

Quality characteristics of *Doenjang* depending on various salt concentration during long-term fermentation period

Bo-Young Choi, Na-Young Gil, Shin-Young Park, So-Young Kim*
Fermented Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

다양한 염도에서 제조한 된장의 장기 숙성 시 품질변화

최보영 · 길나영 · 박신영 · 김소영*

국립농업과학원 발효식품과

Abstract

This study presented the change of quality characteristics of *Doenjang* with various salt concentrations (4, 8, 15, and 20%) during 12 months. The pHs of *Doenjang* during fermentation were gradually increased for 12 months, whereas the pHs of *Doenjang* with 4 and 8% salt increased rapidly. Titratable acidity of *Doenjang* with 4 and 8% salt was high at initial time, while *Doenjang* with 15 and 20% salt was high at the 9 and 12 months. The amino-type nitrogen content of *Doenjang* with 4 and 8% salt was increased and α -amylase activity of all *Doenjang* was decreased during whole fermentation period. The protease activity of *Doenjang* with 4 and 8% salt was higher than *Doenjang* with 15 and 20% salt until 7 months. Total aerobic bacteria number 8.0~9.1 log CFU/g for 12 months, which was steady during fermentation period. *Doenjang* with 8% salt showed the highest score in umami taste whereas the lowest score in bitterness, astringency, and sourness tastes between 5 and 12 months. In conclusion, *Doenjang* with 8% salt was a suitable concentration for low-salt fermented foods.

Key words : *Doenjang*, fermentation, salt

서 론

된장은 대두를 주원료로 한 한국 고유의 발효식품으로, 저장성이 뛰어나고 그 특유의 맛과 향을 지니고 있어 한국 식문화에서 중요한 위치를 차지해 왔을 뿐만 아니라, 곡류와 채식위주의 한국 식생활에서 주요 단백질 급원으로써 오랜 기간 동안 섭취해 온 전통 식품이다(1). 한국의 된장은 제조방법을 기준으로 재래식 된장과 개량식 된장으로 크게 나눌 수 있다(2). 개량식 된장의 제조 공정은 사용균주, 원료의 구성 등에 있어 콩만을 원료로 하여 간장을 분리하여 얻는 재래식 된장과 다른 점이 많으며 그에 따라 제품의 맛과 각종 특성에서 차이를 나타내고 있다(2).

또한, 된장은 항돌연변이(3), 항암(4), 혈전 용해능(5), 면역증진(6), 혈압강하(7), 고지혈증과 당뇨 개선(8), 아질산염 소거능 및 항산화능(9) 등 여러 기능성이 있다고 알려져 있다.

그러나, 이러한 된장의 다양한 기능성에도 불구하고, 부패를 억제하기 위한 목적으로 과도하게 사용된 식염으로 인한 소금의 과다섭취는 고혈압, 뇌졸중, 위암, 신장병, 간경병증, 만성신부전증 등 생활습관병을 유발한다는 우려의 목소리도 있다(10). 보통, 개량식 된장의 경우 약 12% 이하의 소금을 첨가하여 제조하지만, 재래식 된장의 경우 보존제가 첨가되지 않기 때문에 일반적으로 15~20%의 고염으로 제조된다(11). 따라서, 건강을 염려하여 짠 음식을 외면하는 소비자 인식을 제고하고 된장의 기호성 향상 및 질병 예방을 위해 된장의 식염 함량을 낮출 필요가 있다(11). 최근 식품의약품안전처와 국민건강영양조사 보고서에 따르면, 한국 국민의 하루 평균 나트륨 섭취량은 2010년 4,831 mg에서 2014년 3,890 mg으로 941 mg(19.5%) 줄었다(12). 그러나 아직은 세계보건기구(WHO)가 정한 2,000 mg

*Corresponding author. E-mail : foodksy@korea.kr
Phone : 82-63-238-3623, Fax : 82-63-238-3843
Received 20 September 2016; Revised 11 November 2016;
Accepted 15 November 2016.
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

이하의 권장섭취량에는 미치지 못하는 실정인 것을 감안하여 당국에서는 앞으로 계속적으로 나트륨 섭취량을 낮추도록 적극적인 실천 방안 등을 추진할 계획이라고 밝히고 있다.

된장에 관한 연구는 많은 연구자들로부터 지금까지도 꾸준히 보고되어 왔으며 *nisin* 생성 유산균 이용(12), 에탄올 첨가(13), 저염 마늘된장(14) 등과 같이 품질개선 연구를 중심으로 수행되었으나 주로 저염식 된장 제조나 맛 개선에 관한 내용이 주류를 이루었고 된장의 장기 발효 시에 식염 함량이 어떤 영향을 미치는 지에 관한 자료는 미흡한 수준이다. 또한 된장은 숙성 조건에 따라 맛 성분이 다르게 나타나기 때문에 본 연구에서는 장기 발효 시 염도를 달리하여 제조한 된장의 이화학적 특성을 살펴봄으로서, 된장 품질에 영향을 끼치지 않는 범위 내에서 첨가 가능한 최소 식염의 양과 발효조건을 검토하여 상용화에 도움을 주고자 진행되었다.

재료 및 방법

재료

메주는 순창 장류 주식회사에서 대원콩 품종을 사용하여 제조한 약 700 g 중량의 순창 메주를 구입하여 사용하였고, 소금은 신안지역에서 생산된 3년 숙성 천일염(CJ)을 마트에서 구입하여 2015년 실험에 사용하였다.

된장 제조

된장 제조는 순창장류주식회사에서 제공한 매뉴얼을 참조하여 일부 변형하여 실시하였다. 먼저 소금물은 각각 8, 16, 30, 40% 농도로 만들어 하룻밤 침지시킨 후 용해된 소금물의 불순물 제거를 위해 거름망(mesh size 150 μ g)으로 걸러 준비하였고, 각각의 스테인레스 용기에 메주 4개씩을 넣고 소금물을 부은 후 누름돌로 침수시켜 28 $^{\circ}$ C 항온기에서 20일 동안 발효시킨 후 간장과 된장을 분리하기 위해 장가르기를 하였다. 그 후 분리한 된장을 잘게 으깨어 4, 8, 15, 20%의 염도로 맞춘 후 4.5 L 스테인레스 용기에 된장 2 kg씩 담아 30 $^{\circ}$ C에서 발효를 진행하였다.

수분

수분 함량은 식품공전(15)에 따라 105 $^{\circ}$ C 상압건조법에 의해 분석하였으며, 된장 1 g을 105 $^{\circ}$ C Dry oven(MOV-112, Sanyo Co., Ltd., Osaka, Japan)에서 항량이 될 때까지 건조시켜 백분율(%)로 계산하였다.

