

蛋白質分解細菌을 併用한 간장製造에 關한 研究

金 載 勗 · 趙 成 桓

서울대학교 農科大學

(1975년 1월 15일 수리)

A Study on the Manufacturing of Soysauce by the Combined use of *Aspergillus sojae* and *Bacillus subtilis*

Ze-Uook Kim · Sung-Hwan Cho

College of Agriculture, Seoul National University

(Received January 15, 1975)

Summary

In order to study on the preparation of improved soysauce, Koji(soybean and wheat mash fermented by the strain *Aspergillus sojae*), Koji-Natto(mixed with the various proportion of Koji to Natto; 8 : 2, 6 : 4, 4 : 6, 2 : 8) and Natto (prepared using the strain: *Bacillus subtilis*) were prepared as soysauce materials. Sensory evaluation for the soysauces made from above-mentioned soysauce materials and the contents of total nitrogen, amino nitrogen, ammonia nitrogen, reducing sugar, total acid and enzyme activity were determined. The results were summarized as follows:

1. Protease activity of Natto was over twice higher than that of Koji and amylase activity of Koji was three times higher than that of Natto. Koji-Natto showed successive increase of amylase activity and successive decrease of protease activity as Koji proportion was increased to Natto.
2. The contents of total nitrogen and amino nitrogen in all the soysauce mashes displayed linear increases or no changes of these contents as aging. The contents of total nitrogen and amino nitrogen in the mashes were higher as Natto proportion increase to Koji during the aging period.
3. In Natto soysauce mash and Koji-Natto soysauce mashes the contents of ammonia nitrogen were gradually increased until 1~2 months and rapidly reduced after that period, while Koji soysauce mashes were continuatively increased.
4. In all the soysauce mash the reducing sugar increased preeminently until the two months and after then there was a rapid decrease as aging the contents of reducing sugar in the mash were higher as Natto proportion increased to Koji during aging period.
5. The total acid of Koji and Koji-Natto (8 : 2) soysauce mash showed gradual increase as aging, while contents of total acid in Natto and other Koji-Natto soysauce mashes increased preeminently until 50~70 days aging, after then decreased.
6. The results of sensory evaluation for three-month-fermented soysauces showed the most excellent in Koji-Natto (6 : 4) and successive order in the soysauces consisting of Koji and Natto proportion: 8 : 2, 10 : 0, 4 : 6, 2 : 8, 0 : 10.

* 本 研究의 一部은 1974年度 文敎部 學術研究 助成費로 이루어진 것이다.

I. 緒 論

組織이 堅固하여 消化되기 어려운 大豆를 가장 合理的으로 加工하는 方式의 하나인 간장은 穀類를 主食으로 하는 우리나라를 위시한 東洋各國에서 日常調味料로서 重要할 뿐 아니라, 蛋白質의 給源으로서의 意義 또한 대단히 크다. 간장製造法으로는 蛋白質原料를 酸으로 加水分解하여 中和하는 Amino 酸간장製造法⁽¹⁻²⁾도 있으나, 이 方法에 依한 製品의 品質이 좋지 못하므로 主로 微生物을 利用하는 釀造方法을 傳統的으로 使用하여 왔다. 이 方法에 依한 科學的인 釀造方式으로는 主로 *Aspergillus* 屬에 속하는 곰팡이를 大豆와 小麥에 接種, 培養시켜 간장코오지를 만들어 그것이 分泌하는 protease 및 amylase 等の 酵素를 利用하여 製造하는 것으로서 이와같은 方式에 依한 간장 제조법에 對한 研究는 대단히 많다. 그러나, 이들 *Aspergillus* 屬을 利用한 種래의 方法에서는 優良菌株의 選定, 合理的인 原料配合比와 製麴條件의 改善等으로 protease를 主로 한 酵素를 어느 정도 強力하게 生成시켜 改良해 왔으나, *Aspergillus* 屬을 利用하는 간장에서는 가장 重要한 protease 力價를 높이는 데는 어느 限度가 있다. 따라서 釀造간장에서 Koji 製造에 麴菌(*Aspergillus* sp.)을 利用하면 protease 分泌가 그다지 強하지 못하여 蛋白質의 分解도가 높지 않을 뿐 아니라, 熟成期間이 長時間을 要하는 등 不利한 點이 있다. 近來에 와서 醫類를 製造하는데 있어 protease 酵素劑를 利用하여 직접 大豆를 分解시켜 담그는 새로운 간장製造法⁽³⁻⁴⁾等, 速釀造法을 開發할 目的으로 試圖된 많은 研究가 있으나 이것 또한, 實用上으로 여러가지 問題點이 없지 않다. 간장製造에서 蛋白質分解를 높이는 方式으로는 protease를 強力하게 生成하는 細菌類를 利用하는 것으로서 이 細菌을 單用하든가 또는 細菌을 從來의 Koji와 併用하는 것을 生覺할 수 있다. 蛋白質細菌을 利用하는 研究로서 細菌을 單用하는 것은 國內에서 이미 몇가지 이루어진 것이 있다. 卽 李⁽⁵⁾의 細菌을 利用한 간장製造와 朱⁽⁶⁾ 等の 細菌간장에 關한 研究等을 들 수 있다. 그러나, 細菌을 單用한 간장은 強力한 protease에 依하여 大豆蛋白質이 잘 分解되어 熟成期間이 短縮되는 有利한 點이 있기는하나, 이들 細菌은 一般的으로 amylase의 生成이 적어 主原料인 小麥의 澱粉分解가 덜되어 問題가 될 뿐 아니라, 細菌을 蒸煮甕에 培養시킨 所謂 納豆는 그 獨特한 냄새로

