.1과 같다. 볼록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A) 및 중심부(Middle) 된장의 유기산 함량이 높은 편이었다. 특히 일반 전통용기(type I)나 일체형으로 민민한 직립용기(type III)의 경우는 볼록용기에 비하여 <제1세부 과제>의 발효도 평가를 통하여 더욱 큰 차이를 나타낼 것으로 예측된다. 따라서 일반적으로 고정식으로 되어 있는 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 전환시킬 필요가 있다. 특히 대용량의 용기나 하루 동안에 햇빛을 받을 수 있는 각도가 불리한 위치의 장독일 경우는 더욱 큰 차이를 나타낼 것으로 보인다.

### ② 유리당 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 볼록용기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 용기를 120일간 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장 중의 유리당을 조사한 결과는 Table 3.5.2와 같다.

Table 3.5.1. Changes in organic acid contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Organic acids	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Tartaric acid	148.78	235.18	217.60	200.52
Malonic acid	51.86	25.39	41.22	39.49
Lactic acid	122.65	287.47	224.25	211.46
Oxalic acid	10.32	12.16	18.28	13.59
Acetic acid	58.76	45.29	94.11	66.05
Citric acid	243.61	478.15	567.36	429.71
Succinic acid	134.28	238.60	366.39	246.42
Malic acid	318.42	430.19	628.04	458.88
Total acid	1,088.68	1,752.43	2,157.25	1,666.12

Table 3.5.2. Changes in free sugar contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Free sugars	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Sucrose	13.21	36.19	25.88	25.09
Glucose	984.13	1,158.34	1,712.64	1,285.04
Fructose	21.78	12.90	45.38	26.69
Maltose	6.35	10.24	26.41	14.33
Total	1,025.47	1,217.67	1,810.31	1,351.15

블록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A) 및 중심부(Middle) 된장의 유리당 함량이 높은 편이었다. 특히 일반 전통용기(type I)나 직립용기(type III)는 블록용기(type II)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다. 따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 전환시킬 필요가 있으며, 특히 대용량의 용기나 하루 동안에 햇빛을 받을 수 있는 각도가 불리한 위치의 장독일 경우는 유리당의 함량에서 차이를 나타낼 것으로 보인다.

### ③ 유리아미노산 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 블록용기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 용기를 120일간 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장 중의 유리당을 조사한 결과는 Table 3.5.3과 같다. 블록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A) 및 중심부(Middle) 된장의 유리당 함량이 높은 편이었다. 특히 일반 전통용기(type I)나 직립용기(type III)는 블록용기(type II)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다. 따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 전환시킬 필요가 있으며, 특히 대용량의 용기나 하루 동안에 햇빛을 받을 수 있는 각도가 불리한 위치의 장독일 경우는 유리당의 함량에서 차이를 나타낼 것으로 보인다.

Table 3.5.3. Changes in free amino acid contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Amino acids	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Aspartic acid	176.65	185.14	190.45	184.08
Threonine	131.49	132.20	137.41	133.70
Serine	137.02	129.45	167.39	144.62
Glutamic acid	563.11	475.49	512.44	517.01
Proline	62.32	133.13	110.28	101.91
Glycine	71.87	142.73	120.20	111.60
Alanine	62.67	251.99	276.11	196.92
Cystine	-	-	-	0.00
Valine	101.27	128.16	152.64	127.36
Methionine	15.59	33.02	26.39	25.00
Isoleucine	-	-	-	0.00
Leucine	65.10	119.87	127.80	104.26
Tyrosine	220.22	282.35	295.18	265.92
Phenylalanine	47.29	34.47	46.36	42.71
Histidine	241.07	278.14	289.22	269.48
Lysine	162.16	290.36	272.38	241.63
Arginine	10.27	15.37	17.39	14.34
TAA	2,068.1	2,631.87	2,741.64	2,480.54



나. 옹기 “회전”에 따른 전통된장의 품질평가

① 유기산 함량의 변화

제1세부 과제에의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 블록옹기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 블록옹기를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장중의 유기산을 조사한 결과는 Table 3.5.4와 같다.

Table 3.5.4. Changes in organic acid contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of wide type *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Organic acids	Inner position of <i>Ongki</i>			Mean
	Middle	Side A	Side B	
Tartaric acid	153.58	221.32	231.86	202.25
Malonic acid	54.79	38.23	44.32	45.78
Lactic acid	132.76	268.09	212.54	204.46
Oxalic acid	12.29	17.28	16.66	15.41
Acetic acid	51.08	89.37	80.98	73.81
Citric acid	265.30	498.58	556.38	440.09
Succinic acid	142.75	387.93	375.27	301.98
Malic acid	323.65	587.45	627.61	512.90
Total acid	1,136.2	2,108.25	2,145.62	1,796.68

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

블록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A) 된장의 유기산 함량이 비슷한 함량으로 나타났다. 특히 일반 전통용기(type I)나 일체형으로 민민한 직립용기(type III)의 경우는 블록용기에 비하여 <제1세부 과제>의 발효도 평가를 통하여 더욱 큰 차이를 나타낼 것으로 예측된다. 따라서 일반적으로 고정식으로 되어 있는 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 전환을 하므로 인하여 특히 대용량의 용기나 하루 동안에 햇빛을 받을 수 있는 각도가 불리한 위치의 장독일 경우에도 큰 차이를 나타내지 않아서 품질 균일화를 위한 공정개선으로 판단된다.

## ② 유리당 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 블록용기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 블록용기를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장중의 유리당 함량을 조사한 결과는 Table 3.5.5와 같다. 유리당 함량은 유기산의 함량에서 유사하게 블록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A)의 전통된장과 그 유리당 함량이 비슷하게 균일성을 나타내었다. 특히 블록용기(type II)는 일반 전통용기(type I)나 직립용기(type III)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다. 따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 하는데, 블록용기를 주기적으로 회전시킴으로서 일조량을 고르게 받을 수 있기 때문에 전체적인 전통된장 품질에 큰 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3.5.5. Changes in free sugar contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of wide type *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Free sugars	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Sucrose	21.27	29.45	31.17	27.30
Glucose	1250.52	1769.82	1659.31	1,559.88
Fructose	30.05	53.27	35.49	39.60
Maltose	11.89	24.59	41.85	26.11
Total	1,313.73	1,877.13	1,767.82	1,652.89

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

### ③ 유리아미노산 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 불록옹기(type II)의 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 그 품질특성을 조사하기 위하여, 불록옹기를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장중의 유리당 함량을 조사한 결과는 Table 3.5.6와 같다. 유리당 함량은 유기산의 함량에서 유사하게 불록옹기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A)의 전통된장과 그 유리당 함량이 비슷하게 균일성을 나타내었다. 특히 불록옹기(type II)의 아미노테질소 함량은 일반 전통옹기(type I)나 직립옹기(type III)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다.

Table 3.5.6. Changes in free amino acid contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of wide type *Ongki*  
(mg%, dry *Doenjang*)

Amino acids	Inner position of <i>Ongki</i>			Mean
	Middle	Side A	Side B	
Aspartic acid	165.13	253.69	234.32	217.71
Threonine	124.60	123.41	134.06	127.36
Serine	129.61	137.69	234.70	167.33
Glutamic acid	534.80	556.73	648.35	579.96
Proline	56.09	117.96	124.85	99.63
Glycine	65.73	136.92	139.98	114.21
Alanine	54.39	198.74	189.36	147.50
Cystine	-	-	-	0.00
Valine	98.57	175.32	185.42	153.10
Methionine	12.71	27.74	37.86	26.10
Isoleucine	-	-	-	0.00
Leucine	53.62	140.90	136.01	110.18
Tyrosine	176.39	181.91	141.63	166.64
Phenylalanine	42.17	37.89	52.51	44.19
Histidine	227.52	365.22	334.22	308.99
Lysine	146.03	288.82	223.56	219.47
Arginine	6.84	19.48	21.39	15.90
TAA	1,894.2	2,762.42	2,838.22	2,498.28

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 하는데, 블록용기를 주기적으로 회전시킴으로서 일조량을 고르게 받을 수 있기 때문에 전체적인 전통된장 품질에 큰 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

다. 용기 “음향진동”에 따른 전통된장의 품질평가

① 유기산 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 블록용기 (type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 용기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장중의 유기산 함량을 용기 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 조사한 결과는 Table 3.5.7과 같다. 유리당 함량은 유기산의 함량에서 유사하게 블록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A)의 전통된장과 그 유리당 함량이 비슷하게 균일성을 나타내었다. 특히 블록용기(type II)의 아미노태질소 함량은 일반 전통용기(type I)나 직립용기(type III)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다. 따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 하는데, 블록용기를 주기적으로 회전시킴으로서 일조량을 고르게 받을 수 있기 때문에 전체적인 전통된장 품질에 큰 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3.5.7. Changes in organic acid contents of traditional *Doenjang* prepared by the acoustic transducer mounted under wide type *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Organic acids	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Tartaric acid	176.14	230.29	241.34	215.92
Malonic acid	69.04	36.58	41.03	48.88
Lactic acid	142.17	272.31	224.41	212.96
Oxalic acid	15.34	21.35	20.16	18.95
Acetic acid	46.98	93.60	86.23	75.60
Citric acid	292.15	502.28	524.58	439.67
Succinic acid	153.94	329.17	381.34	288.15
Malic acid	378.08	557.35	501.20	478.88
Total acid	1,273.84	2,042.93	2,020.29	1,779.01

Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

## ② 유리당 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 블록용기 (type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 용기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온(최고 15°C, 최저 -3°C, 평균 7°C)에서 발효시킨 전통된장중의 유리당 함량을 용기 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 조사한 결과는 Table 3.5.8과 같다.

Table 3.5.8. Changes in free sugar contents of traditional *Doenjang* prepared by the acoustic transducer mounted under wide type *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Free sugars	Inner position of <i>Ongki</i>			
	Middle	Side A	Side B	Mean
Sucrose	25.49	32.26	28.32	28.69
Glucose	1486.35	1621.75	1708.20	1,605.43
Fructose	42.17	46.80	32.44	40.47
Maltose	32.27	30.32	39.76	34.12
Total	1,586.28	1,731.13	1,808.72	1,708.71

Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

그 결과 옹기 중심부가 내벽의 좌·우측의 비하여 유리당 함량에서 낮은 함량이었지만, 상대적인 그 진동효과에 의한 옹기내측의 좌·우측보다 비교적 높아진 것으로 나타났다. 일반적으로 전통옹기는 중심부가 된장색도 및 된장 향의 측면에서는 내측면보다 우수하다고 알려져 있다. 그리고 본 결과는 40 L의 적은 용량에서 조사한 결과이지만, 옹기 중심부 된장의 경우는 음향진동 트랜스듀스의 지속적인 불규칙 진동작용으로 그 효과가 있음을 확인하였다. 차후에 200~300 L 이상의 대용량 옹기이거나 메주 발효도, 염도 및 발효·숙성 조건 등에 따라서 그 효과를 확인할 필요가 있다.

### ③ 유리아미노산 함량의 변화

<제1세부 과제>의 결과를 토대로 전통된장의 발효·숙성 과정에서 태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 불록용기(type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 용기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온(최고 15℃, 최저 -3℃, 평균 7℃)에서 발효시킨 전통된장중의 유리아미노산 함량을 용기 위치별(중앙, 내좌측, 내우측)로 조사한 결과는 Table 3.5.9와 같다. 그 결과 유리당 함량은 유기산의 함량에서 유사하게 불록용기(type II)에서 햇빛을 지속적으로 강하게 받는 측면(Side B)이 그 반대편 측면(Side A)의 전통된장과 그 유리당 함량이 비슷하게 균일성을 나타내었다. 특히 불록용기(type II)의 아미노태질소 함량은 일반 전통용기(type I)나 직립용기(type III)에 비하여 유기산과 마찬가지로 발효도 평가에서 차이가 크게 나타날 것으로 보인다. 따라서 고정식의 전통용기를 일조량을 균일하게 조절될 수 있도록 하는데, 불록용기를 주기적으로 회전시킴으로서 일조량을 고르게 받을 수 있기 때문에 전체적인 전통된장 품질에 큰 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

#### 라. 용기 “내면 다공성”에 따른 전통된장의 품질평가

용기는 재료에 따른 기공의 분포와 크기 등이 달라질 수도 있지만, 용기 제조과정 중의 소성온도가 높을수록 용기의 색깔과 다공성에도 차이가 있다. 따라서 용기 내면의 다공성에 차이를 들 수 있도록 천연유약이 용해될 수 있는 1,000℃ 이상의 높은 온도에서 유약의 코팅 유무를 구별하여 용기를 각각 1,175℃, 1,250℃, 1,300℃로 소성한 후, 발효·숙성중의 전통된장의 품질특성을 조사하였다.