염도

염도는 AgNO_3 적정법(15)을 변형하여 측정하였다. 된장 5 g에 증류수로 20배 희석하여 진탕배양기(SI-IS20 model,

Shin-il Co., Seoul, Korea)에서 160 rpm 1시간동안 추출 후 여과지(Whatman No. 1)로 여과하고 이 여액 10 mL를 취하여 0.1 N AgNO_3 로 적정하였다.

$$\text{NaCl}(\%) = (\text{소비 } \text{AgNO}_3 \text{ mL} \times 0.1 \times 0.0585 \times \text{희석배수} \times \text{AgNO}_3 \text{ F}) / \text{시료량}(\text{g}) \times 100$$

pH

pH는 된장 10 g을 증류수로 5배 희석하고 Homogenizer (Polytron PT-MR 2100, Kinematica AG, Lucerne, Switzerland)로 균질화한 후 8,000 rpm에서 10분간 원심분리(Supra 25k, Hanil Co., Ltd., Incheon, Korea)한 상층액을 시료액으로 사용하였다. 이 시료액을 pH meter(Corning 340, Corning Co., NY, USA)로 분석하였다.

산도

Shin 등(17)이 제시한 방법에 따라 산도는 pH 측정을 위해 준비한 시료액 10 mL에 1% phenolphthalein 지시약을 첨가하여 시료의 pH가 8.3이 될 때까지 소비된 0.1 N NaOH의 양을 측정하였다.

환원당

환원당 함량은 DNS법(16)에 따라 분석하여 측정하였다. 시료액 1 mL에 DNS 시약 3 mL을 혼합하여 100 $^{\circ}$ C의 물에서 5분 동안 증탕한 것을 충분히 식힌 후 spectrometer(Libra S35, Biochrome Ltd., Cambridge, England)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 포도당을 표준물질로 하여 작성한 검량곡선으로부터 환원당 함량(%)을 계산하였다.

색도

된장의 색도는 색도계(Minolta CR-300, KONICA MINOLTA, Osaka, Japan)를 이용하여 측정한 후 Hunter값 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness) 및 색차(ΔE)값을 측정하여 평균값으로 나타내었다(17).

아미노태 질소

아미노태 질소($\text{NO}_3\text{-N}$)는 Formol법(AOAC 1990)(18)을 토대로 일부 변형하여 측정하였다. 시료액 5 mL에 중성 formalin(pH 8.3) 10 mL과 증류수 10 mL을 넣어 0.1 N NaOH로 pH 8.4가 될 때까지 중화하기 위해 적정하였다. 이때 소모된 0.1 N NaOH mL 양을 아미노태 질소함량으로 결정하였다. 대조구는 시료액을 대신하여 증류수를 사용하여 측정하였다.

암모니아태 질소

암모니아태 질소($\text{NH}_4\text{-N}$)는 indophenol-blue법(19)을 참고하여 시료액 0.1 mL에 A용액과 B용액을 각각 2 mL씩

차례로 넣고 37°C에서 20분간 반응시켜 spectrometer(Libra S35, Biochrome Ltd., Cambridge, England)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. 황산암모늄((NH₄)₂SO₄)을 표준물질로 하여 작성한 검량곡선으로부터 암모니아태 질소 함량(mg%)을 계산하였다(A용액, phenol 10 g and sodium nitroprusside dehydrate 0.05 g in distilled water 1,000 mL; B용액, Na₂HPO₄·12H₂O 9 g, NaOH 6 g and NaOCl 10 mL in distilled water 1,000 mL).

α-Amylase 활성

α-Amylase 활성은 건강기능식품공전(20)을 일부 변형하여 수행하였다. 효소 활성 측정을 위한 조효소액은 된장 시료 2 g에 증류수로 10배 희석하고 진탕배양기(Shin-il, Seoul, Korea)에서 180 rpm, 4시간동안 추출한 후 하룻밤 냉장보관 후 8,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 여액을 조효소액으로 사용하였다.

1% 전분 기질용액 1 mL을 40°C에서 5분간 예열시킨 후 조효소액 50 µL를 첨가하였다. 이후 이 반응액 50 µL에 요오드 용액 5 mL을 넣어 30°C incubation에서 30분간 반응시킨 실험구와 반응 전 대조구를 각각 660 nm에서 흡광도를 측정하여 효소활성을 측정하였다.

Protease 활성

단백질분해효소 활성 측정은 건강기능식품공전(20)을 일부 변형하여 수행하였다. 0.6% casein 기질용액 100 µL와 조효소액 100 µL를 각각 취하여 37°C에서 10분간 방치하였다. 그 후 반응을 정지시키기 위해 0.4 M TCA 용액 200 µL를 넣고 37°C에서 25분간 반응시켰다. 이 용액의 침전물을 제거하기 위해 원심분리하여 상층액 100 µL를 취하고, 여기에 0.4 M 탄산나트륨 500 µL와 3배 희석한 Folin 시약 100 µL를 넣어 37°C에서 20분간 반응시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 1 unit는 1 µmole의 tyrosine을 유리시키는 효소의 양으로 하였다.

미생물수

된장의 발효기간 중 미생물변화를 관찰하기 위해 총균수와 된장의 신맛을 부여하는데 관여하는 유산균수를 측정하기 위해 식품공전(16)의 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 일정량의 된장 시료를 취하여 0.85% (w/v) 생리식염수를 9배로 희석하여 시험관에 담아 균질화시키고 이를 단계별로 희석하여 총균수는 plate count agar(Difco Lab. Detroit, MI, USA), 유산균수는 MRS(Difco Lab. Detroit, MI, USA)배지를 이용하여 접종 도말하였다. 총균수는 37°C에서 24시간동안 호기배양을, 유산균수는 48~72시간동안 혐기배양한 후 형성된 집락을 2회 반복 계수하여 log CFU/g로 환산하여 표시하였다.

맛 센서 이용한 관능검사(taste sensing analysis)

발효기간에 따른 된장의 맛 변화를 살펴보기 위하여 맛 센서 분석기(TS-5000Z, Insent, Atsugi, Japan)를 이용하여 수행하였다. 된장 시료의 전처리는 각각의 샘플 20 g을 취해 증류수로 5배 희석한 후 원심 분리하여 얻은 상등액을 여과지(No. 2)로 거른 후 시료로 사용하였다. 맛 센서 분석기에 시료를 70 mL씩 넣어 3회 반복 측정 후, 평균값을 구하여 쓴맛(bitterness), 짠맛(saltiness), 신맛(sourness), 감칠맛(umami), 떫은맛(astringency)의 값을 객관적으로 나타내었다(21).

