J. Fd Hyg. Safety 21(4), 218–222 (2006)

깻잎 바이오 된장의 미생물 및 관능평가

김창렬†
서강정보대학 식품영양학과

Microbiological and Sensory Evaluations on Sesame Leaf of Bio Soybean Paste

Chang-Ryoul Kim†
Department of Food Science and Nutrition, Seo Kang College, 789-1, Woonam-dong, Buk-ku, Kwangju, 500-742, Korea
(Received November 6, 2006/ Accepted December 18, 2006)

ABSTRACT – Microbiological and sensory evaluations of bio soybean paste prepared by sesame leaf and immobilized cells of *Bifidobacterium animalis* DY 64 were assessed. Bio soybean paste treated with 3.0-5.0% (w/w) of sesame leaf combined with 10% (w/w) immobilized cells increased a consumer acceptance due to enhancing odor and flavor. Aerobic microorganisms in bio soybean paste were significantly ($P < 0.05$) increased during 15 days of storage and then decreased slightly ($P < 0.05$) after 30 days of storage at room temperature. Food pathogens of *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were not detected in bio soybean paste during storage. It is concluded that preparation of bio soybean paste using sesame leaf, and immobilized cells of *Bifidobacterium animalis* DY 64 could be used to industrial application for enhancing consumer acceptance.

Key words: bio soybean paste, immobilized cells, sesame leaf, sensory evaluation, *Bifidobacterium animalis*

서 론

최근 국내와 해외소비자는 건강기능성식품 (health functional food)으로서 발효식품에 대한 많은 관심을 나타내고 있으며, 이들 제품에 대한 수요 증가와 더불어 식품관련 업체의 기능성 식품개발에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다.1-8) 한국 전통발효식품으로서 된장은 매년 지속적으로 그 수요가 증가하고 있으며, 된장 등 장류산업은 미국, 일본 및 중국 등 해외에서의 성장세가 급증하고 있다.8) 우리나라 전통 발효식품으로서 재래된장은 항암효과, 콜레스테롤저하, 정장작용 및 항산화효과 등 그 영양학적 측면에서 많은 이점을 갖추고 있으나, 독특한 풍미생성에 의하여 국내 신세대 소비자와 해외 소비자의 식감 (palatability)을 개선하기 위한 관능적 품질향상에 대한 연구가 요구되고 있다.[4-7,9-15] 현재, 고품질 된장에 대한 국내 소비자의 요구와 함께 수입산 저가의 장류 산업과 차별화를 위한 건강기능성 된장의 개발이 절실한 시점에 있으며, 깻잎 및 인체유용세균으로 *Bifidobacterium animalis* DY 64 등 기능성 물질을 이용한 된장의 개발은 기능성뿐만 아니라 외관, 냄새 및 풍미 등에 대한 관능적 품질 향상을 가능하게 할 수 있을 것이다.[8] 또한 바이오 기능성 물질로서 인체의 유용세균인 *Bifidobacterium animalis* DY 64의 유산균을 알긴산 담체(support)에 포괄법(entrapping method)으로 고정화(immobilization)하여 된장제조에 사용하므로 서 그 상품적 가치를 크게 향상할 수 있을 것이다. 해조류 중 갈조류에 속하는 미역과 다시마 등의 추출물인 알긴산(alginic acid)은 식품안정제 등으로 식품산업에 광범위하게 활용할 수 있을 것이다.16) 조미성분으로서 깻잎, 감초, 멸치, 다시마, 황태, 표고버섯, 소금, 양파, 설탕 및 마늘을 사용하여 알긴산에 고정화한 유산균이 함유된 바이오된장을 제조하므로 서 소비자의 건강기능성 및 기호적 품질향상에 크게 기여할 수 있을 것이다.

본 연구는 깻잎과 고정화 유산균(*Bifidobacterium animalis* DY 64)을 이용한 바이오 된장(bio soybean paste)을 제조하고 미생물학적 저장 안정성뿐만 아니라 냄새, 외관 및 풍미에 대한 관능평가에 의해 고품질 기능성 된장을 개발 하는데 있다.