Table 3.5.9. Changes in free amino acid contents of traditional *Doenjang* prepared by different inner position of *Ongki* (mg%, dry *Doenjang*)

Amino acids	Inner position of <i>Ongki</i>			Mean
	Middle	Side A	Side B	
Aspartic acid	210.46	265.36	249.74	241.85
Threonine	131.93	161.34	151.23	148.17
Serine	178.11	150.34	212.85	180.43
Glutamic acid	569.27	564.89	513.59	549.25
Proline	89.29	131.01	141.27	120.52
Glycine	93.02	142.07	144.22	126.44
Alanine	85.43	182.49	198.25	155.39
Cystine	-	-	-	0.00
Valine	127.90	183.28	170.39	160.52
Methionine	22.63	32.66	45.35	33.55
Isoleucine	-	-	-	0.00
Leucine	172.64	153.78	149.41	158.61
Tyrosine	148.67	190.33	168.59	169.20
Phenylalanine	58.41	83.54	69.18	70.38
Histidine	235.07	242.64	241.21	239.64
Lysine	201.13	268.31	203.56	224.33
Arginine	11.32	30.45	38.39	26.72
TAA	2,335.28	2,782.49	2,697.23	2,605.00

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

① 유기산 함량의 변화

태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 불록옹기(type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 옹기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온에서 발효시킨 전통된장중의 내측면 유기산 함량을 소성온도별(1,175℃, 1,250℃, 1,300℃)로 조사한 결과는 Table 3.5.10과 같다.

Table 3.5.10. Changes in organic acid contents of traditional *Doenjang* prepared by the *Ongki* fired at different sintering temperature  
(mg%, dry *Doenjang*)

Organic acids	Sintering temperature of <i>Ongki</i>			
	1,175℃	1,250℃	1,300℃	Mean
Tartaric acid	228.82	227.09	276.34	244.08
Malonic acid	128.49	132.86	154.09	138.48
Lactic acid	217.20	232.42	268.92	239.51
Oxalic acid	23.46	26.54	33.54	27.85
Acetic acid	32.17	43.79	47.32	41.09
Citric acid	435.59	501.31	578.43	505.11
Succinic acid	282.70	282.43	290.54	285.28
Malic acid	433.21	569.15	594.23	532.20
Total acid	1,781.64	2,015.59	2,243.41	2,013.6

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

그 결과 소성 온도별로 옹기의 내측면에서 유기산 함량에서 소성 온도가 증가될수록 각 온도별로 건물당 1,781~2,243 mg% 범위로서 약간의 차이가 나타났다. 현재 2차 실험이 진행 중인 경우로 옹기를 담체로서 발효균이 분포할 수 있도록 제조한 후의 내층과 외층에서 약간 차이가 나타나는 것으로 분석되었지만, 조건별(발효균 사전배양, 된장독 세척없이 재사용) 실험을 진행하고 있으며, 5월말까지는 그 결과를 분석할 수 있을 것 같다.

### ② 유리당 함량의 변화

태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 옹기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온에서 발효시킨 전통된장중의 중앙면 유기산 함량을 소성온도별(1,175℃, 1,250℃, 1,300℃)로 조사한 결과는 Table 3.5.11과 같다. 그 결과 소성 온도별로 옹기의 내측면에서 유리당 함량에서 유기산과 달리 소성 온도가 증가될수록 큰 차이가 없는 1,763~1,844 mg% 범위를 나타내었다. 이는 미생물 성장과 효소적 반응에서 당질의 가수분해 반응에 크게 영향을 미치지 않은 것으로 판단되며, 현재 진행 중인 발효균집과 효소활성 변화에 대한 분석을 통하여 상호관계를 파악할 수 있을 것으로 사료된다.

### ③ 유리아미노산 함량의 변화

태양 광선을 많이 받을 수 있는 적합한 형태인 중앙부위가 폭이 넓은 볼록옹기(type II)를 120일간 1일 90°씩 회전시키면서 음향진동 트랜스듀스의 최적 조건(Vt 7 high scale 3~4 range, 옹기바닥 소형 TD 2개 부착)으로 실온에서 발효시킨 전통된장중의 옹기 내측면 유기산 함량을 소성온도별(1,175℃, 1,250℃, 1,300℃)로 조사한 결과는 Table 3.5.12와 같다. 그 결과 소성 온도별

로 옹기의 내측면에서 총 유리아미노산 함량에서 1,175℃와 1,250℃는 각각 건물당 2,443 mg%와 2,786 mg%로 큰 차이가 없었으며, 1,300℃는 2,811 mg%로 최대 400 mg% 정도의 차이를 소성 온도가 증가될수록 나타내었다.

Table 3.5.11. Changes in free sugar contents of traditional *Doenjang* prepared by the *Ongki* fired at different sintering temperature  
(mg%, dry *Doenjang*)

Free sugars	Kiln temperature of <i>Ongki</i>			
	1,175℃	1,250℃	1,300℃	Mean
Sucrose	36.36	28.68	30.53	31.86
Glucose	1637.31	1687.02	1732.79	1,685.71
Fructose	48.32	41.69	38.03	42.68
Maltose	41.08	36.83	43.22	40.38
Total	1,763.07	1,794.22	1,844.57	1,800.62

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

Table 3.5.12. Changes in free amino acid contents of traditional *Doenjang* prepared by *Ongki* fired at different sintering temperature (mg%, dry *Doenjang*)

Amino acids	Sintering temperature of <i>Ongki</i>			
	1,175°C	1,250°C	1,300°C	Mean
Aspartic acid	234.54	252.65	239.51	242.23
Threonine	128.87	169.60	159.66	152.71
Serine	180.48	173.51	199.63	184.54
Glutamic acid	550.19	582.45	584.80	572.48
Proline	110.39	129.40	135.13	124.97
Glycine	120.76	158.23	159.68	146.22
Alanine	124.83	178.04	189.32	164.06
Cystine	-	-	-	0.00
Valine	144.56	166.79	178.47	163.27
Methionine	29.49	38.08	42.67	36.75
Isoleucine	-	-	-	0.00
Leucine	151.53	162.75	157.05	157.11
Tyrosine	162.55	174.28	179.83	172.22
Phenylalanine	65.32	79.64	75.39	73.45
Histidine	204.78	241.25	245.76	230.60
Lysine	214.62	240.33	224.61	226.52
Arginine	20.39	39.87	40.42	33.56
TAA	2,443.3	2,786.87	2,811.93	2,680.70

☞ Wide type *Ongki*, Volume : 40 L, Aging time : 120 days, Salting degree : 12.8%

## 제 6 절 연중 생산된 「대두발효식품」 품질특성 조사 및 평가

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 유리당 분석

제 5 절. 1. 재료 및 방법과 동일함.

#### 나. 유리아미노산 분석

제 5 절. 1. 재료 및 방법과 동일함.

#### 다. 유기산 분석

제 5 절. 1. 재료 및 방법과 동일함.

### 2. 결과 및 고찰

#### 가. 유리당 함량의 변화

전통적으로 메주를 제조하는 전반부 시기인 12월~1월의 경우는 "A cake", 약간 늦은 2~3월에 제조하는 후반부 시기는 "B cake", 아주 늦은 4~5월의 봄철에 제조하는 "C cake" 및 늦여름 혹은 초가을에 제조하는 "D cake"로 구분하여 각각의 캡슐형 전통메주 크기를 4,500~3,000 mL로 조절하여 기본적인 발효특성을 조사한 결과는 Table 3.6.1과 같다. 그 결과 총 유리당 함량은 가장 높은 것은 메주제조에서 저온건조한 장기간인 LTOH(I)이었으며, 다음으로는 저온저습의 환경조건을 갖는 LTLH(II)이었으며, 가장 낮은 것은 유리아미노산과 마찬가지로 메주제조에서 고온중습이며 메주발효 및 염장숙성 기간도 단기간인 HTMH(III)이었다.

Table 3.6.1. Contents of free sugar in traditional *Doenjang* prepared by the different manufacturing process throughout year (mg%, dry *Doenjang*)

Free sugars	Conditions			
	LTOH(I)	LTLH(II)	HTMH(III)	LTHH(IV)
Sucrose	44.81	36.63	41.54	25.68
Glucose	1,867.31	1,701.44	1,521.65	1,553.48
Fructose	68.98	54.87	23.60	45.04
Maltose	71.09	45.87	28.64	85.79
Total	2,052.19	1,838.80	1,615.43	1,709.99

나. 유리아미노산의 함량 변화

전통적으로 메주를 제조하는 전반부 시기인 12월~1월의 경우는 “A cake”, 약간 늦은 2~3월에 제조하는 후반부 시기는 “B cake”, 아주 늦은 4~5월의 봄철에 제조하는 “C cake” 및 늦여름 혹은 초가을에 제조하는 “D cake”로 구분하여 각각의 캡슐형 메주 크기를 4,500~3,000 mL로 조절하여 기본적인 발효특성을 조사한 결과는 Table 3.6.2와 같다. 그 결과 총 유리아미노산 함량은 가장 높은 것은 메주제조에서 저온건조한 장기간인 LTOH(I)이었으며, 다음으로는 저온저습의 환경조건을 갖는 LTLH(II)이었으며, 가장 낮은 것은 메주제조에서 고온중습이며 메주발효 및 염장숙성기간도 단기간인 HTMH(III)이었다.

Table 3.6.2. Contents of free amino acid contents in traditional *Doenjang* prepared by the different manufacturing process throughout year (mg%, dry *Doenjang*)

Amino acids	Conditions			
	LTOH(I)	LT LH(II)	HTMH(III)	LTHH(IV)
Aspartic acid	252.48	194.69	151.43	151.03
Threonine	180.42	159.26	140.37	139.41
Serine	189.30	146.09	113.80	131.98
Glutamic acid	571.69	487.58	451.96	489.67
Proline	132.48	125.76	53.32	112.43
Glycine	142.86	178.02	50.59	151.48
Alanine	287.22	274.68	65.12	185.43
Cystine	-	-	-	-
Valine	171.69	134.69	98.36	134.21
Methionine	31.69	37.44	21.42	23.43
Isoleucine	-	-	-	-
Leucine	145.52	127.98	56.29	98.32
Tyrosine	324.21	228.41	138.58	210.34
Phenylalanine	54.90	66.58	28.06	32.43
Histidine	288.49	290.86	183.43	221.39
Lysine	251.54	271.32	148.73	219.27
Arginine	33.78	24.30	11.08	11.25
TAA	3,058.27	2,747.60	1,712.54	2,312.07



다. 유기산 함량의 변화

전통적으로 메주를 제조하는 전반부 시기인 12월~1월의 경우는 "A cake", 약간 늦은 2~3월에 제조하는 후반부 시기는 "B cake", 아주 늦은 4~5월의 봄철에 제조하는 "C cake" 및 늦여름 혹은 초가을에 제조하는 "D cake"로 구분하여 각각의 캡슐형 메주 크기를 4,500~3,000 mL로 조절하여 기본적인 발효특성을 조사한 결과는 Table 3.6.3과 같다. 그 결과 총 유기산 함량은 고온 다습한 시기에 제조되는 LTHH(IV)가 가장 높게 나타났고, 다음으로는 HTMH(III)이었으며, 가장 낮은 것은 메주제조에서 저온건조한 기간인 LTOH(I)이었다.

Table 3.6.3. Contents of organic acid contents in traditional *Doenjang* prepared by the different manufacturing process throughout year (mg%, dry *Doenjang*)

Organic acids	Condition			
	LTOH(I)	LTLH(II)	HTMH(III)	LTHH(IV)
Tartaric acid	102.18	162.45	192.12	232.43
Malonic acid	110.30	121.37	121.49	122.65
Lactic acid	164.19	181.46	238.04	224.06
Oxalic acid	17.28	16.23	21.02	26.54
Acetic acid	23.10	23.64	39.32	37.67
Citric acid	324.65	383.34	440.59	471.04
Succinic acid	193.27	262.30	232.81	263.14
Malic acid	339.76	410.12	443.38	480.53
Total acid	1,274.73	1,560.91	1,728.77	1,858.06

## 제 7 절 기능성 농산물을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 시료

본 실험에서 재료는 국내에서 수확된 검정맷쌀(black nonglutinous rice, *Oryza sativa* L), 검정찹쌀(black glutinous rice, *Oryza sativa* L), 서리태(*Seritae*, black soybean, *Glycine max*), 흑태(*Huktae*, black soybean, *Glycine max*), 서목태(*Seomoktae*, black soybean, *Glycine max*)를 사용하였고, 오디(mulberry, *Morus bombycis*)는 마이산 영농조합에서, 가지(eggplant, *Solanum melongena* L.), 검정깨(black sesame, *Sesamum indicum* L.), 김(laver, *Porphyra tenera*), 검정찰옥수수(black waxy corn, *Zea mays* L.)는 대형 할인마트에서 구입했으며, 북한산 석이(*Gyrophora esculenta*)·목이버섯(*Auricularia auricula-judae*)을 사용하였다.