통계처리

미생물 수를 제외한 모든 실험은 3회 반복 실험하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 실험값에 대한 통계분석은 SAS 9.2 program(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 통계처리 하였으며, Duncan's multiple range test 방법과 t-test를 이용하여 평균값 간에 유의수준 p<0.05에서 유의성을 검정하였다.

Table 1. Change on moisture and salinity of Doenjang depending on various salt concentrations during fermentation period

Contents	NaCl (%)	Temp. (°C)	Fermentation period (month)							
			0	1	2	3	5	7	9	12
Moisture (%)	4	30	65.3±0.1 ^{ab}	66.0±0.6 ^a	64.5±0.3 ^a	65.8±0.5 ^a	65.5±0.2 ^a	64.7±0.0 ^a	64.7±0.4 ^a	69.8±0.4 ^a
	8	30	61.2±0.8 ^b	62.5±0.6 ^b	60.8±0.2 ^b	60.0±0.3 ^b	61.3±0.1 ^b	60.4±0.1 ^b	60.3±1.2 ^b	64.3±0.2 ^b
	15	30	54.7±0.9 ^c	54.7±0.6 ^c	56.6±0.1 ^c	55.4±0.4 ^c	55.2±0.3 ^c	54.9±0.2 ^c	54.6±1.1 ^c	54.1±1.0 ^c
	20	30	54.6±0.8 ^c	53.2±0.2 ^d	54.2±1.0 ^d	52.6±0.5 ^d	53.6±1.0 ^d	51.6±0.2 ^d	52.1±0.9 ^d	52.2±0.6 ^d
Salinity (%)	4	30	4.2±0.1 ^d	4.8±0.1 ^d	4.8±0.1 ^d	4.8±0.1 ^d	4.7±0.0 ^d	4.9±0.1 ^d	4.8±0.1 ^d	4.9±0.0 ^d
	8	30	8.3±0.1 ^c	8.8±0.1 ^c	8.9±0.0 ^c	8.5±0.1 ^c	8.4±0.1 ^c	8.6±0.1 ^c	8.6±0.1 ^c	8.7±0.1 ^c
	15	30	12.9±0.0 ^b	15.6±0.1 ^b	15.4±0.0 ^b	15.7±0.0 ^b	15.2±0.0 ^b	15.2±0.0 ^b	15.3±0.1 ^b	15.8±0.1 ^b
	20	30	16.9±0.0 ^a	19.2±0.2 ^a	20.1±0.2 ^a	19.7±0.0 ^a	19.5±0.1 ^a	19.7±0.0 ^a	19.6±0.1 ^a	19.3±0.1 ^a

¹⁾Means±SD (n=3) within each column followed by the same letter are not significantly different (p<0.05).

결과 및 고찰

수분 및 염도

다양한 염 농도(4, 8, 15, 20%)에서 제조한 된장을 12개월 동안 발효하면서 수분 함량 및 염도의 변화를 조사하여 Table 1에 제시하였다.

수분 함량에서는 통계적으로 유의성 있게($p<0.05$) 염도가 높을수록 수분 함량이 낮았는데 4% 된장의 경우 담금 직후 $65.3\pm 0.1\%$ 에서 발효기간 내내 비슷한 수준을 유지하다가 12개월 경과 후 $69.8\pm 0.4\%$ 로 크게 증가하였고 15와 20% 된장은 담금 초기에 각각 $54.7\pm 0.9\%$ 와 $54.6\pm 0.8\%$ 에서 발효 12개월 경과 시 $54.1\pm 1.0\%$ 와 $52.2\pm 0.6\%$ 로 담금 초기와 큰 변화 없이 유사한 값을 유지하였다. 이에 염도를 달리하여 제조한 된장은 장가르기 후 된장 담금 직후에 염 농도에 따라 수분 함량 차이를 나타낼 뿐 발효기간 12개월 동안 그다지 큰 변화를 보이지 않음을 알 수 있었다. 전통식품 규격기준(22)에 따르면 된장의 수분함량이 60%이하로 규정되어 있어 본 실험에서 제조한 4와 8%의 저염 된장의 경우 수분 함량이 높았기에 20일간의 소금물 침지 기간 동안 삼투압 작용을 고려하여 탈수 조건을 검토하여 규격에 맞게 낮추는 방안을 모색해야 할 것으로 사료된다.

염도 변화는 식염 농도를 4, 8, 15 및 20%로 조정한 각각의 된장은 담금 초기의 염도 값과 큰 차이를 보이지 않아 발효기간 동안 소금 농도에 따라서는 된장의 염도 변화에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

pH, 산도 및 환원당

된장의 장기 숙성에 따른 pH, 산도 및 환원당 변화는 Fig. 1에 제시하였다.

pH는 된장 담금 초기에는 염도가 높을수록 pH값이 4.3 ± 0.0 에서 5.1 ± 0.0 로 통계적 유의적인 차이를 보였고, 발효기간 5개월이 경과되면서 낮은 염농도인 4와 8% 된장에서는 초기보다 다소 증가하여 9개월째에는 7.1 ± 0.0 와 5.4 ± 0.0 를, 12개월 경과 시에는 8.2 ± 0.0 와 5.8 ± 0.0 을 나타내

었는데 특히 4% 된장의 경우 유의적인 차이로($p<0.05$) 크게 증가하여 알칼리성을 띄었다. 이는 Shin 등(17)의 보고와 같이 숙성초기에는 유산균 등의 발효미생물의 생육이 용이하여 젖산 생성도 병행되어 pH가 낮아졌지만, 장기 발효가 진행되면서 15와 20% 된장을 제외한 4와 8% 염농도로 제조한 저염 된장만이 pH가 높아져 Jung 등(23)이 제시한 17.6% 된장이 후발효가 진행되는 약 180일 이후부터 pH가 급격히 증가하였다는 보고와 상이한 결과를 나타내었다. Bang 등(24)은 저염 된장에서 pH가 약간 증가한 것은 유기산 감소로 인한 것으로 다른 미생물들이 생육을 위해 젖산 등 유기산을 영양원으로 이용하여 소실된 것으로 언급하고 있다.