†Author to whom correspondence should be addressed.
Chang-Ryoul Kim, Dept. of Food Science and Nutrition, SeoKang College, Kwangju 500-742, Korea. Tel: 82-62-520-5206, Fax: 82-62-520-5206, E-mail : changkim@skc.ac.kr

재료 및 방법

재료의 구입

본 실험에 사용한 된장은 (주)고려전통식품(담양, 전라남도)에서 제조한 1kg 중량의 재래된장을 구입하여 사용하였다. 각 1kg의 알긴산나트륨((주)한국카라겐), 각 0.1-1kg의 국산 깻잎, 감초, 멸치, 다시마, 황태, 표고버섯, 소금, 양파, 설탕 및 마늘은 근교의 유통업체에서 구입 후 각 기능성 된장제조에 사용하였다. 바이오 기능성 물질에 사용한 인체유용 유산균으로서 *Bifidobacterium animalis* DY 64 균주는 전남대학교 식품영양과 실험실에서 분양하여 사용하였다.

균주의 배양 및 세척

Bifidobacterium animalis DY 64 균주의 배양은 0.05% (w/v) cysteine hydrochloride를 첨가한 50 ml의 MRS broth(Difco, U.S.A.)에서 37°C, 24시간 3회 계대배양 후 균의 역가를 증진하였다. 각 2.5%(v/v)의 종균을 0.05% cysteine hydrochloride를 첨가한 1 L의 MRS broth(Difco, U.S.A.)에 37°C, 24시간 배양 후, 10,000 rpm에서 15분 원심분리(CENTRIKON, U.S.A.)한 다음 얻어진 균체를 회수한 다음 멸균 생리식염수로 3회 세척하였으며, 3시간 이내 실험에 사용 전까지 냉장보관하였다.

바이오 물질의 제조

바이오 물질용 bead의 제조는 최적 조건에서 배양 한 다음 수집한 *Bifidobacterium animalis* DY 64의 생세포 (3.3×10^{10} CFU/g)를 알긴산을 담체(support)로 사용하여 포괄법(entrapping method)에 의해 고정화(immobilization)하고 산업적 실용화가 용이한 bead 형을 선발하여 사용하였다.8) 즉, 100ml의 멸균수에 1.5% (w/v) 알긴산을 첨가하고 200°C에서 500 r.p.m.으로 교반한 다음 30분 동안 용해 후 50°C로 냉각하였다. 그 후 각 0-10%의 기능성 물질과 유산균 균질액을 첨가하여 5분 동안 서서히 균질하였다. 각 500ml의 0.2M $CaCl_2$ 용액이 함유된 비이커를 50°C의 교반기위에서 600r.p.m.으로 교반하면서 페리스탈펌프를 이용하여 2-3mm의 bead를 제조하였다. 그 후 멸균한 수돗물로 2회 bead를 세척한 다음 위생화한 스테인레스 그물망 위에서 30분 동안 유지 후 실험에 사용하였다.

조미액 제조

각 재료의 함량은 물 2 L에 30 g 감초, 15 g 멸치, 30 g 다시마, 40 g 황태, 100 g 표고버섯, 5 g 소금, 100 g 양파, 50 g 설탕 및 30 g 마늘을 사용하였다. 각 재료는 탈피 후 수세한 다음 균질기(신일, SMX- 1200 MEK)를 이용하여 5분 균질하여 사용하였다. 그 후 균질한 재료는 스테인레스 용기에 넣고 200oC 온도에서 증발한 수분을 보충하면서 30분 끓인 다음 최종 1 L의 조미액을 제조하였다.