한약재 및 사용한 모든 식물체는 시중의 한약재료 판매상과 슈퍼마켓에서 구입하였으며, 한약재의 선택기준은 된장 및 간장의 색 및 향 등에 나쁜 영향을 미치지 않으면서 전통장류발효식품의 유해균인 *B. cereus*의 생육을 효과적으로 억제하고 *B. subtilis*의 생육을 촉진할 것으로 생각되는 복령(*Poria cocos*), 후박(*Machilus thunbergii*), 건강(*Zingiberis officinale*), 대추(*Zizyphus jujuba*), 길경(*Platycodi radix*), 감초(*Glycyrrhiza glabra*), 천궁(*Cnidium officinale*), 마황(*Ephedrae Herba*, China), 야생반하(*Pinellia ternata*, China), 세계지(*Cinnamomum cassia*, Vietnamese), 작약(*Paeonia lactiflora*), 창출(*Atractylodes japonica*), 백지(*Glehnia littoralis*), 진피(*Aurantii nobilis pericarpium*), 지실(*Ponciri Fructus*), 당귀(*Angelica gigas*), 향부자(*Angelica gigas*), 두충(*Eucommiae Cortex*), 쑥(*Artemisia princeps*), 홍화대(*Carthamus tinctorius*), 오갈피 줄기(*Acanthopanax chilsanensis*)

stem), 오갈피 뿌리(*Acanthopanax chilsanensis* root), 솔잎(*Pinus densiflora* leaf), 청량초(*Capsicum annuum*), 마늘(*Allium sativum*), 생강(*Zingiber officinale*), 양파(*Allium cepa*), 부추(*Allium tuberosum*), 셀러리(*Apium graveolens*), 도라지(*Platycodon grandiflorum*), 계피(*Cinnamomum cassia*), 헛개나무(*Hovenia dulcis*), 엄나무(*Kalopanax pictus*), 연근(*Nelumbo nucifera* root) 및 연잎(*Nelumbo nucifera* leaf) 등의 35종류를 사용하였다. 그리고 버섯의 종류는 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*), 양송이버섯(*Agaricus bisporus*), 표고버섯(*Lentinus edodes*), 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*), 팽이버섯(*Flammulina velutipes*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 및 상황버섯(*Phellinus linteus*)을 구입하여 사용하였다.

#### 나. 시약 및 기기

본 실험에 사용한 주요 시약으로는 용매는 공업용 메탄올, HCl을 사용하였다. 실험용 분석기기는 UV-visible spectrophotometer(Shimadzu UV-1601, Japan), clean bench(HB402, Hanback Scientific Co., Korea) 등을 사용하였다.

#### 다. 사용균주 및 배지

본 연구에 사용하는 균주 다음과 같다. 항균 활성 측정을 위해서 *Staphylococcus aureus* KCCM 11764, *Escherichia coli* KCCM 11569, *Bacillus cereus* KCCM 11204, *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11266, *Salmonella typhimurium* KCTC 2208, *Salmonella enteritidis*, KCCM 1202는 nutrient broth(NB, Difco, USA)와 nutrient agar(NA, Difco, USA)배지를 사용하였고, *Listeria monocytogenes* KCCM 40307는 brain heart infusion(BHI, Difco, USA)와 brain heart infusion agar(BHIA, Difco, USA)를 사용하였으며, *Vibrio parahaemolyticus* KCCM 41664는 NA와 NB에 3% 식염을 첨가하여 121℃에서 15분간 가압 멸균하여 사용하였다.

한약재 추출물의 항균활성에 사용한 공시균주는 전통장류발효식품의 유해균인 *Bacillus cereus* KCCM 11204와 발효균주인 *B. subtilis* IFO 3134 및 식품위생미생물인 *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 11835, *Staphylococcus aureus* KCCM 11764, *Salmonella typhimurium* TV-110, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* KCCM 1138, *Vibrio parahaemolyticus* KCCM 41664를 한국중균협회에서 분양받아 진주산업대학교 생물공학연구실에 보관 중인 것을 사용하였다.

## 라. 실험방법

### 1) 안토시안색소 추출물의 제조

시료 추출은 시료를 분말화하여 각 30 g을 전자저울(CB-300, AND, Korea)로 칭량한 후, 0.1% HCl / 80% 메탄올을 300 mL를 가하여 4℃에서 24시간 추출하고 추출시간을 점점 짧게 해서 3번 반복 추출한 후 여과하여 회전증발기에서 40℃로 농축하였다. 농축물은 동결 건조하여 -20℃에서 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

### 2) 한약추출물의 제조

1 L의 삼각플라스크에 증류수 460 mL를 넣고 각종 한약재 및 식물체를 각각 40 g씩 넣고 121℃에서 60분간 추출한 후 100 mL씩 봉지에 담아 5℃이하에 보관하면서 사용하였다. 버섯추출물의 제조는 1 L의 삼각플라스크에 증류수 160 mL를 넣고 여러 종류의 버섯을 각각 40g씩 첨가한 후 100℃에서 40분 동안 추출하였다.

### 3) 안토시안색소 추출물의 항균활성 측정

#### (1) 그람 양성균

항균력 검색용 균주로 액체배지에 접종한 것을 공시균주로 사용하여 항균력은 paper disc법을 이용하여 실험하였다. 배양된 공시 균액 1 mL를 petri dish에 가한 후 45℃로 조절된 멸균 배지 15 mL를 가하여 응고시켰다. 여기에 동결건조 된 안토시안 0.4 g을 메탄올 10 mL에 용해하여 100  $\mu$ L를 paper disc(8 mm)에 적하하여 37℃ incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로부터 각 추출물의 항균활성을 측정하였다. 자연계에 널리 분포하여 식품을 변질시키는 그람 양성균으로 주로 전분성 식품이 원인이 되는 *Bacillus cereus* KCCM 11204, 내척수막염이나 임산부의 자궁내막염을 일으키는 *L. monocytogenes* KCCM 40307와 enterotoxin을 생성 하여 식중독의 원인이 되는 *Sta. aureus* KCCM 11764를 사용하였다.

#### (2) 그람 음성균

오염의 지표균이면서 부패세균인 *E. coli* KCCM 11569, *P. aeruginosa* KCCM 11266, 주로 어패류에 번식하는 미호염균인 *V. parahaemolyticus* KCCM 41664, 육류나 난류 등에서 주로 감염되는 *Sal. typhimurium* KCTC 2208, *Sal. enteritidis* KCCM 1202를 선정하여 사용하였다.

#### 4) 안토시안색소 추출물의 최소저해농도 측정

최소저해농도의 측정은 Paper disc법을 사용하였다. 항균력 검색용 균주로 액체배지에 접종한 공시균주를 사용하였다. 안토시안 추출물의 항균력은 paper disc법을 이용하여 실험하였다. 먼저 배양된 공시 균액 1 mL를 petri dish에 가한 후 45℃로 조절된 멸균배지 15 mL를 가하여 응고시켰다. 여기에 동결건조 된 안토시안 추출물을 메탄올 400 mg/mL로 희석하여 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100  $\mu$ L 농도의 시료를 적하하여 용매를 제거한 paper disc(8 mm)를 올린 뒤 37℃에서 24시간 배양 후 clear zone의 직경을 대조구와 비교하였다.

#### 5) 한약추출물이 *B. cereus*의 생육에 미치는 영향

L자 시험관에 LB액체배지 9 mL와 한약재추출물 1 mL를 넣고 121°C /15분간 멸균한 다음 *B. cereus*의 전배양용액 0.5 mL접종한 후 37°C에서 150 rpm으로 배양하면서 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2. 결과 및 고찰

최근 웰빙-열풍이 일어나면서 소비자들 사이에 소위 '기능성 농산물'이라 불려지고 있는 여러 가지의 천연 유색식물체의 항미생물 특성을 조사한 결과, 검정색 안토시안 색소류는 항세균성을 나타내면서, 진균류(곰팡이, 버섯 균사체)의 생육에는 오히려 크게 영향을 받지 않는 긍정적인 효과를 나타내는 점을 알게 되었다. 따라서 본 연구과제의 "캡슐형 스타트 케이크"의 내충과 외충에서 안토시안 색소를 함유한 천연재료를 이용하여 곡류와 두류에서 많이 분포되는 식중독 세균인 *Bacillus cereus*를 포함한 몇 가지 식품 유해세균에 대한 항균특성을 조사하였다.

### 가. 천연식물 중의 안토시안색소 수득율

색소 추출의 최적의 조건인 80% 메탄올에 0.1% HCl을 가한 용매로 24시간 냉장에서 추출하고 추출시간을 점점 짧게 해서 3회 반복 추출한 추출물 한 후 회전증발기에 40°C로 농축하여 동결 건조한 시료의 수득율은 Table 3.7.1과 같다. 오디와 가지는 각각 78.0, 52.5%로 수득율이 높게 나타났으며, 서리태, 흑태, 서목태 추출물의 수득율은 16.3 17.2 16.2%로 나타났고, 검정맷쌀과 검정찰쌀은 각각 4.4%, 4.5%로 수득율이 가장 낮았으며 오디는 수율이 가장 낮은 검정찰쌀의 17.8배에 달하였다.

#### 나. 안토시아닌색소 추출물의 항균 활성

그람 양성 및 음성균에 대한 안토시아닌 색소 추출물의 항균력을 측정한 결과는 Table 3.7.2와 3.7.3과 같다. 즉 Table에서 보는 바와 같이, 안토시아닌은 공시균주에 대해 뚜렷한 clear zone을 보여 주어 광범위한 항균력이 나타났고, 미생물 종류별로는 그람 음성균에 대해 강력한 효과를 나타내었다.

##### 1) 그람 양성균에 대한 항균 스펙트럼

특히 *Sal. typhimurium*에서 clear zone의 크기는 검정맷쌀이 20 mm, 검정찰옥수수 21 mm로 측정되어 강력한 항균력을 나타내었다. 메탄올 추출물의 그람 양성균인 *Sta. aureus*, *Bacillus cereus*, *L. monocytogenes*에 대한 항균력을 측정한 결과는 Table 3.7.2, Fig. 3.7.1과 같다. *Sta. aureus*에 대해 서리태, 흑태, 서목태, 검정맷쌀, 검정찰쌀, 검정찰옥수수에서 항균성을 보였으며, 특히 검정찰옥수수는 clear zone의 직경이 12 mm로 가장 크게 나타났다. 오디, 김, 석이버섯, 목이버섯, 검정깨는 *Sta. aureus*는 항균성을 보이지 않았다. *Bacillus cereus*에 대해 대부분 항균성이 나타났으며 특히, 서목태, 검정쌀, 검정옥수수는 각 13 mm로 가장 clear zone의 크기가 가장 뚜렷하고 넓게 나타나 항균력이 높은 것으로 보여진다(Fig. 3.7.1). *L. monocytogenes*대해서는 전혀 항균성을 보이지 않았다.

Table 3.7.1. Yield of crude anthocyan pigment from natural black food stuffs

Sample	Sample(g)	Extract (wet, g)	Extract (dry, g)	Yield(%)
Seoritae(서리태)	30	5.9654	4.8913	16.3
Huktae(흑태)	30	7.2222	5.1536	17.2
Seomoktae(서목태)	30	5.8530	4.8748	16.2
Black glutinous rice (검정찹쌀)	50	4.4654	2.2019	4.4
Black nonglutinous rice (검정맷쌀)	50	4.6785	2.2589	4.5
Black waxy corn (검정찰옥수수)	30	2.4473	1.7537	5.8
Mulberry fruit(오디)	30	25.9032	23.3978	78.0
Eggplant(가지)	30	28.7343	15.7538	52.5
Laver(김)	10	82.7700	2.5459	25.5
<i>Auricularia auricula-judae</i> (목이버섯)	10	4.5850	1.1389	11.4
<i>Gyrophor aesculenta</i> (석이버섯)	10	2.4476	0.4941	4.9
Black sesame(검정깨)	10	10.8398	1.3028	13.0



Table 3.7.2. Antimicrobial activity of methanol extract of edible anthocyan pigment from natural black food stuffs on the growth of Gram staining positive bacteria

Gram positive	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Seoritae(서리태)	9	11	-
Huktae(흑태)	9	12	-
Seomoktae(서목태)	9	13	-
Black glutinous rice (검정찰쌀)	11	13	-
Black nonglutinous rice (검정멥쌀)	12	14	-
Black waxy corn (검정찰옥수수)	12	14	-
Mulberry fruit(오디)	-	12	-
Eggplant(가지)	-	12	-
Laver(김)	-	-	-
<i>Auricularia auricula-judae</i> (목이버섯)	-	-	-
<i>Gyrophora esculenta</i> (석이버섯)	-	9	-
Black sesame(검정깨)	-	-	-

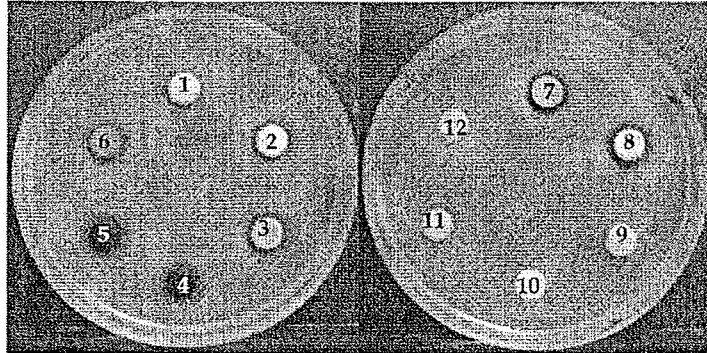


Fig. 3.7.1. Inhibitory effect of methanol extract of edible anthocyanin pigment from natural black food stuffs on the growth of *Bacillus cereus*.