산도 변화는 장담금 직후에는 4와 8% 된장은 1.8과 1.5% 이었고, 15와 20% 된장은 1.4와 1.2%로 염농도가 낮을수록 높았는데 발효 2개월까지는 급격히 증가하여 최대치까지 높아졌다가 이후 꾸준히 감소되었으나, 발효 12개월째에는 발효초기와 달리 각각 0.7, 1.0, 2.2, 1.5%로 저염 된장이 고염에 비해 낮은 산도 값을 보였는데 고염(15, 20%)된장에서는 발효 9개월째에 산도가 증가했다가 다시 감소하였다. 이런 산도변화는 미생물의 대사 작용으로 인해 생성되는 lactic acid 및 acetic acid 등 유기산의 축적으로 인해 산도가 높아졌다가 이후 이들 유기산이 미생물에 의해 대사되어 낮아진 현상이라 판단된다(25).

환원당 함량 변화는 소금농도에 상관없이 발효기간 1~2개월 내에 환원당 함량이 최대값을 나타내었고 그 이후는 감소하는 경향을 보였는데, 4% 된장은 발효초기 0.4 ± 0.0 에서 12개월째 $0.4\pm 0.0\%$ 로 거의 변화가 없었던 반면 8, 15 및 20% 된장의 경우 각각 초기 1.7 ± 0.0 , 1.7 ± 0.0 및 $1.5\pm 0.0\%$ 에서 0.7 ± 0.0 , 1.4 ± 0.0 및 $1.1\pm 0.0\%$ 로 환원당 함량이 통계적 유의성 있게 감소하였는데, 8% 된장의 경우 좀 더 높은 감소율을 보였다. 이는 장 담금 후에는 미생물에 의해 생성된 amylase의 높은 활성에 의해 탄수화물이 분해되어 환원당 함량이 높았지만, 발효기간이 진행될수록 미생물 영양원 또는 유기산 발효의 기질로 유리당이 소모되어 감소된 것으로 사료된다(26).

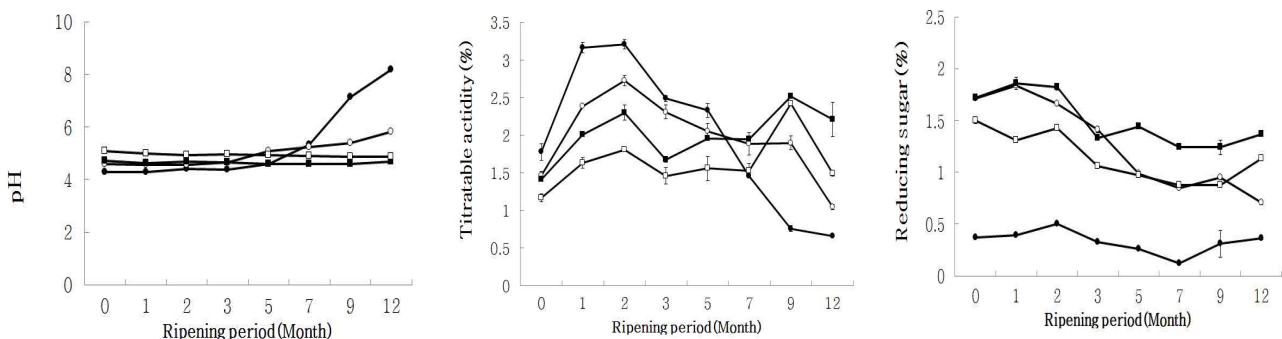


Fig. 1. Change on pH, titratable acidity and reducing sugar of *Doenjang* according to various salt concentrations during fermentation period.

Means \pm SD (n=3) within each column followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$).

▲, 4% *Doenjang*; ○, 8% *Doenjang*; ■, 15% *Doenjang*; □, 20% *Doenjang*.

색 도

된장의 색은 맛과 함께 소비자 기호도에 큰 영향을 줄 수 있어 발효에 따른 된장의 색도 변화를 관찰하여 Fig. 2에 제시하였다.

염도를 달리하여 제조한 된장은 30℃에서 12개월간 발효 하였을 때 모든 시료에서 L값이 발효초기 51.7~58.3 범위에서 꾸준히 감소하여 36.7~37.8 범위까지 낮아져 어두운 색을 띠었다. 또한 a값은 담금 직후 6.1~7.3의 값으로 시작하여 발효 3개월째 8.3~9.8로 꾸준히 증가하다가 5개월을 전후로 감소하는 경향을 보였다. 반면 b값에서는 4% 된장만 담금 직후부터 발효 3개월까지 경미하게 증가하다 감소하였고 나머지 시료는 담금 직후부터 꾸준히 감소된 값을 나타내었다.

이와 같이 된장은 발효가 진행되면서 갈변 현상을 보이며 색 변화가 이루어지는데, 이 값을 변색도(ΔE)로 나타내었을 때 모든 시료들은 발효기간이 길어질수록 점진적으로 변화하였고, 이와 같은 현상은 Chang 등(27)이 보고한 바와 같이 콩의 단백질과 전분이 분해되어 생성된 당과 아미노산의 화학반응인 *maillard* 반응에 의한 갈색화로 인한 것으로,

발효식품인 된장은 염농도에 따라 영향을 받아 이런 현상이 다르게 나타날 수 있음을 알 수 있었다

아미노태 및 암모니아태 질소

염도를 달리하여 제조한 된장을 1년 동안 발효시키면서 아미노태 질소 및 암모니아태 질소 함량 변화를 살펴보고 Fig. 3에 그 결과를 제시하였다.

아미노태 질소 함량은 모든 시료에서 발효가 진행되면서 꾸준히 증가하는 경향을 보였는데 담금 초기에 저염(4, 8%) 된장은 520.3±2.9~570.3±11.9 mg%, 고염(15, 20%)된장은 363.5±4.9~477.9±2.4 mg% 값을 보였고 발효가 진행될수록 증가하다가 12개월째에는 각각 1,127.9±6.3~1,268.4±32.9 mg%과 813.4±16.8~859.6±2.8mg%로 통계적 유의적인 차이($p<0.05$)의 값으로 저염 된장에서 더 높은 값을 나타내었다. 이는 Lee 등(26)의 보고에서 낮은 염농도에서 16주 동안 발효시킨 된장이 *protease* 등 단백질 분해에 관여하는 효소 활성이 높아 아미노태 질소 함량이 높았다고 본 연구와 유사한 결과를 보여주었다.