바이오 된장의 제조

각 기능성 된장의 제조 방법은 된장용 조미액의 제조 후 (주)고려전통 재래된장과 각 조미액을 1 : 1 비율로 재구성하였다. 그 후 5분 동안 균질하여 각 1 kg의 바이오 된장용 시료를 제조하였다. 그 후 각 된장용 시료에 바이오 물질을 10% 농도로 첨가 후 깻잎유산균(*Bifidobacterium animalis* DY 64) 바이오 된장을 제조 하였다. 깻잎 된장의 제조는 각 깻잎 (g)을 흐르는 물에서 5회 수세 후 위생화한 스테인레스 그물망위에서 5분 유지하였다. 각 150 g의 바이오된장에 0-7.0% (w/w)의 깻잎 균질 액을 첨가하여 2분 동안 균질한 다음 풍미생성물질로 사용하였다.

미생물학적 분석

호기성 부패균수의 측정은 표준평판배지(Standard plate count agar, Difco, U.S.A.)에서 37°C, 48시간 배양후 형성된 균락을 0.1% (w/v) peptone water로 희석하여 세균수를 Log_{10} CFU/ml로 환산하여 표시하였다. 각 병원성세균의 분석은 *Staphylococcus aureus.*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* HACCP 분석용 kit를 이용한 스탬프법(Easy Stamp™, (주)코메드)으로 된장의 미생물 수준을 평가하였다. 그 후 각 배지에서 37°C, 24시간 배양 후 형성된 집락을 CFU/㎠로 표시하였다. Bead에 존재하는 비피더스 유산균은 EDTA-phosphate 용액에 30분 동안 유지 후 bead를 용해한 다음 평판배양법으로 생균수를 측정하였다. *Bifidobacterium animalis* DY 64에 대한 생균수 측정용 배지는 BS배지를 사용하였으며 배지조성은 다음과 같다. BS 배지제조를 위하여 58 g BS culture medium, 15 g sodium propionate, 50 g paramomycin sulfate, 200 mg neomycin sulfate 및 3 g lithium chloride를 1 L의 증류수에 용해하고 121°C에서 15분 멸균하여 사용하였다. 미생물을 BS 배지에 도말 후 혐기배양기인 Gas pak anaerobic jar(Vented #4360627, BBL, U.S.A.)에 넣고 37°C에서 3일 배양한 다음 형성된 집락을 Log_{10} CFU/ml로 환산하여 표시하였다.

염도와 당도 분석

된장의 염도 분석은 염도계(SS-31A, SEKISUI, Japan) 그리고 당도 분석은 당도계(ATAGO, Brix 0.0-32.0%, Japan)에 의해 실시하였다.

관능평가

관능평가는 외관, 냄새 및 풍미에 대하여 9점등급제(9 point hedonic scale)로 평가하였다. 대조구의 점수를 5점으로 하고 처리구가 대조구보다 더 좋은 경우는 9점, 그리고 처리구가 대조구보다 더 싫은 경우는 1~4점, 가장 싫은 경우는 1점으로 등급하여 판정하였다.

통계

각 자료의 통계처리는 SAS program을 이용하여 ANOVA로 분석하고 5% 이하의 유의수준에서 평균값을 LSD로 분리하여 분석하였다.[17]

결과 및 고찰

염도와 당도의 분석

각 기능성 물질과 농도별(%) 깻잎 및 바이오물질의 첨가수준에 따른 바이오 된장의 염도와 당도를 분석하였다(Table 1). 각 바이오 물질은 10% 유산균(*Bifidobacterium animalis* DY 64)을 알긴산 용액에 포괄법으로 고정화한 직경 2-3 mm의 bead를 10% 농도로 첨가하여 기능성 바이오 된장에 사용하였다. 30일 상온에서 저장 동안 염도는 9.5-10% 의 농도를 나타내었다. 일반적으로 당도와 염도는 깻잎의 첨가수준과 차이가 없었다.

미생물의 분석

Table 1. Salt and sugar contents (oBrix)* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL) during storage of 30 days

Treatments	Salt contents (%)	Sugar contents (°Brix)
Control	10^{a}	10^{a}
3.0% SL	10^{a}	10^{a}
5.0% SL	9.5^{a}	10^{a}
7.0% SL	9.5^{a}	9.5^{a}

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

각 기능성 물질과 농도별 (%) 깻잎 및 고정화 바이오물질(*Bifidobacterium animalis* DY 64)의 첨가수준에 따른 바이오 된장의 저장 동안 병원성 미생물을 분석하였다(Table 2).