- |                                      |                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 1: Black soybean( <i>Seoritae</i> )  | 2: Black soybean( <i>Huktae</i> )     |
| 3: Black soybean( <i>Seomoktae</i> ) | 4: Black glutinous rice               |
| 5: Black nonglutinous rice           | 6: Black waxy corn                    |
| 7: Mulberry fruit                    | 8: Eggplant                           |
| 9: Laver                             | 10: <i>Auricularia auricula-judae</i> |
| 11: <i>Gyrophora esculenta</i>       | 12: Black sesame.                     |

## 2) 그람 음성균에 대한 항균 스펙트럼

그람 음성균인 *V. parahaemolyticus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Sal. typhimurium*, *Sal. enteritidis*의 항균성은 Table 3.7.3과 같다. *V. parahaemolyticus*에 대해서는 서목태, 검정쌀, 검정 찰옥수수 추출물이 9 mm, 10 mm로 비슷한 항균성을 나타냈다. *E. coli*에서는 전반적으로 항균활성이 높게 나타났고 검정찹쌀, 검정옥수수, 오디추출물의 clear zone의 직경이 각 18 mm로 가장 커서 항균성이 매우 높음을 알 수 있다. *P. aeruginosa* 균주에 대해서는 같이 항균성을 보이지 않았다. *Sal. typhimurium* 는 김(*Porphyra tenera*)을 제외한 모든 추출물의 항균성이 높게 나타났으며 검정찹쌀, 검정찰옥수수 추출물이 각각 20 mm, 21 mm로 clear zone의 크기가 가장 크고 뚜렷하

게 나타났다.

Table 3.7.3. Antimicrobial activity of solvent fractions from methanol extract of edible anthocyan pigment from natural black food stuffs on the growth of Gram staining negative bacteria

Gram negative	V. <i>parahaemo- lyticus</i>	E. <i>coli</i>	P. <i>aeruginosa</i>	S. <i>typhimurium</i>	S. <i>enteritidis</i>
Seoritae(서리태)	10	13	-	16	12
Huktae(흑태)	-	14	-	17	12
Seomoktae(서목태)	9	14	-	16	12
Black glutinous rice(검정찰쌀)	9	15	-	17	13
Black nonglutinous rice(검정찹쌀)	11	18	12	20	15
Black waxy corn(검정찰옥수수)	12	18	13	21	17
Mulberry fruit(오디)	-	18	-	16	12
Eggplant(가지)	-	8	-	16	13
Laver(김)	-	-	-	-	-
<i>Auricularia auricula-judae</i> (목이버섯)	-	11	-	14	9
<i>Gyrophora esculenta</i> (석이버섯)	-	11	-	17	9
Black sesame(검정깨)	-	-	-	10	-

*Sal. enteritidis* 또한 대부분의 추출물의 항균성이 높게 나타남을 볼 수 있고 검정 찰옥수수의 clear zone이 17 mm로 가장 크게 나타났다. 위의 결과 대부

분의 균에 대한 서리태, 검정맷쌀, 검정옥수수 추출물의 항균성이 매우 뛰어나고 그람 양성균에 비해 그람 음성 균에 대한 항균활성이 높음을 보여준다.

#### 다. 안토시아닌 추출물의 최소저해농도

Paper disc법에 의한 최소저해농도(MIC, minimum inhibitory inhibition)를 측정하였다. 즉 실험에 사용된 각 추출물 중 항균효과가 높은 서리태, 검정맷쌀, 검정찰옥수수를 메탄올로 40 mg/mL로 희석하여 0~100  $\mu$ L의 농도를 20 $\mu$ L간격으로 paper disc에 적하하여 용매를 1시간 동안 굳힌 뒤 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 배양하였다. 안토시아닌 추출물을 첨가하여 식품 부패 미생물의 증식 억제 효과를 검색한 결과이다. 각 추출물의 최고농도 100  $\mu$ L의 농도에서 그람 양성균인 *Bacillus cereus*는 9~16 mm, 그람 음성균인 *Sal. typhimurium*은 12~20 mm로 항균 활성이 가장 잘 나타났으며, *L. monocytogenes*는 활성을 나타내지 않았다. 그리고 그람 양성균보다 그람 음성균에 대한 항균 효과가 더 높게 타나났다.

#### ① 검정쌀의 최소저해농도

Table 3.7.4와 같이 *Sta. aureus*는 40  $\mu$ L (1.6 mg/disk)농도에서 9 mm의 clear zone이 나타났으며 *L. monocytogenes*을 제외한 모든 균주에 대해 추출물의 농도가 증가함에 따라 항균력이 증가하고 있음을 알 수 있다. *Bacillus cereus* 20  $\mu$ L (0.8 mg/disk)의 농도에서 clear zone이 나타났다. *L. monocytogenes*는 앞서서와 같이 clear zone이 나타나지 않았다. *V. parahaemolyticus*, *E. coli*의 최소저해농도는 40  $\mu$ L, *P. aeruginosa*는 60  $\mu$ L (2.4 mg/disk)로 나타나며 *Sal. typhimurium*은 20  $\mu$ L로 볼 수 있다. 검정맷쌀 추출물은 *E. coli*에 대해 광범위한 항균력을 나타내었고 100  $\mu$ L (4.0 mg/disk)의

농도에서는 19 mm의 clear zone으로 *Sta. aureus*보다 2.2배의 항균력이 나타났  
다. *Sal. typhimurium*과 *Sal. enteritidis*에 대해서는 clear zone이 20  $\mu$ L에서부터  
나타나 낮은 농도에서의 항균력이 검증되었다. 검정쌀 추출물을 적하한 결과  
*Sal. enteritidis*의 clear zone이 가장 낮은 온도에서 나타났으며 전반적으로  
clear zone의 직경이 넓게 나타났다.

Table 3.74. Minimum inhibitory concentration of extract of edible anthocyan pigment from black nonglutinous rice on the growth against Gram staining positive and negative bacteria

Bacteria	Concentration (mg/disk)					
	0.4	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
<i>S. aureus</i>	-	-	9	10	11	13
<i>Bacillus cereus</i>	-	10	11	12	14	16
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	9	10	12	13
<i>E. coli</i>	-	-	9	12	14	19
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	9	11	13
<i>S. typhimurium</i>	-	9	12	13	14	17
<i>S. enteritidis</i>	-	12	13	14	15	16

② 서리태의 최소저해농도

Table 3.7.5에서와 같이 전반적으로 검정맵쌀과 검정 찰옥수수(20 (0.8 mg/disk), 40 μL (1.6 mg/disk)의 낮은 농도에서 상대적으로 항균 효과가 나타난 것을 알 수 있다. 검정맵쌀은 *Sal. enteritidis*에서, 검정 찰옥수수는 *Sal. typhimurium* 각각 20, 40 μL의 낮은 농도에서 모두 12 mm의 투명 직경이 나타나 검정맵쌀은 12, 14, 16, 18 μL 검정찰옥수수는 25, 30, 35 μL 농도로 paper disc에 적하하였으나 항균력은 나타나지 않았다. 검정맵쌀과 검정찰옥수수의 추출물이 다른 천연물보다도 상대적으로 높은 항균활성을 보임으로써 앞으로 천연항균제로서의 개발 가능성이 높은 것으로 사료된다.

Table 3.7.5. Minimum inhibitory concentration of extract of edible anthocyan pigment from *Seoritae* on the growth against Gram staining positive and negative bacteria

Gram positive	Concentration (mg/disk)					
	0.4	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	9	10
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	9	10
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	-	-	9	11
<i>E. coli</i>	-	-	9	10	11	12
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	-	-	10	10	11	13
<i>S. enteritidis</i>	-	-	9	10	11	11

③ 검정찰옥수수 추출물의 최소저해농도

최소저해농도는 Table 3.7.6과 같다. 검정찰옥수수는 검정맷쌀과 서리태와 같이 추출물의 농도가 증가함에 따라 항균력이 증가하고 있음을 알 수 있다. *Sta. aureus* 와 *Bacillus cereus*는 40  $\mu$ L(1.6 mg/disk)의 농도를 최소저해농도로 볼 수 있으며, *L. monocytogenes*는 항균성이 나타나지 않았다. 그람 음성균에서는 대부분의 최소저해농도가 20 (0.8 mg/disk)~40  $\mu$ L (1.6 mg/disk)농도로 볼 수 있으며 *Sal. typhimurium*는 검정찰옥수수 추출물 40  $\mu$ L농도에서 12 mm의 뚜렷한 clear zone이 나타나 20, 25, 30, 35  $\mu$ L의 농도로 적하하였으나 항균력은 나타나지 않았다.

Table 3.7.6. Minimum inhibitory concentration of extract of edible anthocyan pigment from black waxy corn on the growth against Gram staining positive and negative bacteria

Gram positive	Concentration (mg/disk)					
	0.4	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
<i>S. aureus</i>	-	-	9	10	12	14
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	10	12	14	15
<i>L. monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	9	10	12	13
<i>E. coli</i>	-	9	11	13	16	18
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	9	12	13
<i>S. typhimurium</i>	-	-	12	15	18	20
<i>S. enteritidis</i>	-	-	9	10	14	16

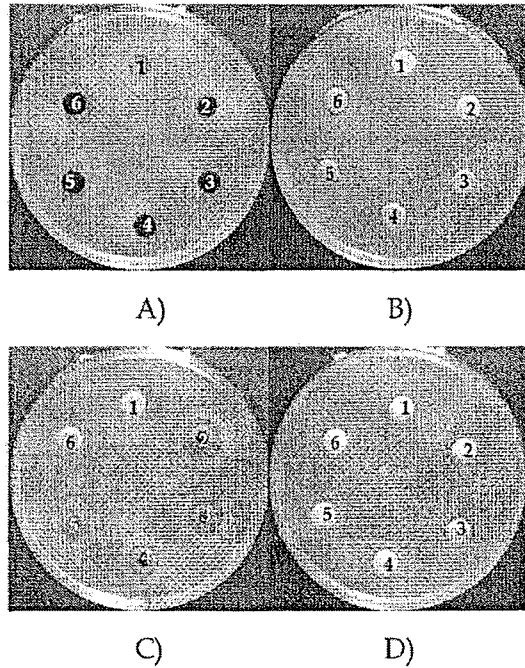


Fig. 3.7.2. Minimum inhibitory concentration of extract of edible anthocyan pigment from natural black food stuffs against *Bacillus cereus*.

A) *Scoritae*                      B) Black nonglutinous rice

C) Black waxy corn      D) Control

1: 0.4, 2: 0.8, 3: 1.6, 4: 2.4, 5: 3.2, 6: 4.0 mg/disk

다. 한약재 추출물의 *B. cereus* 및 *B. subtilis* 생육

1) *B. cereus*의 생육에 미치는 영향

우수한 전통 발효식품을 제조하기 위해서는 대두발효식품 중에서 *B. subtilis*의 생균수를 증가시키고, *B. cereus*의 생균수를 감소시키는 것이 바람직 할 것으로 생각한다. 그렇기 때문에 먼저 각종 한약재 및 식물체 추출물이 대 두발효식품의 유해균주인 *B. cereus*의 생육에 미치는 영향을 검토하여 Table



3.7.5에 나타내었다. LB배지에 한약재 추출물을 첨가하여 *B. cereus*를 배양한 결과 백지, 천궁, 마황, 당귀 및 오갈피 등은 *B. cereus*의 생육을 촉진시키는 것으로 나타났으나 지실, 후박, 감초, 두충 및 쑥 등은 효과적으로 *B. cereus*의 생육을 억제하는 것으로 나타났다.

## 2) *B. subtilis*의 생육에 미치는 영향

*B. cereus*의 생육을 효과적으로 억제하는 후박, 감초 및 쑥 등의 한약재 및 식물체의 7종을 선택하여 그 추출물이 *B. cereus*와 *B. subtilis*의 생육에 미치는 영향을 재검토하여 Fig. 3.7.3에 나타내었다. 대조구는 LB액체배지를 사용하였다. Fig.에서 보는바와 같이 선택한 한약재 및 식물체들은 *B. cereus*의 생육을 억제하였지만 *B. subtilis*의 생육도 동시에 억제하는 경향을 나타내어 전통 콩 발효식품을 제조하는데 사용하는 것은 어려운 것으로 판단되었다.