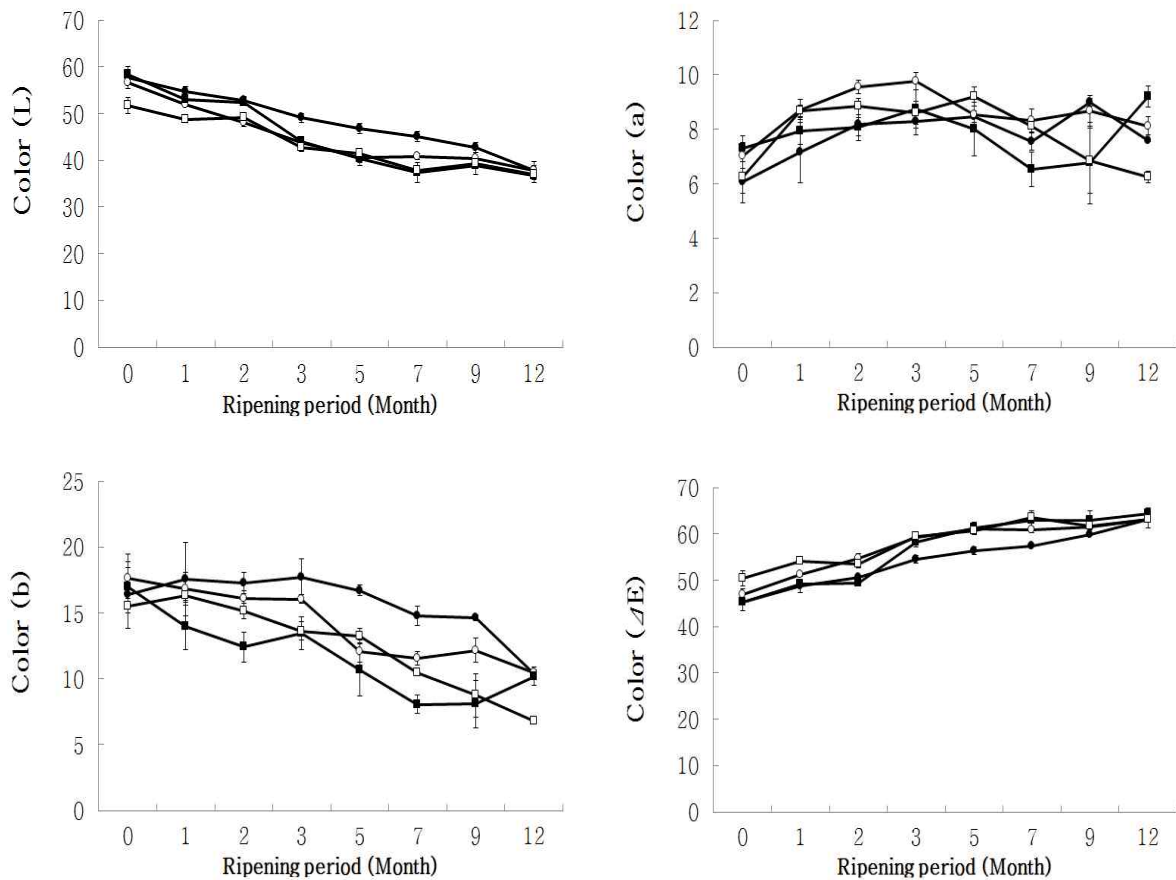


Fig. 2. Change on color of Doenjang according to various salt concentrations during fermentation period.

Means±SD (n=3) within each column followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$).

▲, 4% Doenjang, ○, 8% Doenjang, ■, 15% Doenjang, □, 20% Doenjang.

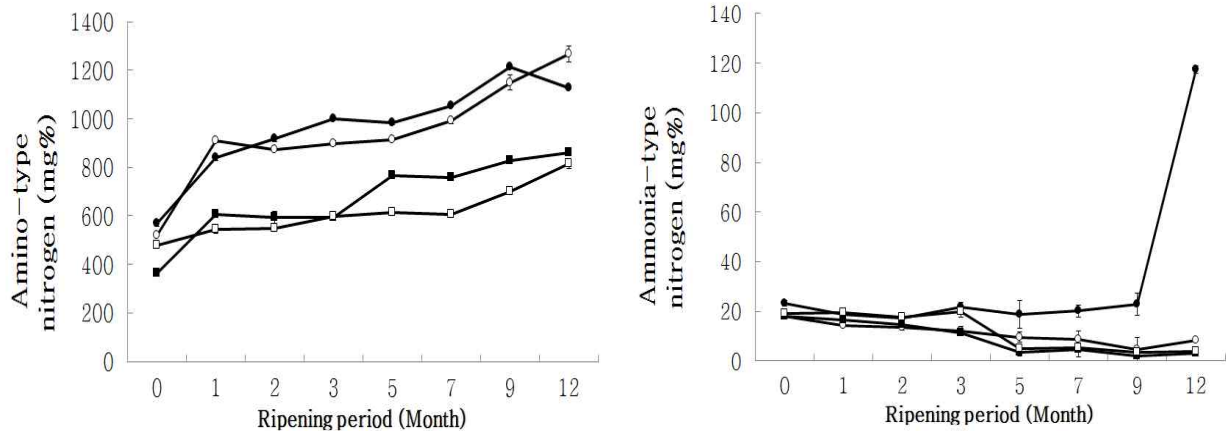


Fig. 3. Changes in amino- and ammonia-type nitrogen contents of *Doenjang* according to various salt concentrations during fermentation period.

Means±SD (n=3) within each column followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

▲, 4% *Doenjang*, ○, 8% *Doenjang*, ■, 15% *Doenjang*, □, 20% *Doenjang*.

암모니아태 질소 함량은 발효초기에는 염농도에 따른 큰 차이를 보이지 않았지만, 5개월 경과 후 저염 된장(4와 8%)이 각각 18.8 ± 5.6 와 9.5 ± 2.0 mg%의 값으로 다른 시료에 비해 유의적으로 높았는데, 이후부터 4% 된장만이 높은 함량을 나타내어 발효 12개월째에는 암모니아태 질소 함량이 88.2 ± 0.7 mg%로 급격히 높아졌고, 다른 시료들은 발효가 진행되면서 꾸준히 감소하였다. Lee 등(26)이 언급한 것처럼 염 농도가 낮을수록 휘발성 염기질소 중 하나인 암모니아태 질소 함량이 높은 값을 나타내긴 했지만, 발효가 진행되면서 지속적으로 증가하였다는 보고와는 상이하였다.

암모니아태 질소는 발효식품에서 이상 발효의 지표로 사용되어 된장에서 아미노태 질소함량은 높고 암모니아태 질소 함량은 낮을수록 우수한 품질을 나타내므로 저염 환경에서 발효식품을 제조할 경우 고염 환경에서보다 단백질 가수분해 효소의 활성이 높으므로 단백질이 아미노산으로 과잉 분해되어 이상 발효가 진행되지 않도록 염 농도를 고려하여 수행해야 할 것으로 사료된다.