본 실험에 사용된 바이오 깻잎 된장은 실온에서 저장 30일 동안 *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 균에 대해 음성반응을 나타내었다. 본 연구결과 0-7.0% 농도별 기능성 된장 및 기능성 바이오 깻잎 된장은 상온 저장 동안 병원성 미생물에 대한 저장 안정성을 나타내었다. 바이오 된장은 상온 저장 동안 산업적 실용화를 위한 미생물학적 위해 발생의 가능성을 사전에 제어 할 수 있을 것으로 검토되었다.

각 기능성 물질과 농도별(%) 깻잎 및 바이오물질의 첨가수준에 따른 기능성 바이오 된장의 상온 저장 동안 호기성 미생물수(aerobic plate counts, APC)를 분석하였다(Table 3). 본 연구결과 호기성 미생물은 상온 저장 15일 동안 급속한 증식을 나타내었으며 초기 급속한 증가를 보이다가 저장 30일 후 점차 증식속도가 둔화되고 있음을 보였다.

본 연구 결과 각 각 형성된 집락은 균일한 모양을 형성하였으며 잡균의 오염이 없고 콩 메주 속의 *Bacillus*균 등에 의해 숙성이 진행되어 생성된 유리아미노산에 의하여 맛을 생성하는 것으로 사료되었다.[12,13] 한국 전통된장의 숙성 중 관능적 품질에 미치는 성분의 변화에 대한 연구에서 숙성과정 동안 유리아미노산의 비율이 높게 증가하였고, 주요 지미성분은 glutamic acid 으로 보고하였다.[11] 본 연구에서 유산균 고정화용 담체(support)로 사용한 알긴산은 해조류 중 수용성 섬유질, 칼슘 및 요오드가 풍부한 미역, 다시마의 갈조류(brown algae)에서 추출하여 식용 안정제 등으로 사용하고 있으며 혈중 콜레스테롤 저하 등 인체 유용물질로서 식품가공 산업에 널리 활용되고 있다.[17]

관능평가

상온에서 유지한 기능성 바이오 깻잎된장의 냄새에 대한 관능평가를 9점 등급제(9 point hedonic scale)에 의해 실시한 결과 7% 보다는 3-5% 농도의 구기자된장에서 깻잎 특유의 상큼한 냄새를 나타내었으며 가장 높게 등급 되었다

Table 2. Food pathogene* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL)

Treatments \ Storage time (days)	*Salmonella* spp.			*S. aureus*			*E. coli*		
	0	15	30	0	15	30	0	15	30
Control	ND[1)]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3.0% SL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5.0% SL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7.0% SL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$). 1)ND = not detected.

Table 3. Aerobic plate counts (APC)* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL)

Treatments \ Storage time (days)	Log CFU/g		
	0	15	30
Control	5.32[a]	8.33[a]	9.53[a]
3.0% SL	5.21[a]	8.25[a]	9.33[a]
5.0% SL	5.26[a]	8.17[a]	9.51[a]
7.0% SL	5.16[a]	8.34[a]	9.26[a]

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4. Odor values* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL)

Treatments \ Storage time (days)	Odor values			
	0	5	15	30
Control	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]
3.0% SL	7.75[b]	7.75[b]	7.50[b]	7.50[b]
5.0% SL	7.50[b]	7.50[b]	7.50[b]	7.50[b]
7.0% SL	7.00[c]	7.00[c]	7.00[c]	7.00[c]

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Table 5. Appearance values* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL)

Treatments \ Storage time (days)	Appearance values			
	0	5	15	30
Control	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]
3.0% SL	7.00[b]	7.00[b]	7.50[b]	7.50[b]
5.0% SL	7.50[b]	7.50[b]	7.00[b]	7.00[b]
7.0% SL	7.00[b]	7.00[b]	7.00[b]	7.00[b]

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Table 6. Flavor values* in soybean paste treated with different levels of a sesame leaf (SL)