Table 3.7.5 Growth inhibition of *Bacillus cereus* by the extracts of medicinal herbs and edible plants

Medicinal herbs	<i>B. cereus</i> O.D.(660 nm)	Medicinal herbs	<i>B. cereus</i> O.D.(660 nm)
Control	1.985	<i>Angelica gigas</i> (향부자)	1.962
<i>Poria cocos</i> (복령)	1.825	<i>Eucommiae Cortex</i> (두충)	0.966
<i>Machilus thunbergii</i> (후박)	0.588	<i>Artemisia princeps</i> (쑥)	0.971
<i>Zingiberis officinale</i> (건강)	2.162	<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화대)	1.694
<i>Zizyphus jujuba</i> (대추)	1.837	<i>Acanthopanax chilsanensis</i> (오갈피줄기)	2.346
<i>Platycodi radix</i> (길경)	1.809	<i>Acanthopanax chilsanensis</i> (오갈피뿌리)	1.980
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (감초)	0.901	<i>Pinus densiflora</i> (솔잎)	1.390
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	3.216	<i>Capsicum annuum</i> (청량초)	1.901
<i>Ephedrae Herba</i> (마황)	2.944	<i>Allium sativum</i> (마늘)	1.412
<i>Pinellia ternata</i> (반하)	2.114	<i>Zingiber officinale</i> (생강)	1.432
<i>Cinnamon cassia</i> (세계지)	1.870	<i>Allium cepa</i> (양파)	2.028
<i>Paeonia lactiflora</i> (작약)	1.596	<i>Allium tuberosum</i> (부추)	1.614
<i>Atractylodes japonica</i> (창출)	2.560	<i>Apium graveolens</i> (샐러리)	2.145
<i>Glehnia littoralis</i> (백지)	3.692	<i>Platycodon grandiflorum</i> (도라지)	1.582
<i>Aurantii nobilis pericarpium</i> (진피)	1.775	<i>Cinnamomum cassia</i> (계피)	1.32
<i>Ponciri Fructus</i> (지실)	0.572	<i>Hovenia dulcis</i> (헛개나무)	1.675
<i>Angelica gigas</i> (당귀)	2.589	<i>Kalopanax pictus</i> (엄나무)	1.746
<i>Nelumbo nucifera</i> Leaf(연잎)	2.121	<i>Nelumbo nucifera</i> Root(연근)	2.025

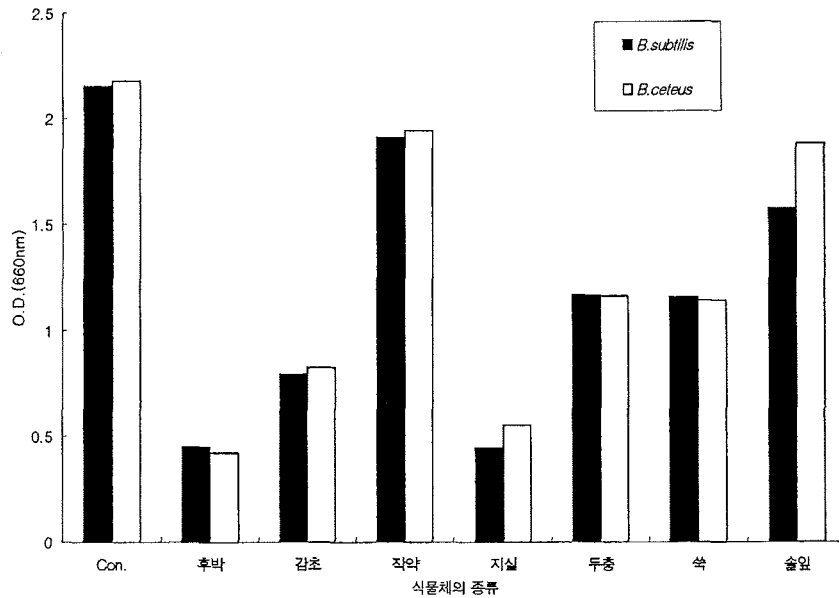


Fig. 3.7.3. Growth inhibition of *B. cereus* and *B. subtilis* by the extracts of medicinal herbs and edible plants.

#### 라. 버섯추출물의 *B. cereus*와 *B. subtilis* 생육에 미치는 영향

여러 종류의 버섯추출물이 *B. cereus*와 *B. subtilis*의 생육에 미치는 영향을 검토하여 Fig. 3.7.4에 나타내었다. 실험에 사용한 대부분의 버섯추출물은 *B. cereus*의 생육을 약간 억제하였으나, 영지버섯과 상황버섯 추출물은 오히려 *B. cereus*의 생육을 약간 촉진하는 것으로 나타났다. 그러나 실험에 사용한 버섯추출물 중 느타리버섯의 추출물은 *B. cereus*의 생육을 억제하고 *B. subtilis*의 생육에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

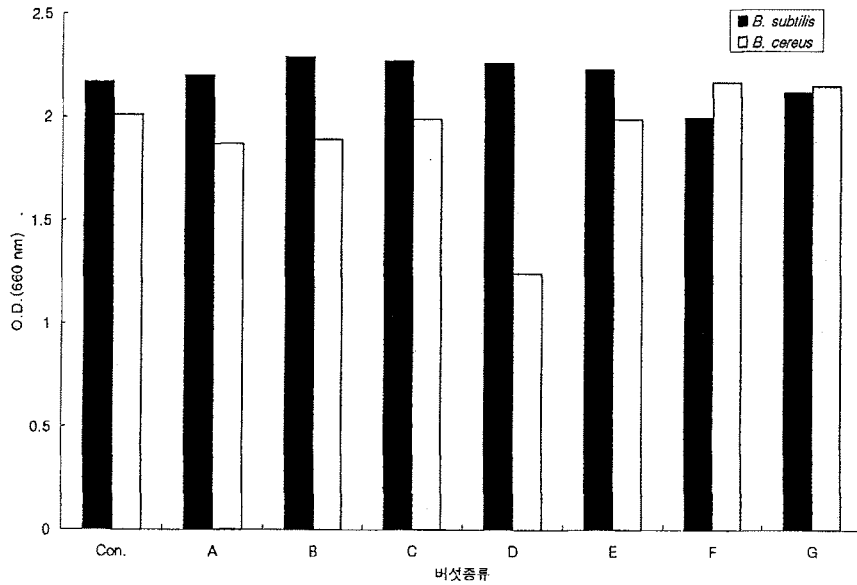


Fig. 3.7.4. Growth inhibition of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* by the extracts of some edible mushrooms. Cont, control ; A, *Pleurotus eryngii*(새송이) ; B, *Agaricus bisporus*(양송이) ; C, *Lentinus edodes*(표고) ; D, *Pleurotus ostreatus*(느타리) ; E, *Flammulina velutipes*(팽이) ; F, *Ganoderma lucidum*(영지) ; G, *Phellinus linteus*(상황).

#### 마. 느타리 버섯 추출물의 항균활성

느타리버섯 추출물이 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 생육에 미치는 영향이 액체배지와 고체배지에 따라서 다를 것으로 생각되어 각종 버섯의 추출물을 paper disc에 180 $\mu$ l씩 흡착시킨 다음 *B. subtilis* 및 *B. cereus*균주를 중층한 평판배지를 사용하여 agar diffusion 방법으로 2균주에 대한 항균활성을 측정된 결과를 Fig. 3.7.5에 나타내었다. 액체배양에서는 모든 버섯 추출물이 *B. cereus* 균주에 대하여 약간의 생육저해를 나타내었으나 agar diffusion 방법에서는 느타리버섯 추출물만이 *B. cereus*균주에 약간의 생육저해를 나타내었다(Fig.

3.7.5-B의 7). 그러나 *B. subtilis*에 대해서는 전혀 항균활성을 나타내지 않았다 (Fig. 3.7.5-A).

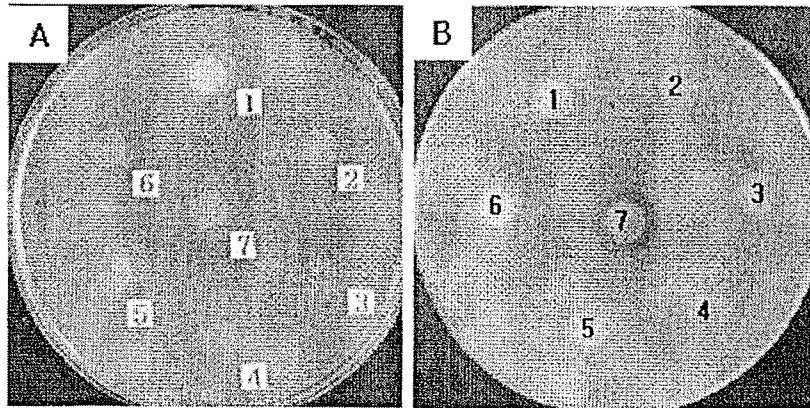


Fig. 3.7.5. Antibacterial activity of extract of *P. ostreatus* against *B. subtilis* (A) and *B. cereus* (B). 1, *Pleurotus eryngii*(새송이) ; 2, *Agaricus bisporus*(양송이) ; 3, *Lentinus edodes*(표고) ; 4, *Flammulina velutipes*(팽이) ; 5, *Ganoderma lucidum*(영지) ; 6, *Phellinus linteus*(상황) ; 7, *Pleurotus ostreatus*(느타리).

바. 느타리버섯 추출물 첨가 배지에서 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 생육곡선

200 mL 삼각플라스크에 LB액체배지 80 mL를 첨가하고 미리 제조해둔 버섯추출물 20 mL를 첨가한 후 121°C에서 멸균한 다음, *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 전배양액을 각각 0.5%(V/V)씩 첨가하여 37°C에서 150rpm으로 배양하면서 느타리버섯의 추출물이 각 균주의 생육에 미치는 영향을 검토하여 Fig. 3.7.6에 나타내었다. 느타리버섯의 추출물을 첨가하지 않은 대조구에서는 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 생육이 아주 대등한 생육패턴을 나타내었으나 느타리버섯의 추출물을 첨가한 시험구에서는 *B. cereus* 및 *B. subtilis*의 생육이 배양 6시간째부터 약간의 차이를 나타내어 배양 18시간째에는 O.D.값으로 약

1.5배 정도의 차이를 나타내었다.

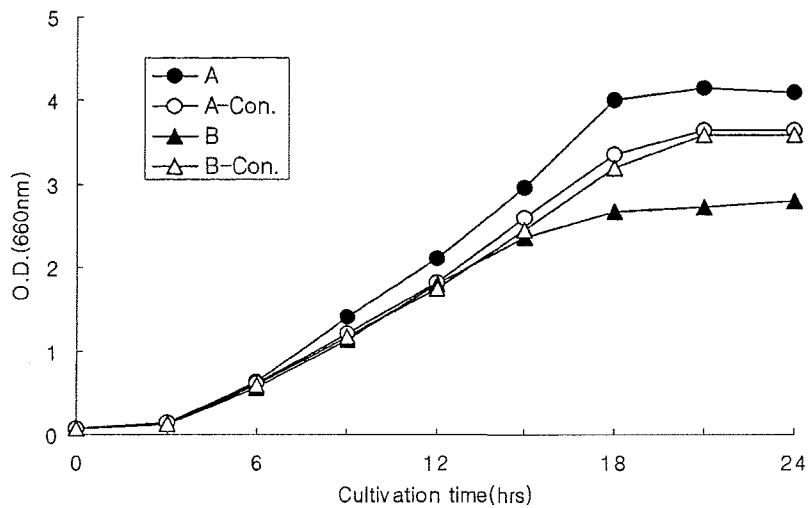


Fig. 3.7.6. Antibacterial activity of extract of *P. ostreatus* against *B. subtilis* (A, A-Con) and *B. cereus* (B, B-Con). Growth of *B. subtilis* on LB medium (A-Con) and LB medium (A) added with *P. ostreatus*. Growth of *B. cereus* on LB medium (B-Con) and LB medium (B) added with *P. ostreatus*.