효소 활성(α -amylase와 protease)

된장의 주원료인 콩 전분질과 단백질을 가수분해하여 된장의 단맛과 구수한 맛을 결정하는데 있어 미생물에 의해 분비된 amylase와 protease 등의 효소활성은 깊은 관련이 있다. 이에 된장을 장기간 발효 과정 동안 효소 활성도 변화를 측정하여 Fig. 4에 나타내었다.

염 농도를 달리하여 제조한 된장 내 α -amylase 효소 활성 변화를 살펴 본 결과 8, 15, 20% 농도의 된장은 장 담금 시 1차 발효과정에서 미생물 작용이 활발하여 효소활성이 초기에 약 0.5 Unit/g으로 높았고, 4% 된장만이 0.05 Unit/g 이하로 낮아 통계적으로 유의적인 차이를 나타내었지만,

그 이후 점차 감소하여 염도 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 이는 저염 된장이 숙성기간 중 α -amylase 효소활성이 초기와 비슷한 수준을 유지하였다는 보고와는 상이하였다(28).

protease 효소 활성은 장 담금 초기에 고염 된장(15와 20%)은 약 50 Unit/g의 낮은 활성을 나타낸 반면 저염 된장(4와 8%)에서는 약 200 Unit/g로 통계적 유의적인 차이로 높은 활성을 보였는데 발효 9개월째에는 그 활성이 감소하여 농도 간 차이를 보이지 않았다. 이는 Mok 등(28)이 저염 된장 숙성 중 단백질분해효소의 활성이 염농도가 낮을수록 높은 값을 보였다는 보고와 유사하였다. 앞에서 언급한 바와 같이 단백질 분해효소는 저염 환경에서 높은 활성을 나타내는 것으로 생각되어 진다.

총균수와 유산균수의 변화

된장은 발효하는 동안 미생물 생육으로 인해 생성된 효소작용으로 맛과 향에 관련된 성분들이 생성되어 품질에 영향을 준다. 이에 염도를 달리하여 제조한 된장을 장기간 발효시키면서 미생물 변화를 살펴보고 그 결과는 Table 2에 제시하였다.

총균수 변화는 모든 그룹에서 발효초기부터 3개월까지는 $8.0 \sim 8.6$ log CFU/g 범위로 큰 편차를 보이지 않았지만, 발효 5개월째는 저염 된장(4, 8%)이 $8.9 \sim 9.0$ log CFU/g로 고염 된장(15, 20%)이 8.6 log CFU/g에 비해 총균수가 다소 높은 값을 나타내었지만 통계적 유의성은 없었다. Kim (29) 역시 6과 10%로 염농도를 달리하여 제조한 된장을 16주 동안 발효시켰을 때 호기성 세균이 $10^8 \sim 10^9$ FU/g 수준으로 큰 변화가 없었다고 보고하였다.

유산균은 증식하면서 생산한 유기산과 박테리오신과 같은 물질에 의해 오염균 증식을 방지하는 반면 과잉 생산된

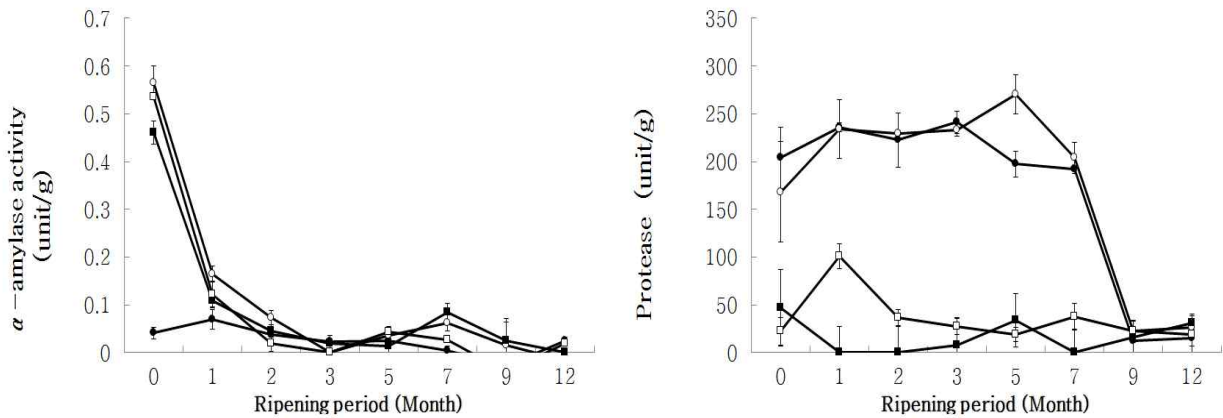


Fig. 4. Changes on enzymatic activity of α -amylase and protease of soybean paste (*Doenjang*) at 4, 8, 15, and 20% salt content during fermentation.

▲, 4% *Doenjang*, ○, 8% *Doenjang*, ■, 15% *Doenjang*, □, 20% *Doenjang*.

Table 2. Aerobic bacteria and lactic acid bacteria cell numbers of *Doenjang* according to various salt concentrations during fermentation period

Bacterial group	NaCl (%)	Temperature (°C)	Bacterial cell count (log CFU/g) during fermentation (month)								
			0	1	2	3	5	7	9	12	
Aerobic bacteria	4	30	8.1±0.1 ^{bl}	8.4±0.0 ^a	8.3±0.0 ^a	8.5±0.2 ^a	8.9±0.0 ^a	9.1±0.3 ^a	8.0±0.0 ^c	8.1±0.1 ^b	
	8	30	8.1±0.0 ^{bc}	8.6±0.0 ^b	8.3±0.0 ^a	8.3±0.0 ^b	9.0±0.6 ^a	8.6±0.4 ^b	8.5±0.0 ^a	8.6±0.1 ^a	
	15	30	8.0±0.1 ^c	8.3±0.0 ^c	8.1±0.0 ^b	8.3±0.1 ^b	8.6±0.4 ^a	8.2±0.0 ^b	8.3±0.1 ^b	8.4±0.2 ^{ab}	
	20	30	8.3±0.1 ^a	8.6±0.0 ^a	8.4±0.0 ^a	8.3±0.1 ^b	8.6±0.4 ^a	8.6±0.4 ^b	8.3±0.1 ^b	8.6±0.0 ^a	
Lactic acid bacteria	4	30	5.8±0.2 ^c	2.0±0.1 ^a	1.5±0.2 ^b	4.5±0.2 ^a	4.0±0.1 ^a	2.8±0.3 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	
	8	30	6.8±0.0 ^a	1.5±0.0 ^b	2.7±0.0 ^a	1.4±2.0 ^b	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	
	15	30	6.2±0.1 ^b	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	2.6±0.4 ^{ab}	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	
	20	30	6.9±0.0 ^a	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^b	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	

¹⁾Means±SD (n=3) within each column followed by the same letter are not significantly different (p<0.05).