Treatments \ Storage time (days)	Flavor values			
	0	5	15	30
Control	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]	5.00[a]
3.0% SL	8.00[b]	8.00[b]	7.75[b]	7.50[b]
5.0% SL	8.00[b]	7.75[b]	7.50[b]	7.50[b]
7.0% SL	7.00[c]	7.00[c]	6.75[c]	6.75[c]

*Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

(Table 4). 관능평가 요원들은 7% 이상의 고농도의 깻잎 처리구는 강한 풀잎 냄새를 생성하여 더 낮게 등급 한 것으로 기록하였다. 깻잎 기능성 바이오 된장의 저장 동안 외관에 대한 관능평가를 실시한 결과는 깻잎 처리직후 처리군은 30일 저장 동안 대조구보다 유의적으로 높게 등급 되었다 (Table 5). 관능평가 요원들은 깻잎 자체의 특유한 색택으로 약간 파란 색조를 나타내었으며 외관상 신선미를 느낄 수 있었다고 기록하였다.

깻잎 바이오 된장의 풍미에 대한 관능평가를 실시한 결과는 3-5% 깻잎 처리군은 깻잎 특유의 풍미생성으로 높게 등급 되었으나, 7% 이상의 고농도 깻잎 처리군은 강한 풍미의 형성으로 오히려 기호성의 저하를 야기한 것으로 검토되었다(Table 6). 관능평가 요원들은 깻잎 기능성 바이오 된장은 발효시간이 경과함에 따라 초기 향을 느낄 수 있었고 3-5% 처리 군에서 풍미가 더 좋은 것으로 기록하였다. 된장의 맛을 내는 물질은 아미노산성 질소로서 한국 전통된장제조와 숙성과정 중에 콩 단백질이 효소작용으로 가수분해 되어 맛을 내는 아미노산을 생성하며, 아미노산성 질소 함량은 된장, 메주 및 콩의 순서로 많았다고 하였다.[11] 또한 아미노산 총량은 된장의 숙성기간에 따라 현저한 차이는 없었으나, 유리아미노산 총량은 숙성기간이 6개월 경과하였을 때에는 별다른 차이를 보이지 않았고 12개월 경과함에 따라 현저한 감소를 보였다고 하였다. 본 실험에 사용한 바이오 깻잎된장 제조에 대한 연구에서 5.0-7.0%까지 깻잎 함량이 높아질수록 첨가군에서 50% 이상의 항 산화력을 나타내었다고 보고하였다.[8] 그리고 복분자 된장은 복분자 생과 분말의 첨가량이 높아질 수록 항산화 활성이 높아져 7.0% 첨가군 에서는 60% 이상의 활성도를 보였으며, 다른 기능성 성분첨가군 보다 가장 높은 활성을 나타내었다고 하였다.

감사의 글

본 연구는 2003년 농림부 연구비지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구의 결과 각 깻잎 유산균(*Bifidobacterium animalis* DY 64) 바이오 된장은 실온에서 저장 30일 동안 *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia. coli* 균에 대해 음성반응을 나타내었다. 호기성 미생물의 집락은 균일한 모양을 형성하였으며 잡균의 오염이 없고 콩 메주 속의 *Bacillus* spp.에 의해 숙성이 진행된 것으로 사료되었다. 또한 상온에 유지한 기능성 된장의 외관과 냄새에 대한 관능적 평가에서도 초기 제조 직후의 외관과 냄새를 유지하므로 서 품질열화에 영향을 나타내지 않았다. 깻잎 기능성 바이오 된장의 풍미에 대한 관능평가 결과는 3-5% 깻잎 처리군은 깻잎 특유의 풍미생성으로 높게 등급 되었으며, 파란 색조는 외관상 신선미를 느낄 수 있었다고 기록하였다. 깻잎은 특유의 독특한 향미 생성으로 저 농도의 수준에서 냄새와 풍미에 대해 높게 등급 되었다. 본 연구의 결과 고정화 유산균(*Bifidobacterium animalis* DY 64) 등을 이용하여 제조한 유자와 깻잎 바이오 된장은 상온 저장 동안 미생물학적 저장 안정성과 냄새, 외관 및 풍미에 대한 기호성 향상을 가능하게 하였다. 이전 연구에서 본 바이오 유자된장 및 깻잎 된장은 항산화효과 및 고혈압억제 효과가 있음을 규명하였으며[8], 전통 발효식품인 재래된장의 기능적 품질향상 뿐만 아니라 관능적 품질에 대한 기호성 향상으로 내수 촉진을 가능하게 할 수 있을 것으로 검토되었다.