사. 전통된장 용액 중에서 버섯추출물의 영향

*B. subtilis*와 *B. cereus*에 대하여 선택적으로 생육을 저해할 수 있는 기능성 농산물은 여러 종류의 한약재보다 버섯의 추출물이 효과적이었으며 버섯 중에서는 느타리버섯이 가장 그 효과가 우수한 것으로 판단되었다. 그렇기 때문에 느타리버섯 추출물이 합성배지가 아닌 실제 전통된장 용액 중에서는 어떻게 효과를 나타내는지를 검토하여 Table 3.7.6에 나타내었다. 100 mL 삼각플라스크에 느타리버섯추출물 45 mL를 넣고 재래식된장 5 g은 첨가한 다음 121°C에서 15분 멸균하였다. 멸균한 된장용액에 *B.*

*subtilis*와 *B. cereus*의 전배양용액 2 mL씩을 각각 접종하고 37°C, 150 rpm으로 배양하면서 배양시간에 따른 생균수를 측정하였다. 대조구는 버섯추출물 대신에 증류수를 첨가하였다. *B. subtilis* 및 *B. cereus*을 각각 접종한 시험구 모두 배양 12시간까지는 균수가 급격하게 증가하였으나 그 이후로는 균수가 급격하게 감소하는 현상을 나타내었다. *B. subtilis*를 접종한 시험구에서는 대조구보다 느타리버섯 추출물을 첨가한 시험구에서 균수의 감소가 느리게 일어났으나 *B. cereus*를 접종한 시험구에서는 대조구보다 느타리버섯 추출물을 첨가한 시험구에서 균수의 감소가 빠르게 일어남을 알 수 있었다.

Table 3.7.6. Growth effect of traditional *Doenjang* solution added with extract of *P. ostreatus* against *B. cereus* and *B. subtilis*

Extract	<i>B. subtilis</i> ( $\times 10^5$ colony/mL)				<i>B. cereus</i> ( $\times 10^5$ colony/mL)			
	0 hr	12 hr	18 hr	24hr	0 hr	12 hr	18 hr	24hr
Control	2.2	25	2	0	40	315	2.3	0
<i>P. ostreatus</i>	1.8	24	3	0.7	55	227	0	0

#### 아. 최종 국균과 버섯균사체의 성장속도와 발효특성 평가

균주 성장도와 일부 발효특성이 우수한 점에서 잠정적으로 선정된 황국균 *Aspergillus oryzae*와 동충하초 버섯균사체 *Paecilomyces japonica*는 메주 스타트케이크의 각각 발효균으로서 그 성장속도와 기호성 등에서 양호하였다. 황국균은 성장 속도가 빠르지만 압착 성형시킨 메주 '스타트 케이크'의 중간층에서

부분적인 생육억제가 관찰됨으로서 우리나라 전통 메주용 '스타트 케이크'를 제조하는데 유리할 것으로 판단되었다. 벼싯균사체는 시험균주 대부분 국균에 비하여 성장속도가 낮아서 발효기간을 길게 하여야 하는 단점과 그에 따른 다른 균주의 오염에 대한 부분을 해결하는데 어려움을 줄 수가 있다. 그러나 동충하초는 대형 발효실의 습도를 잘 조절하면 국균보다는 성장속도가 낮지만, 메주 향을 좋게 하면서, 특히 된장에서 흑갈색으로 색도 변화를 줄일 수 있는 장점을 갖고 있어서 메주 스타트 케이크 제조용의 발효균으로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.



## 제 8 절 고초균과 유산균을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 공시균주

본 연구에서 사용한 공시균주는 전통장류발효식품의 유해균인 *Bacillus cereus* KCCM 11204와 발효균주인 *B. subtilis* IFO 3134 및 식품위생미생물인 *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 11835, *Staphylococcus aureus* KCCM 11764, *Salmonella typhimurium* TV-110, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* KCCM 1138, *Vibrio parahaemolyticus* KCCM 41664를 한국중균협회에서 분양받아 진주산업대학교 생물공학연구실에 보관 중인 것을 사용하였다. 그리고 유산균인 *Lactobacillus casei* KCTC 3109, *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3140, *Lactobacillus delbrueckii* KCTC 1058 및 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104균주는 한국생명공학연구원에서 분양받아 사용하였다.

#### 나. 항균미생물의 분리

균원시료 1 g씩을 멸균 생리식염수 9 mL에 잘 희석하여 SM배지, AM배지 및 CM배지에 각각 도말한 후 35°C, 24시간 배양하여 생육속도가 빠르고 3종류의 배지에서 동시에 clear zone이 뚜렷하게 나타내는 균주를 1차 분리한 다음, 액체배양한 후 protease 및 amylase 등의 효소활성을 측정하여 2차 선별하였다. 2차 분리균주 중에서 유해미생물에 대한 항균활성을 측정하여 최종 분리균주를 선정하였다.

#### 다. 항균활성 측정

미생물의 항균활성은 agar diffusion method법에 준하여 측정하였다. 500

mL의 삼각플라스크에 200 mL의 액체배지를 넣고 살균한 후, 전배양액을 1% 접종하여 35℃, 180 rpm, 24시간 배양하였다. 그 배양액을 8,000×g에서 원심분리한 후 얻은 상정액을 0.2 μm membrane filter로 여과하여 항균활성 측정시료로 사용하였다. 측정법은 0.6% soft agar가 함유된 Mueller Hinton 배지에 각 유해미생물의 액체배양액 50 μL씩을 접종하여 잘 혼합한 후 미리 준비해둔 Mueller Hinton 평판배지에 중층 한 다음 항균활성 측정시료 120 μL씩을 흡착시켜 건조시켜 둔 paper disc(Toyo Rhoishi kaisha, Ltd., 8 mm)를 중층배지 위에 얹어 35℃ 항온기에서 배양하면서 유해미생물의 생육저해를 나타내는 clear zone의 직경(mm)을 측정하였다.

#### 라. 사용배지 및 발효식품

전통장류발효식품의 유해균인 *B. cereus* KCCM-11204와 발효균주인 *B. subtilis* IFO 3134와 식품위생미생물인 *Streptococcus mutans* 등의 배양배지 및 발효식품 중의 총균수 측정을 위한 배지는 LB배지를 사용하였고, *Lactobacillus* sp. 균주의 보존 및 증식을 위한 배지는 MRS배지를 사용하였다. 그리고 미생물 분리용 배지는 1% skim milk가 함유된 SM배지(sodium chloride 1%, yeast extract 0.5%, peptone 1%, skim milk 2%)와 SM배지에서 skim milk 대신 2% soluble starch가 함유된 AM배지 및 2% carboxy methyl cellulose(CMC)가 함유된 CM배지를 사용하였다. 항균 spectrum조사는 Mueller Hinton 평판배지를 사용하였다. 또한 *B. cereus*의 검출을 위한 배지는 NGKG(NaCl Glycine Kim Goepfert)평판배지를 사용하였다. NGKG평판배지의 조성은 peptone 0.1%, yeast extract 0.05%, NaCl 0.4%, glycine 0.3%, polymyxin B sulfate 0.001%, phenol red 0.0025% 및 agar 1.5%로 구성되어 있으며, 이 성분을 잘 혼합·용해하여 121℃, 15분간 멸균시킨 다음 약 60℃ 정도로 냉각한 후 난황용액 10%를 첨가하여 petri dish에 분주하여 평판배지를

제조하였다. 난황용액은 무균적으로 난황을 채취하여 멸균 생리식염수에 4 : 1의 비율로 혼합하여 제조하였다.

## 2. 결과 및 고찰

### 가. 항균 미생물의 분리

전통장류 발효식품에서 대두의 발효를 촉진시키고 장류 발효식품의 생리활성을 강화시킬 수 있는 우수한 균주를 분리할 목적으로 균원 시료로부터 약 130여종의 균주를 1차 선별한 다음, SM, AM 및 CM의 3종류 평판배지 상에서 성장속도가 빠르면서 clear zone이 뚜렷한 13균주를 2차 분리하여 Table 3.8.1에 나타내었다.

대부분의 분리균주들은 SM, AM 및 CM배지 상에서 비교적 성장이 빠르고 뚜렷한 단일 콜로니를 형성하였다. 그리고 clear zone 크기를 비교한 결과 SM배지 상에서 CH-7, CH-69, CH-36 및 CH-95 균주, AM배지 상에서는 CH-36, CH-21, CH-99 및 CH-108 균주의 순으로 크게 나타났다. 또한 CM배지 상에서는 CH-24, CH-36 및 CH-95 균주의 순으로 크게 나타났다.

### 나. 분리균주의 효소활성

비교적 성장속도가 빠르고 clear zone size가 크게 나타난 13균주를 LB 액체배지에서 24시간 배양한 후 효소활성을 측정한 결과 protease는 CH-36, CH-07 및 CH-108 균주에서 높게 나타났으며, amylase활성은 CH-36, CH-69 및 CH-07균주에서 높게 나타났다(Table 3.8.2). 그리고 cellulase활성은 CH-01, CH-36 및 CH-69의 균주에서 높게 나타났다.

Table 3.8.1. Growth rate and clear zone of the isolated strains on SM, AM and CM media

Isolated strains	Growth rate <sup>1)</sup>	Clear zone (mm) <sup>2)</sup>		
		SM <sup>3)</sup>	AM <sup>4)</sup>	CM <sup>5)</sup>
CH-01	+++	11.6	17.2	6.0
CH-07	+++	18.3	17.3	7.5
CH-21	+++	17.5	18.8	6.5
CH-24	++	14.8	15.4	7.5
CH-36	+++	18.5	19.0	7.0
CH-40	++	13.6	15.5	5.5
CH-47	+++	17.5	13.2	5.0
CH-63	+++	16.4	15.8	4.5
CH-69	++	18.5	16.5	4.7
CH-95	+++	18.2	16.0	5.2
CH-99	+++	16.1	18.3	6.0
CH-108	+++	15.4	17.5	6.5
CH-123	++	16.5	15.5	5.7

<sup>1)</sup>Growth rate : + slow, ++ medium, +++ fast

<sup>2)</sup>Size of clear zone on SM<sup>3)</sup> containing skim milk for protease, AM<sup>4)</sup> containing soluble starch for amylase and CM<sup>5)</sup> media containing carboxy methyl cellulose for cellulase activity.

Table 3.8.2. Activity of protease, amylase and cellulase of the strains isolated from traditional *Doenjang*

Isolated strains	Enzyme activities(units/ml)		
	Protease	Amylase	Cellulase
CH-01	41.62	5.38	6.05
CH-07	53.53	7.63	4.54
CH-21	48.82	6.53	2.75
CH-24	33.64	4.65	2.05
CH-36	57.50	8.86	5.75
CH-40	43.47	5.69	1.95
CH-47	52.61	3.48	2.63
CH-63	48.35	6.23	5.06
CH-69	45.65	7.65	5.27
CH-95	38.27	6.58	3.85
CH-99	52.84	7.38	4.67
CH-108	53.27	4.39	4.86
CH-123	48.55	6.85	1.85

#### 다. 분리균주의 항균활성

SM, AM 및 CM의 3종류 평판배지 상에서 clear zone이 뚜렷하고 액체배지에서 비교적 효소활성이 높게 나타난 13분리균주가 *B. subtilis* 및 *B. cereus*에 나타내는 항균활성을 측정하여 Fig. 3.8.1에 나타내었다. 대부분의 분리균주는 *B. subtilis*와 *B. cereus*에 대하여 항균활성을 나타내지를 못하였다. 그러나 분리한 123균주는 *B. cereus*에 대하여 약간의 항균활성을 나타내었으나 *B. subtilis*에 대하여도 항균활성을 동시에 나타내었다. 이와 같이 분리균주가 *B. cereus*의 생육을 저해함과 동시에 *B. subtilis*에 대해서도 생육을 저해하는 이유는 항균미생물을 분리한 균원시료가 전통된장이기 때문에 *B. subtilis*와 *B. cereus*에 대하여 선택적으로 생육을 저해하지 못하는 것으로 생각되었다. 따라서 좀더 우수한 항균미생물의 분리를 행하기 위해서 균원시료를 달리하여 연구를 행하는 것이 옳을 것으로 생각되었다.

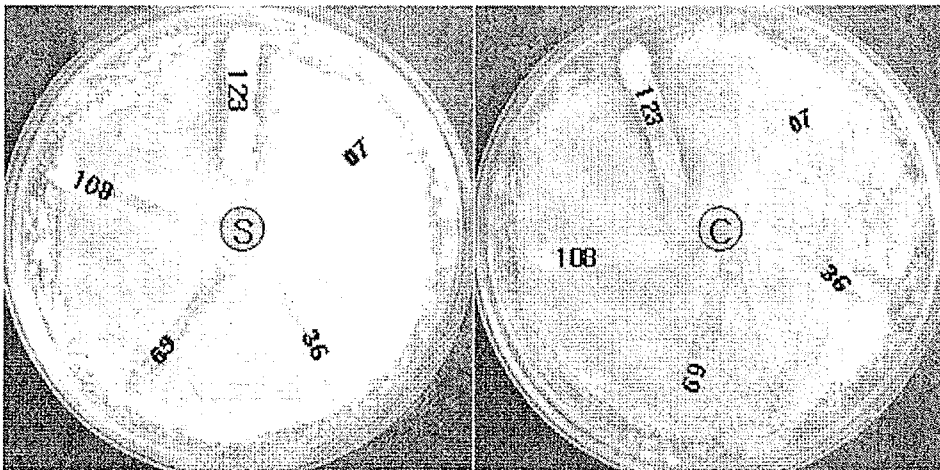


Fig. 3.8.1. Antibacterial activity of extracts of the isolated strains against *B. subtilis* (S) and *B. cereus* (C). S, *B. subtilis* ; C, *B. cereus* ; #07, 36, 69, 108, 123 = isolated strains.