젓산에 의한 산도 증가로 된장에 강한 신맛을 부여하여 기호도에 영향을 준다. Table 2에 나타난 바와 같이 유산균수는 된장 담금 직후부터 급격하게 감소하였는데, 발효 2개월째에 저염된장(4, 8%)은 1.5~2.7 log CFU/g의 유산균수를 나타낸 반면 고염된장(15, 20%)에서는 불검출 되어 큰 미생물 변화를 보여주었다. 그러나 4% 된장에서는 장기 숙성기간 동안 꾸준한 생육을 나타내었지만, 나머지 된장과 마찬가지로 급격히 감소하여 발효 9개월째는 불검출 되었다. 비록 42일의 짧은 발효기간 동안이지만 Lee 등(26)의 보고와 유사하게 발효초기에 비해 발효가 진행되면서 꾸준히 유산균수가 감소하는 경향을 보여 유산균 생육이 된장 발효를 마친 후 맛에 어떤 영향을 주었는지 살펴볼 필요가 있다고 판단된다.

맛 센서 이용한 관능검사(taste sensing analysis)

염 농도를 각각 4, 8, 15, 20%로 맞춰 제조한 된장의 장기

발효에 따른 맛의 변화를 맛 센서 분석기로 측정하였고, 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 발효초기에는 시료 간 뚜렷한 맛의 차이를 보이지 않았지만, 발효 중기에는 신맛과 감칠맛에서 시료 간 차이를 나타내었는데, 신맛의 경우 4와 8% 저염된장은 -11.31~-11.35이었고, 15와 20% 고염 된장은 -7.12~-7.45로 저염 된장이 조금 더 약한 신맛을 나타내었다. 이와 반대로 쓴맛(bitterness)은 저염 된장이 5.28~6.24이었고, 고염 된장이 4.28~5.06으로 염도가 낮을수록 쓴맛이 높아지는 결과를 나타내었다. 발효 12개월째에는 신맛의 경우 4% 된장이 -27.64로 가장 낮았고, 20% 된장이 -7.40으로 가장 높아 신맛의 생성에 있어 염도가 깊이 관련됨을 알 수 있었다. 쓴맛과 떫은맛에서는 4% 된장이 각각 13.32와 2.01로 가장 높았고, 8% 된장 시료가 각각 4.35과 0.62로 유의적인 차이로 가장 낮았으며, 감칠맛은 저염 된장이 11.17~13.12이었고, 고염 된장이 2.09~2.71으로 염도가 낮을수록 감칠맛이 높아지는 결과를 보였다. Park 등(30)이

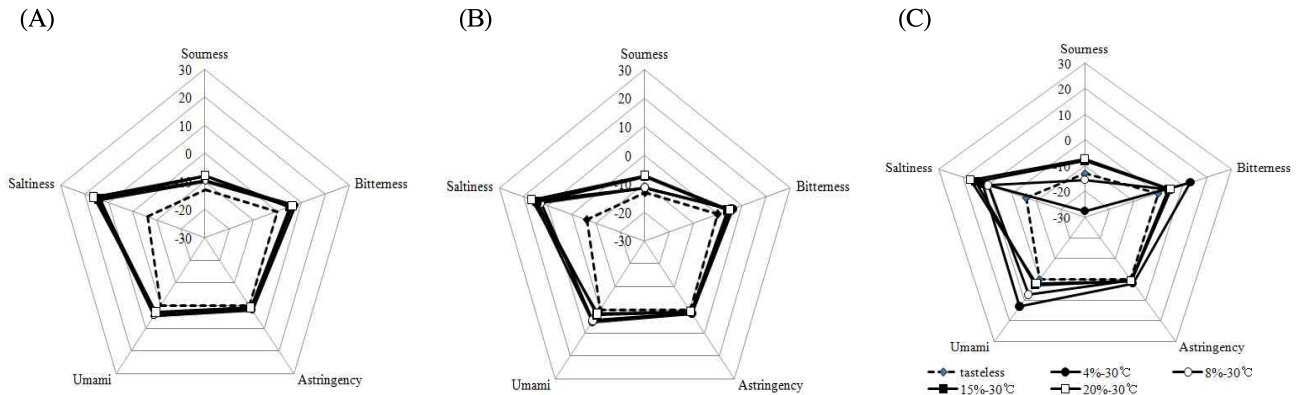


Fig. 5. Taste intensities of the fermented *Doenjang* compared with a tasteless material such as deionized water. A taste intensity more than tasteless (dotted line) are perceptible.

(A), *Doenjang* fermented for 0 month; (B), *Doenjang* fermented for 5 months; (C), *Doenjang* fermented for 12 months.

소금농도가 김치의 맛에 미치는 영향을 보고한 바에 따르면 염농도가 낮을수록 신맛과 감칠맛이 높아졌다고 언급하였는데, 감칠맛의 경우에만 된장에서 동일한 값을 나타내었다.

종합적으로 본 연구에서는 다양한 염도로 제조한 된장이 장기 발효 시 나타나는 품질변화를 살펴본 결과, 된장 품질에 영향을 끼치지 않는 범위 내에서 첨가 가능한 최소 식염의 양은 8% 정도임을 알 수 있었다.