因하여 우리嗜好에 맞지 않으므로 이것을 담가져 만든 간장製品의 風味가 問題가 될 것이다. 그러나, 우리나라에서도 納豆를 만들어 소금, 물과 其他 調味料를 配合하여 貯藏形態로 加工한 淸國醬을 실제로 食用하고 있다는 사실과 간장 Koji 製造時 納豆菌이 部分的으로 汚染된 것도 실제로 간장을 담그면 간장맛에 아무런 악영향을 끼치지 않고 즐겨 먹고 있는 것을 經驗하고 있는 것이다. 이러한 觀點에서 蛋白質分解細菌을 從來의 Koji에 併用하면 protease 및 amylase에 依한 蛋白質 및 澱粉分解가 다같이 잘 될 것이며 熟成도 빨라질 것이다. 따라서 筆者들은 從來의 Koji 利用간장과 細菌을 單用한 納豆간장을 만드는 同時에 Koji에 納豆를 여러가지로 併用한 간장을 만들어 各간장의 原料成分의 分解度及 化學成分의 變化는 勿論, 간장製品의 食味를 比較한 結果, 우리나라國民으로는 納豆를 從來의 Koji에 一定한 比率로 配合한 간장이 優秀하다는 期待以上の 事實을 알게 되어 여기에 報告하는 바이다.

II. 實驗方法

1. 試料의 調製

(1) 使用菌株

Koji 用菌株은 서울大學校農科大學食品工學科에 보관하고 있는 *Aspergillus sojae*를 使用하고, 納豆用菌株은 朴⁽⁷⁾ 등이 納豆에서 分離한 *Bacillus subtilis* K-27을 使用하였다.

(2) Koji의 製造

市販되는 메주용 大豆를 하룻밤 浸漬하였다가 水切하고, autoclave를 使用하여 10 lbs에서 1時間동안 加壓蒸煮하였다가 冷却시킨 것에 미리 水洗乾燥하여 赤褐色으로 볶아서 10 mesh 정도로 粉碎한 小麥에 種麴을 섞은 것을 混合한 後, chopper로 가락을 만들어 麴室에서 常法⁽⁸⁾에 따라 製麴하여 乾燥시켜서 간장 Koji를 만들어 中間原料로 使用하였다. 製麴原料의 配合比는 金⁽⁹⁾의 研究結果에 따라 大豆:小麥=10:6으로 하였다.

(3) Natto의 製造

市販大豆를 精選하여 常溫의 물에 하룻밤 浸漬하였다가 水切하고, 10 lbs에서 1시간동안 加壓蒸煮한 것에 室溫에서 4시간동안 浸漬하고 蒸煮한 小麥을 混合한 後, 60°C 정도로 冷却하고 여기에 T.G.Y. media로 37°C의 incubator에서 30時間 培養한 Natto starter를 接種한 다음, 室溫이 42°C로 유지되는 酸酵室에서 24時間 培養·酸酵시켜서

Natto를 製造하여 中間原料로서의 納豆로 使用하였다. 여기서의 大豆와 小麥의 配合比도 成分變化를 比較하기 위한 便宜上 10:6으로 하였다.

(4) 간장담금 및 試料採取

製造한 Koji와 Natto를 Table 1과 같은 比率로 配合하여 常法⁽¹⁰⁾에 따라 간장을 담갔다.

Table 1. Ratio of Koji and Natto for soysauce mesh

Sample code	Koji	Natto
A	10	0
B	8	2
C	6	4
D	4	6
E	2	8
F	0	10

담금 간장은 독에 넣어 뚜껑을 덮고 15~20°C로 유지되는 곳에 넣어 두어 5일에 한번씩 교반하여 3個月동안 熟成시키면서 每 20日마다 試料를 採取하였다. 試料를 採取할 때에는 먼저 간장덧을攪拌한 다음, 一定量을 取하여 80mesh의 체로 걸러서 얻은 간장덧액을 比重과 pH測定 및 成分分析用 試料로 하였다.