참고문헌

1. 최동원: 전통된장의 품질개선에 관한 연구, 한국식품영양학회지. **16(3)**, 218-223 (2003).
2. 한명규: 기능성 성분을 가진 식품의 인체 건강 유용성에 대한 연구, 한국식품영양학회지, **16(3)**, 224-231 (2003).
3. 문갑순, 최홍식: 양조간장으로부터 항산화성 물질의 분리 및 특성, 한국식품과학회지, **22(4)**, 461-465 (1990).
4. 서형주, 서대방, 정수현, 황종현, 성하진, 양한철: 된장으로부터 ACE활성 저해물질의 정제, 한국농화학회지, **37(6)**, 441-446 (1994).
5. 이종수, 이성훈, 권수진, 안철, 유진영, 재래식 메주에서 분리한 효모들의 각종 효소활성과 기능성. 한국산업미생물학회지, **25(5)**, 448-453 (1997).
6. 정복미, 동결건조 미역 된장 블록의 제조 및 이화학적 특성, 한국조리과학회지, **19(3)**, 318-323 (2003).
7. 음병옥. 곽보현, 김순영, 손동화, 이계호, *Bacillus subtilis* koji와 Rhizopus oryzae koji를 이용한 된장 및 간장의 키토올리고당 함량의 증대, 한국식품과학회지, **35(2)**, 291-296 (2003).
8. 전덕영, 고대희: 고품질 기능성 된장 퓨전식품 제조기술의 개발, 농림부 보고서, pp. 1-106 (2006).
9. 목철균, 송기태, 이주연, 박영서, 임상빈: 저염 된장 숙성 중 미생물과 효소활성의 변화, 산업식품공학, **9(2)**, 112-117 (2005).
10. 권선화, 손미예: 된장 숙성기간 중의 항산화 및 암세포 생육억제 효과, 한국식품저장유통학회지, **11(4)**, 461-467 (2004).
11. 김종규: 한국 전통 된장의 숙성중 관능적 품질에 미치는 성분의 변화; - 아미노산성 질소, 아미노산 및 색도를 중심으로 -, 한국식품위생 안전성학회지, **19(1)**, 31-37 (2004).
12. 김종규, 노우섭: 한국산 전통간장과 된장의 숙성 중 aflatoxin의 변화와 그 특징; - 제 1보. 한국식품위생안정성학회지, **13(3)**, 313-317 (1988).
13. Lee, S.K., Bae, D.H., Kwon, T.J., Lee, S.B., Lee, H.H., Park, J.H., Heo, S, and Johnson, M.G.: Purification and chatacterization of a fibrinolytic enzyme from *Bacillus* spp. KDO-13 isolated from soybean paste, *J. Microbiol. Biotechnol*., **11(5)**, 845-842 (2001).
14. Kim, S.H., Lee, Y.J., and Kwon, D.Y.: Isolation of angiotensin converting enzyme inhibitor from Doenjang, *Korean J. Food Sci. Technol*., 31**(3)**, 848-854 (1999).
15. Kim, S.H. and Lee, K.A.: Evaluation of taste compounds in water-soluble extract of Doenjang (soybean paste), *J. Food. Chem*., **83(3)**, 339-342 (2003).
16. s한국대학 식품영양관련 학과 교수협의회: 해조류; - 일반성분 및 특수 성분 -, 식품학, **제2판**, pp. 291-295 (2003).
17. SAS: SAS User's Guide, Stastics. SAS Institute Inc., Cary, N. C. (1996).