된 장류개발이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 농업기초기반 연구개발사업 (PJ010927)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

요 약

저염 된장 제조를 위하여 염 농도(4, 8, 15, 20%)를 달리하여 12개월의 장기 기간 동안 발효시켜 품질특성 변화를 조사하였다. pH는 모든 염농도의 된장에서 발효 12개월 동안 점차 높아졌는데, 특히 4, 8% 저염 된장에서 급격히 높아졌다. 적정산도는 염 농도가 낮을수록 높아지는 경향을 나타내다가 발효 5개월 이후부터는 저염(4와 8%)된장의 경우는 꾸준히 감소하였으나 고염(15와 20%)의 경우는 증가하여 발효초기와 달리 염농도가 높을수록 높은 값을 나타내었다. 또한 염 농도가 낮을수록 된장 중 아미노태 질소 함량은 증가하였고, α -amylase 효소활성은 모든 시료에서 발효기간 동안 감소하였다. protease 효소활성은 7개월까지 고염 된장(15, 20%)에 비해 저염 된장(4, 8%)에서 높게 나타났다. 미생물수 변화는 염 농도와 상관없이 발효 12개월 동안 *Bacillus*속 미생물을 우점종으로 하여 8.0~9.1 log CFU/g의 일정한 총균수를 보였다. pH, 산도, 아미노태 질소 함량은 8% 된장에서 다른 된장보다 높은 값을 나타냈다. 유산균은 발효가 진행되면서 감소되었는데 4% 저염 된장의 경우 9개월 전까지 검출되었다. 맛 센서를 이용한 관능 검사에서 8% 된장은 쓴맛과 떼은맛이 낮고 신맛은 약하며 감칠맛은 높아 우수한 품질을 나타내었기에 소금이 저감하

References

- Kim JH, Yoo JS, Lee CH, Kim SY, Lee SK (2006) Quality properties of soybean pastes made from *Meju* with mold producing protease isolated from traditional *Meju*. Korean J Soc Appl Biol Chem, 49, 7-14
- Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB (2002) Studies on the standardization of *Doenjang* (Korean soybean paste) 1. Standardization of manufacturing method of *Doenjang* by literatures. J Korean Soc Food Sci Nutr, 31, 343-350
- Park KY, Moon SH, Rhee SH (1994) Antimutagenic effect of *Doenjang* (Korean soy paste)-Inhibitory effect fo *Doenjang* stew and soup on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁. Korean J Environ Mutagens Carcinogens, 14, 145-152
- Lee KI, Park KY, Ahn HK (2011) The anticancer effects of *Doenjang* made with various kinds of salt. Korean J Culinary Research, 17, 241-252
- Yi JH, Heo NK, Choi BG, Park EH, Kwun SY, Kim MD, Hong WP, Yeo SH, Baek SY (2014) Isolation of fibrinolytic yeasts from Korean traditional fermented soybean. Korean J Microbiol Biotechnol, 42, 184-189
- Lee CH, Youn Y, Song GS, Kim YS (2011)

- Immunostimulatory effects of traditional *Doenjang*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 40, 1227-1234
7. No JD, Lee DH, Lee DH, Choi SY, Kim NM, Lee JS (2006) Changes of quality and physiological functionality during the fermentation of *Doenjangs* made by isolated *Nuruk* mold and commercial *Nuruk* mold. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35, 1025-1030
 8. Kim AR, Lee JJ, Cha SS, Chang HC, Lee MY (2012) Effect of soybeans, *Chungkukjang* and *Doenjang* on blood glucose and serum lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. J Korean Soc Food Sci Nutr, 41, 621-629
 9. Oh HJ, Kim CS (2007) Antioxidant and Nitrite scavenging ability of fermented soybean foods (*Chungkukjang*, *Doenjang*). J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 1503-1510
 10. Choi MK, Kim YJ, Song JE, Sung CJ (1996) A study on relationships between blood pressure and Na, K, Ca, Mg in cerebral apoplexy patients. J Korean Soc Food Nutr, 25, 1-10
 11. Han DH, Park JM, Bai DH (2014) Analysis of changes in microflora and flavor of low and high salt content soybean paste (*Doenjang*). Food Eng Prog, 18, 300-306
 12. Ministry of Health and Welfare (2015) Korea Centers for Disease Control and Prevention: Korea Health Statistics 2014: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-2). Ministry of Health and Welfare, Sejong, Korea, p 111
 13. Lee JO, Ryu CH (2002) Preparation of low salt *Doenjang* using by nisin-producing lactic acid bacteria. J Korean Soc Food Nutr, 31, 75-80
 14. Lee SW, Shin SY, Yu TJ (1985) Effects of the ethanol contents on the preparation of low salt *Doenjang*. Korean J Food Sci Technol, 17, 336-339
 15. Cho KM, Kang JR, Kim GM, Kang MJ, Hwang CH, Jeong YS, Kim JH, Lee CK, Shin JH (2014) Quality characteristics of low salted garlic *Doenjang* during fermentation. Korean J Food Preserv, 21, 627-635
 16. Korean Food and Drug Administration (2015) Korean Food Standards Codex
 17. Shin DH, Kang KS, Lee JY, Jeong DY, Han GS (2010) On chemical characteristics of sour *Doenjang* (fermented soybean paste). Korean J Fd Hyg Safety, 25, 360-366
 18. AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA, p 335
 19. Lee SY, Park NY, Kim JY, Choi HS (2012) Quality characteristics of rice-*Doenjang* during fermentation by differently shaped *Meju* and adding starter. J Korean Food Nutr, 25, 505-512
 20. Korean Food and Drug Administration (2008) Korean Functional Food Code, Functional Food Code Analytical Methods
 21. Yang SW, Kim BR, Lee JW, Lee C, Moon BG (2014) Quality characteristics of cream soup with *Hericium erinaceus* powder. J East Asian Soc Dietary Life, 24, 631-640
 22. National Agricultural Products Quality Management Service (2012) Traditional Food Quality Certification System, Korea, p 88
 23. Jung WY (2016) Characterization of microbial succession and metabolite change during fermentation of *Doenjang*, a traditional Korean fermented soybean paste. MS Thesis, Chungang University, Korea, p 11
 24. Bang BH, Seo JS (2002) Characteristics of salt adsorption by calcium alginate beads. Korean J Food Nutr, 15, 89-96
 25. Kim MS, Kim EM, Chang KS (2008) Effect of fermentation temperature on quality of *Doenjang*. Jour Agri Sci, 35, 1-9
 26. Lee JY, Mok CK (2010) Changes in physicochemical properties of low salt soybean paste (*Doenjang*) during fermentation. Food Eng Prog, 14, 153-158
 27. Chang M, Kim IC, Chang HC (2010) Effect of solar salt on the quality characteristics of *Doenjang*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 39, 116-124
 28. Mok CK, Song KT, Lee JY, Park YS, Lim SB (2005) Changes in microorganisms and enzyme activity of low salt soybean paste (*Doenjang*) during fermentation. Food Eng prog, 9, 112-117
 29. Kim YK (2009) Changes in microorganism and physicochemical properties of low salted *Doenjang* during storage. MS Thesis, Mokpo University, Korea, p 8
 30. Park SH, Lim HS (2003) Effects of red pepper, salt-fermented anchovy extracts and salt concentration on the tastes of kimchi. J Korean Soc Food Sci Nutr, 32, 346-349