#### 라. 유산균의 항균활성

지금까지의 연구를 종합해 볼 때 *B. cereus*에 대하여 선택적으로 생육을 저해할 수 있는 미생물을 전통 콩 발효식품으로부터 분리한다는 것은 어려운 것으로 판단되어 유기산을 대량 생산하고 병원성미생물에 대하여 항균활성이 우수한 것으로 알려져 있는 *Lactobacillus* sp.의 유산균이 *Bacillus* sp. 및 여러 종류의 식품위생미생물 등에 나타내는 항균활성을 검토하여 Table 3.8.3에 나타내었다. *Lactobacillus* sp. 배양용액 대신에 증류수를 흡착시킨 대조구는 항균활성을 전혀 나타내지 않았지만 *Lactobacillus* sp. 배양용액을 120  $\mu$ l 흡착시킨 모든 시험구에서는 뚜렷한 투명환을 나타내었다. 특히 *Vibrio parahaemolyticus*의 식중독균에 대해서는 강한 항균활성을 나타내었다. 그러나 유산균의 배양용액이 *B. subtilis*와 *B. cereus* 세균에 대하여 나타내는 항균활성은 선택적이지 못하고 대체적으로 비슷한 것으로 나타났다.

#### 마. 콩배지에서 유산균의 생육

유산균을 전통 콩 발효식품의 발효균주로 사용하기 위해서는 콩 분말로 제조한 배지 상에서 유산균의 생육도를 검토할 필요가 있는 것으로 판단되었다. 그렇기 때문에 황대두 분말로 제조한 콩 배지에서 유산균의 생육도를 관찰하기 위하여 120 mesh로 분쇄한 황대두 분말만을 2%씩 첨가한 평판배지 상에서 유산균의 생육도를 혐기적으로 검토하여 Table 3.8.4에 나타내었다. 대조구로는 MRS배지를 사용하였다. MRS배지에서는 *Lactobacillus* sp.의 세균의 성장이 왕성하였으나 콩 배지상에서는 생육이 미약하였다. 그러나 *L. plantarum* KCTC 3104는 다른 유산균에 비하여 비교적 생육이 양호한 것으로 관찰되었다.

Table 3.8.3. Antibacterial activity of some *Lactobacillus* sp. against *B. cereus* and *B. subtilis* containing foodborne pathogens

Bacteria	Clear zone(mm)				
	Control	<i>L. casei</i> KCTC 3109	<i>L. acidophilus</i> KCTC 3140	<i>L. delbrueckii</i> KCTC 1058	<i>L. plantarum</i> KCTC 3104
<i>Bacillus cereus</i> KCCM 11204	8	12	11	12	12
<i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134	8	11	10	11	12
<i>Streptococcus mutans</i>	8	11	11	12	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	8	14	18	18	17
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11835	8	14	13	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i> KCCM 11764	8	14	14	14	15
<i>Salmonella typhimurium</i> TV-110	8	14	15	14	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	15	13	15	14
<i>Proteus mirabilis</i> KCCM 1138	8	15	15	16	16
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> KCCM 41664	8	18	19	20	18



콩의 분말을 이용하여 평판배지를 제조할 때는 콩의 분말이 배지 중에서 용해되지 않기 때문에 균의 생육을 사진 등으로 확인하기는 어려웠다. 이상의 결과로 *Bacillus* sp.에 있어서는 항균활성이 거의 비슷하지만 *Vibrio parahaemolyticus*, *Proteus mirabilis* 및 *Salmonella typhimurium* 등과 같은 다른 식품위생미생물에 대하여 강한 항균활성을 나타내는 유산균을 발효균주로 사용할 경우 콩 배지에서 비교적 생육이 양호한 *L. plantarum* KCTC 3104 균주를 발효균주로 사용하여도 될 것으로 판단되었다.

Table 3.8.4. Growth of *Lactobacillus* spp. on soy powder agar plate

Strains Media	<i>L. casei</i> KCTC 3109	<i>L. acidophilus</i> KCTC 3140	<i>L. delbrueckii</i> KCTC 1058	<i>L. plantarum</i> KCTC 3104
MRS plate	+++	+++	+++	+++
Soy powder plate	+	+	+	++

Growth rate : + slow, ++ medium, +++ fast

## 제 9 절 포자발아율 증진법을 이용한 *B. cereus* 저감화 방안

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 발효식품 중의 총 균수 검토

총 균수의 검토는 각 분석용 시료로 수거한 된장, 고추장, 청국장 및 메주 30 g을 멸균한 막자사발로 잘 분쇄한 다음 10배 단계 희석한 시료용액 0.1 mL씩을 미리 준비한 LB평판배지 각 2장씩 균일하게 도말한 후 35℃에서 24시간 배양하여 나타나는 집락을 계산하여 나타내었다.

#### 나. *B. cereus*의 정량분석

일반생균수 측정용으로 제조한 시료 원액 및 10배 단계 희석한 시료용액 0.1 mL씩을 미리 준비하여 둔 각 2장씩의 NGKG한천(식품 중의 세레우스 균수 측정 및 분리 감별 배지) 평판배지 위에 떨어뜨린 다음 멸균 도말봉으로 배지 표면을 균일하게 도말한 후 35℃에서 18~24시간 배양하여 검토하였다. NGKG한천평판 상에 발생한 세레우스 균 집락은 비교적 크고 편평한 표면으로 회백색을 띄며 콜로니 주변에 lecithinase의 작용에 의해 핑크 색의 난황 반응을 나타내었다.

#### 다. *B. cereus*의 포자 형성

PDA평판배지에 *B. cereus*를 접종하여 35℃에서 15일 동안 배양한 다음 90% 이상의 포자가 형성된 것을 현미경으로 확인하고 멸균생리식염수 10 mL를 첨가하여 멸균된 면봉으로 배지의 표면에 자란 포자를 고르게 긁어 포자를 회수한 다음 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

라. 청국장 점질물이 *B. cereus*에 미치는 영향

청국장 점질물은 잘 발효된 청국장에 3배의 멸균 생리식염수를 첨가하여 60분 동안 온화하게 진탕시킨 후 여과 및 원심분리(8,000×g, 10 min)하여 얻은 상정액을 동결건조하여 얻었다. 청국장 점질물이 포자발아에 미치는 영향의 검토는 동결건조한 청국장 점질물을 분말화하여 멸균 생리식염수에 0, 1, 2 및 3%농도로 첨가한 용액에 회수한 *B. cereus* 포자를  $1.25 \times 10^6$  cell/mL 농도로 침지시켜 0~60분 동안 온화하게 진탕시키면서 방치한 후 생리식염수로 수세하여 회수한 다음 NGKG한천평판에 도말하여 35°C, 24 hr 배양하여 나타나는 콜로니를 측정하여 포자발아율을 검토하였다. 대조구는 청국장 점질물을 처리하지 않은 시험구를 사용하였다.

마. Ethanol이 *B. cereus*에 미치는 영향

에탄올이 *B. cereus*의 포자발아에 미치는 영향의 검토는 0~40% 농도로 제조한 에탄올 각 용액에 회수한 *B. cereus* 포자를 0~30분 동안 온화하게 진탕시키면서 방치한 후 청국장 점질물이 포자발아에 미치는 영향과 동일하게 검토하였고, 생육에 미치는 영향은 멸균한 LB액체배지에 membrane filter로 여과 멸균한 에탄올을 0 ~ 40%범위로 첨가하고 미리 전배양한 각 균주를 접종하여 35°C, 24 hr 배양한 후 배양용액의 흡광도를 측정하였다.

바. NaCl이 *B. cereus*에 미치는 영향

NaCl이 *B. cereus* 포자발아 및 생육에 미치는 영향은 0~15%의 NaCl 용액을 제조하여 ethanol의 검토 방법과 동일하게 행하였다.

사. 온도가 *B. cereus* 포자발아에 미치는 영향.

온도가 *B. cereus* 포자발아에 미치는 영향은 포자현탁액을 10배 단계

희석한 시료용액 0.1 mL씩을 NGKG한천 평판배지 위에 떨어뜨린 다음 멸균 도말봉으로 배지 표면을 균일하게 도말한 후 5 ~ 45℃의 각 온도 범위에서 24 시간 배양하여 나타나는 콜로니를 검토했다.

## 2. 결과 및 고찰

가. 콩 발효식품 중의 총 생균수 및 *B. cereus* 수

### 1) 시판장류

시판 중인 전통된장, 고추장, 청국장 및 메주를 수거하여 총균수 및 *B. cereus* 균수를 측정된 결과를 Table 3.9.1에 나타내었다. 발효식품 중에 서식하는 총균수를 검토한 결과 된장에서는  $10^8$  cfu/g, 청국장 및 고추장에서는  $10^7$  cfu/g을 나타내었으나 메주에서는  $10^5$  cfu/g으로 가장 적은 생균수를 나타내었다. 그러나 식중독을 유발하는 *B. cereus* 균수는 검토한 시료에 따라 약간의 차이는 있었지만 모든 식품에서  $10^1 \sim 10^3$  cfu/g 수준으로 검출되었으며 고추장, 된장 및 청국장보다 메주에서 약간 많은 균수가 검출되었다.

Table 3.9.1. Microbial population of total general bacteria and *B. cereus* in Meju, Doenjang, Gochujang and Chungkukjang

Traditional fermented food	Total viable bacteria ( $\times 10^7$ cfu/g)	<i>B. cereus</i> ( $\times 10^2$ cfu/g)
<i>Doenjang</i>	88.64±0.36	0.54±0.41
<i>Gochujang</i>	7.27±0.21	0.61±0.54
<i>Chungkukjang</i>	8.62±0.08	1.36±0.32
<i>Meju</i>	0.07±0.24	31.42±0.08

## 2) 계절별 된장

전통 콩 발효식품의 오염도를 검토할 목적으로 가정용 전통 된장을 4월, 8월 및 12월에 각각 수거하여 총균수 및 *B. cereus* 균수를 검토하여 Table 3.9.2에 나타내었다. 총균수는 계절에 관계없이  $10^7 \sim 10^8$  cfu/g의 범위를 나타내었으나 *B. cereus* 균수는 계절에 따라 약간 차이를 나타내어  $10^1 \sim 10^3$  cfu/g을 나타내었다. 이상의 결과로 총 균수 및 *B. cereus* 균수는 봄과 겨울보다는 기온이 높은 여름철인 8월에 수거한 시료에서 약간 높게 나타났다.

Table 3.9.2. Microbial population of total general bacteria and *B. cereus* in seasonal Doenjangs

Food	April		August		December	
	Total viable cell ( $\times 10^7$ cfu/g)	<i>B. cereus</i> ( $\times 10^2$ cfu/g)	Total viable cell ( $\times 10^7$ cfu/g)	<i>B. cereus</i> ( $\times 10^2$ cfu/g)	Total viable cell ( $\times 10^7$ cfu/g)	<i>B. cereus</i> ( $\times 10^2$ cfu/g)
Doen- jang	7.65 $\pm$ 0.32	1.50 $\pm$ 0.42	82.37 $\pm$ 0.17	25.36 $\pm$ 1.78	7.92 $\pm$ 0.04	0.67 $\pm$ 0.62

## 3) 발효과정 각 단계의 *B. cereus* 생균수

전통 콩 발효식품을 제조하는 각 재료 및 제조과정 중의 *B. cereus* 오염도를 검토하여 Table 3.9.3에 나타내었다. 시료로 수거한 원료 콩, 메주, 염수 메주 및 최종제품인 된장 중의 *B. cereus* 오염도를 검토한 결과 원료 콩에서 *B. cereus*의 오염도가  $10^4$  cfu/g를 나타내어 가장 높은 오염도를 나타내었으며 그 다음은 메주, 염수 및 된장의 순으로 나타났다.

Table 3.9.3. Microbial population of *B. cereus* in process of *Doenjangs*

Sample	<i>B. cereus</i> ( $\times 10^2$ cfu/g)
Raw soybean	472.68 $\pm$ 0.67
Meju	24.57 $\pm$ 0.48
Meju soaked in salt solution	12.63 $\pm$ 0.35
Doenjang	0.75 $\pm$ 0.32

나. *Bacillus cereus* 생육에 미치는 영향

1) Ethanol의 영향

전통발효식품인 된장 중에서 *B. cereus*의 생육을 억제시켜 제품의 저장기간을 연장할 목적으로 에탄올이 *B. cereus* 포자 발아 및 생육에 미치는 영향을 검토하여 Table 3.9.4에 나타내었다. 에탄올의 농도가 0%에서 20%농도까지 증가함에 따라 *B. cereus*의 생육 및 포자의 발아는 약간씩 억제되었지만 30% 이상의 농도에서는 급격하게 억제되는 것으로 나타났다. 그리고 *B. cereus*의 생육 및 포자 발아를 억제하는 ethanol의 농도는 거의 같은 농도인 것으로 나타났다.