2. Enzyme activity의 測定

(1) 酵素液의 調製

Koji, Natto, 또는 Koji-Natto 配合試料 2g에 蒸溜水 100ml를 加하여 2分程度 振盪하고 室溫에서 4時間 靜置시켜 酵素를 浸出케 하여 이것을 Toyo 濾紙 No. 2로 濾過하여 그 濾液을 酵素原液으로 하여 냉장고에 보관하면서 酵素力價를 測定하였다.

(2) Protease activity

McIlvaine buffer로 pH5.6으로 調節한 2% casein 溶液을 基質⁽¹¹⁾로 하여 modified Folin's method⁽¹²⁾에 의하여 測定하였다. 즉, 基質 2ml에 酵素液 1ml를 加하여 40°C의 water bath에서 30分間反應시킨 다음, 0.4M Trichloroacetic acid(T.C.A)5ml를 加하여 反應을 中止시킨다음, 35°C에서 30分間 방치하여 생긴 沈澱을 Toyo 濾紙 No. 2로 濾過하여 얻은 그 濾液에 0.4M Na₂CO₃ 5ml와 1ml의 Folin phenol reagent⁽¹³⁾을 加하여 35°C의 water bath에서 30分間 維持하여 完全 發色시킨 後, 室溫으로 冷却시켜, Spectrophotometer (Spectronic 20)로 620 mμ에서 optical density를 測定하여, 別途로 作成한 標準曲線⁽¹⁴⁾을 使用하여 tyrosine(μg/ml)으로 환산하여 protease activity로 表示하였다.

(3) Amylase activity

1% soluble starch를 基質로 하여 그 5ml에 McIlvaine buffer solution (pH 5.6) 1ml와 증류수 1ml를 加한 다음, 酵素液 1ml를 넣어 40°C의 water bath에서 精確히 10分間 反應시켜 生成되는 還元糖量을 Fehling Lehman Schoorl⁽¹⁵⁾ 變法에 依해서 定量하고 이것을 amylase activity로 表示하였다. 이때 酵素液 1ml가 0.1mg의 還元糖을 生成하는 것을 amylase activity 1單位로 表示하였다.

3. 分析 및 定量方法

간장熟成中에 採取한 試料에 對한 比重, pH 및 化學成分은 다음과 같은 方法으로 測定 또는 分析하였다.

(1) Specific gravity: 標準比重計를 使用하여 採取한 試料의 比重을 測定하였다.

(2) total nitrogen: micro kjeldahl method⁽¹⁶⁾에 依하여 total nitrogen을 測定하였다.

(3) amino nitrogen: sample 50ml에 BaCl₂液 (244g/l) 8ml, AgNO₃液(57g/l) 40ml 및 H₂O 2ml를 加하여 除蛋白한 濾液中에서 50ml를 取하여 Sørensen Formol method⁽¹⁷⁾로 amino nitrogen 含量을 定量하였다.

(4) ammonia nitrogen: Wuerster 氏法⁽¹⁸⁾에 依하여 ammonia nitrogen 含量을 測定하였다.

(5) reducing sugar: Fehling Lehman Schoorl變法⁽¹⁵⁾에 依해서 還元糖을 測定하였다.

(6) total acid⁽¹⁹⁾ 試料 5ml를 採取하여 0.1N-NaOH로 滴定한 값을 lactic acid로 計算하였다.

(7) pH: 採取한 試料를 다시 120 mesh 체로 濾過하여 얻은 濾液을 試料로 하여 TOA HM-5A pH meter를 使用하여 pH를 測定하였다.

(8) 食鹽: 上澄液을 2% K₂CrO₄ 溶液을 指示藥으로 하여 N/50 AgNO₃ 溶液으로 滴定하여 食鹽含量을 定量하였다.

4. 食味試驗⁽²⁰⁻²³⁾

3個月 熟成시킨 간장을 一定量 採取하여, 20分間 加熱해서 달인 그대로의 原液을 官能檢査用 試料로 하였다. 食味試驗을 行한 panel은 서울大學校 農科大學 學生中에서 選定된 40名(男:20名,女:20名)으로 구성하여 官能檢査를 行하였다. 食味試驗은 色, 香氣, 맛의 세가지 種目으로 나누어 실시하되, 各 種目마다 6種의 간장 試料를 優良한 것부터 順位를 定한 後, 가장 不良한 試料에서 1點, 그 다음 것을 2點, 그 다음부터 차례로 1點씩 加算하여 가장 좋은 것에는 6點을 주어 順位得點

을 定한 다음, 各 種目得點에 간장맛의 重要度인 加重點(色 1, 香氣 4, 맛 5)을 곱하여 얻은 綜合 評點의 順位에 따라 試料의 嗜好順位를 決定하였다.