2) NaCl의 영향

NaCl 농도가 *B. cereus*의 생육 및 포자발아에 미치는 영향을 검토하여 Table 3.9.5에 나타내었다. NaCl이 *B. cereus*의 생육에 미치는 영향의 검토는 LB 액체배지에 NaCl을 0 ~ 20% 농도 범위로 첨가하고 35°C, 24 hr 배양한 결과 NaCl의 농도가 증가함에 따라 약간의 생육저해는 일어났지만 15% 농도까지는 거의 비슷한 생육속도를 나타내었다. 그러나 20%의 NaCl농도에서는 약간의 생육저해를 받는 것으로 나타났다. 그리고 포자 발아를 검토한 결과

5%까지는 영향이 없었으나 20%의 농도에서는 약간 영향을 받는 것으로 나타났다.

Table 3.9.4. Growth and endospore germination of *B. cereus* by concentration of ethanol

Ethanol (%, v/v)	Growth of <i>B. cereus</i> (U.O.D., 660 nm)	Spore germination of <i>B. cereus</i> (cfu/g)
0	5.47	$5.67 \times 10^8$
10	5.02	$2.19 \times 10^7$
20	4.26	$2.01 \times 10^6$
30	1.51	$0.49 \times 10^2$
40	1.46	$0.45 \times 10^2$

Table 3.9.5. Growth and endospore germination of *B. cereus* by concentration of sodium chloride

NaCl (%, w/v)	Growth of <i>B. cereus</i> (U.O.D., 660 nm)	Spore germination of <i>B. cereus</i> (cfu/g)
0	5.09	$6.13 \times 10^8$
5	4.98	$2.99 \times 10^8$
10	4.85	$5.80 \times 10^7$
15	4.82	$1.73 \times 10^7$
20	3.56	$4.41 \times 10^6$

### 3) 청국장 점질물의 영향

청국장 점질물이 *B. cereus*의 생육 및 포자발아에 미치는 영향을 검토하여 Table 3.9.6에 나타내었다. 제조한 청국장의 점질물이 *B. cereus* 생육에 미치는 영향은 1% 첨가에서는 거의 영향을 받지 않았으나 첨가 농도가 증가할수록 생육의 영향은 뚜렷하게 나타나 3% 첨가 시험구에서는 U.O.D. 값이 1.38로 대조구의 약 30%를 나타내었다. 그리고 포자의 발아율을 검토한 결과 청국장 점질물의 2% 첨가까지는 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났으나 3% 시험구에서는 크게 영향을 받아 대조구에 비하여 약 50% 정도가 발아하지 않은 것으로 나타났다.

Table 3.9.6. Growth and endospore germination of *B. cereus* by concentration of viscous substance extracted by *Chungkukjang*

<i>Chungkukjang</i> polymer (%, w/v)	Growth of <i>B. cereus</i> (U.O.D., 660 nm)	Spore germination of <i>B. cereus</i> (cfu/g)
0	5.18	$5.63 \times 10^8$
1	4.83	$2.59 \times 10^8$
2	2.62	$7.96 \times 10^7$
3	1.38	$3.61 \times 10^4$

### 다. 온도가 포자발아에 미치는 영향

온도가 *B. cereus* 포자 발아에 미치는 영향을 검토하여 Table 3.9.7에 나타내었다. 무균적으로 수거한 *B. cereus* 포자를 NGKG한천평판 배지에 도말한 후 5, 15, 25, 35 및 45°C에서 24시간 배양한 결과 5°C 및 45°C의 온도에서는  $10^1 \sim 10^2$  cfu의 콜로니만 나타났으나 25°C 및 35°C에서는  $10^7$  cfu의 많은 콜로니 수를 나타내었다. 이상의 결과로 15°C이하 및 45°C 이상의 온도에서는 *B.*



*cereus* 포자발아율이 낮은 것으로 판단되었다.

Table 3.9.7. Effect of endospore germination of *B. cereus* at different temperature

Temperature(°C)	Spore germination of <i>B. cereus</i> (cfu/g)
5	$3.13 \times 10^1$
15	$6.18 \times 10^3$
25	$5.39 \times 10^7$
35	$8.13 \times 10^7$
45	$5.63 \times 10^2$

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

연구목표	연구개발목표의 달성도	관련분야의 기술발전에의 기여도
고품질 '스타트케이크' 및 수출용 '대두 발효식품'의 「소형 생산시스템」 개발	고품질 '스타트 케이크' 생산을 위한 「고정화 성형기」 개발 및 "발효용기"의 개발 및 「회전·음향진동공법」의 최적조건 설정을 통한 「대두발효식품」의 연중 생산을 위한 성형기 제조공정의 최적화를 이룸	국내 소규모 전통장류 공장의 대두발효스타트 및 그 관련제품 생산공정에서 미니형 대두스타트 케이크 성형기와 회전·음향공법을 이용한 제반 발효조건을 활용하여 위생적 품질성 제고와 인건비 절감 등에 기여
소형 생산공정 단계별 대두 발효식품의 '품질특성' 평가	스타트 케이크의 품질특성과 최적 발효공정, 발효·숙성 단계중의 전통장류 및 연중 생산된 대두발효식품 품질특성 조사 및 평가 실시함	전통장류 공장의 대두발효스타트 및 그 관련제품 생산공정에서 품질특성의 제고에 대한 과학적 효과를 검증할 근거를 제공함
기능성 농산물과 발효균에 의한 「세레우스 저감화」 방안	기능성 농산물, 유산균 및 포자발아율 증진법을 이용한 <i>B. cereus</i> 저감화 방안을 모색하였음	전통장류 제조공정에서 세레우스 오염도의 저감화를 통하여 식중독 세균으로서 우려를 해소하는 대책으로 기여함

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 제 1 절 연구개발 효과

- 영세한 규모의 국내 전통 대두발효식품의 소규모의 산업화 계기
- 신세대 및 외국인의 기호도에 만족하는 고품질 제품 개발을 통하여 소비자 신뢰도 증가
- 소규모 생산방식을 부분적으로 표준화하므로 전체공정의 품질규격화 가능
- 해외 주요시장에서 우리 대두발효식품 이미지 구축 및 시장점유율 증진
- 주변환경으로부터 제조공정에서 세레우스 오염 및 저감화 대책을 찾아 식품 안전성 제고에 효과
- 겨울철 집중생산을 탈피하여 수출에 적합한 년중 생산을 통한 좋은 품질의 제품 적기 납품가능
- 우리 대두발효식품의 고품질화로 프리미엄급 제품으로 성장 가능
- 우리 '대두발효식품'의 국제 위생기준에 적합하여 전통발효식품 경쟁력 제고
- 제조공정의 표준화 및 부분적 기계화로 경비절감 및 원가 경쟁력이 제고
- 농촌 노동력 일감갓기와 고품질 '대두발효식품'에 의한 고부가가치 창출
- 해외 주요시장에서 우리 '대두발효식품' 이미지 구축 및 시장점유율 증진

### 제 2 절 연구개발 활용계획

- 농가 보급형으로 고품질 대두스타트케이크 및 관련 발효기술 공법을 지리산 권역 전통장류 공장(전통장류 전문제조회사 효자식품, 순천만전통된장 등을 포함한 4곳) 중소 전통장류 제조업체에 기술이전을 협의중임.
- 최근 웰빙문화의 급속한 확산으로 고품질 전통된장 활용한 간편식품에

응용할 수 있음. 청소년이나 신세대 젊은 층을 대상으로 전통장류 기호에 거부감이 있는 소비자들에게 필요한 대두소스류 제품 개발에 유용함.

- 전통발효식품과 관련된 기술 전문인들의 학문발전과 전문 전문 기술인력 양성에 활용.
- 누룩이나 다른 발효스타트 케이크 자원이나 유기농 유용자원을 활용한 고품질 전통발효식품을 개발하는데 기본기술로 활용 가능.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- ① 전통장류 제조에 활용 가능한 고효성 효모와 저산도 유산균 등에 대한 다수의 문헌을 입수하여 본 연구수행에 참고가 되었음.
- ② 자연 전통장류 발효의 우점종 균주 및 세레우스 제어에 대한 문헌정보를 수집하므로 수출형 고품질 대두발효식품의 제조를 위한 성형기 개발에서 참고할 내용들을 확보하였음.

## 제 7 장 참고문헌

- 청국장외 신비. 신광출판사. (1995)
- 동서양 발효식품의 총서. LG산학과제보고서. (1997).
- 재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구. 3. 수용성 갈변물질의 항산화력. 한국영양식량학회지, **23**, 604(1994)
- 대두발효식품의 갈변과 관련된 티로신산화 세균에 관한 연구. 한국식품과학회지, **18**, 376(1986)
- *Aspergillus oryzae*를 이용한 대두발효식품의 색상개량에 관한 연구. 산업미생물학회지, **11**, 67(1983)
- 전통식품의 위생규격 설정을 위한 연구. 한국식품위생연구원 보고서(1998)
- 재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구 1. 메주 발효 및 된장 숙성중의 지질산화와 갈변. 한국영양식량학회지, **20**, 148(1991)
- Studies on discoloration of fish products. V. Mechanism of rusting in amino acid - reducing sugar-lipid system. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **34**, 857(1968)

- Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruits by high performance liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.*, **36**, 561(1985)
- A simplified method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
- 된장koji 및 그 혼합에 따른 된장 숙성과정중의 화학성분 변화. 한국농화학회지, **35**, 351(1992)
- 제조원료를 달리한 된장의 숙성중 당과 지방산 조성의 변화. 한국영양식량학회지, **14**, 917(1995)
- 재래 및 개량메주와 납두의 배합이 된장 발효에 미치는 영향. 한국농화학회지, **35**, 286(1992)
- *Bacillus licheniformis*와 *Saccharomyces rouxii* 첨가에 의한 된장의 풍미향상. 한국식품과학회지, **17**, 8(1985)
- 미생물 급원을 달리한 숙성 된장의 질소성분과 아미노산 조성. 한국식품과학회지, **26**, 609(1994)
- 메주균을 달리한 숙성된장의 유리아미노산, 유리당 및 유기산 조성의 비교. 한국농화학회지, **30**, 345(1987)
- 된장 숙성중 정미성분의 변화에 관한 연구 (I) -유리 아미노산과 핵산 관련 물질- 한국조리과학회지, **6**, 1(1990)
- 된장 숙성중 정미성분의 변화에 관한 연구 (II) -유리당과 휘발성, 비휘발성 유기산- 한국조리과학회지, **9**, 257(1993)
- 된장 숙성중 지질의 변화 및 카르보닐 화합물의 함량 변화. **10**, 51(1994)
- Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of chungkukjang. *J. Food Composition and Analysis*, **20**, 113-118, 2007
- Anticancer and Antimutagenic Activities after Simulated Digestion of Ethanol Extracts from White, Red and Yellow onions, *J Food Sci Nutr.*

- 11, 278-284, 2006
- 국산 한약재 추출물을 이용한 전통 콩된장의 생리활성, 한국식품저장유통학회지 13(2), 241-245, 2006
  - 국산 한약재 추출물을 이용한 전통 콩된장의 맛 성분 및 미생물 특성, 생명과학회지 16(1) 141-147, 2006
  - 버섯균사체 및 청국균 발효대두의 항산화능과 암세포 증식억제능, 한국식품영양과학회 식품산업과 영양 9(3) 34-39, 2004
  - 원료콩의 증자조건을 달리한 검정콩 간장의 유리당 유기산 및 지방산의 변화, 한국식품저장유통학회지 10(3) 333-338, 2003
  - 원료콩의 증자조건을 달리한 검정콩 간장의 질소화합물 및 유리아미노산, 한국식품저장유통학회지 10(1) 75-79, 2003
  - *Aspergillus oryzae*를 이용한 캡슐형 메주의 품질특성, 한국식품저장유통학회지 10(3) 339-346, 2003
  - 원료콩의 증자조건을 달리한 검정콩 간장의 질소화합물 및 유리아미노산, 한국식품저장유통학회지 10(1) 75-79, 2003
  - *Rhizopus oligosporus*를 이용한 캡슐형 메주의 제조 및 품질특성, 한국식품저장유통학회지 9(3) 315-320, 2002
  - 전통메주에 증식하는 붉은 곰팡이의 특성, 한국식품저장유통학회지 8(2) 199-205, 2001
  - 유해균을 차단하는 “캡슐메주” 표면의 품질특성, 한국농산물저장유통학회지 2001
  - 시판 전통식 된장의 품질평가, 한국식품영양과학회지 29(2) 211-217, 2000
  - 가정에서 제조된 전통된장의 품질특성, 한국조리과학회지 16(2) 23-29, 2000