III. 結果 및 考察

1. 酵素力價

(1) Koji와 Natto의 酵素力價

大豆와 小麥을 10 : 6의 比率로 配合하여 Koji와 Natto를 製造하는 過程에서 經時的으로 採取한 試料에 對하여 protease activity 及 amylase activity를 測定한 結果는 Fig. 1과 같다. 即 Koji의 protease activity는 時間이 經過함에 따라 大體的으로 꾸준한 增加를 보이고 있으나, Natto의 protease activity는 24時間에 이르기까지 계속 急激한 增加를 나타내고 있다. 그리하여 Natto는 15時間을 經過時부터 벌써, 60時間 培養한 Koji의 酵素力價를 上廻하고 있어, 原料中의 蛋白質을 分解

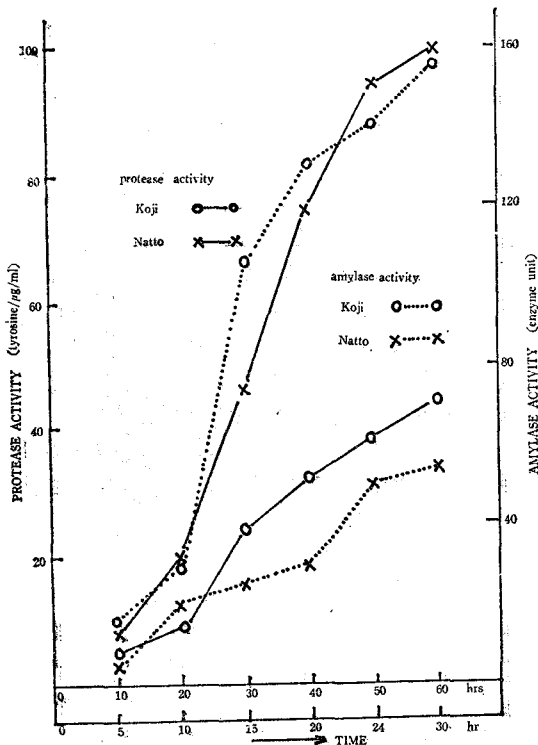


Fig. 1. Changes of protease and amylase activity during the preparation of Koji and Natto
Legend: Protease activity of Natto was measured until 30 hrs and that of Koji and amylase activity of Koji and Natto until 60 hrs at 10hr-interval after incubation.

시키기 爲한 protease source로는 Koji에 比較할수 없을 程度로 優秀함을 알 수 있다.

amylase activity는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 Natto에서는 50時間에 이르기까지 緩慢한 增加를 보이고 그 以後는 別變化가 없었으나 Koji에서는 10時間以後 30時間경까지 急激히 增加하나, 그 以後의 增加는 比較的 緩慢하다. Natto와 Koji의 amylase activity를 比較할 때 全般的으로 Natto에 比하여 Koji가 越等히 높아 原料의 澱粉質을 分解하는데 Koji가 絶對的으로 優秀함을 알 수 있다.

(2) 原料配合이 다른 各 試驗區의 酵素力價

Koji와 Natto의 配合比를 달리하여 만든 各 試驗區의 enzyme activity를 測定한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Enzyme activity in combined materials of Koji and Natto

Sample code	Combined ratio (Koji: Natto)	Protease activity (tyrosine μ g/ml)	amylase activity (enzyme unit)
A	10 : 0	40	150
B	8 : 2	44	145
C	6 : 4	64	135
D	4 : 6	69	110
E	2 : 8	75	100
F	0 : 10	95	55

即 Koji에 對하여 Natto의 配合量이 많은 區일수록 protease activity가 漸次 높아지나 反對로 amylase activity는 漸次 낮아지는 傾向을 볼 수 있다.

2. 간장熟成中 諸成分의 變化

Koji와 Natto의 配合比를 달리하여 간장을 담그어서 熟成되는 동안 20日마다 採取한 各 試驗區 試料의 比重 및 pH를 測定하는 同時에 그 成分變化를 定量한 結果는 Table 3~6 및 Fig. 2~6과 같다.

(1) 比重

간장熟成中의 간장맛의 比重은 Table 3에서 보는 바와 같이, 처음부터 끝까지 Koji의 配合量이 많은 區일수록 Natto 配合量이 많은 區에 比하여 大體로 若干 높으며 各 區 다 같이 熟成期間이 經過함에 따라 比重이 높아지고 있는데 그 增加率은 各 區間에 큰 差異가 없다.

이와같이 Koji配合量이 많은 區의 比重이 Natto 配合量이 많은 區의 그것보다 높은 것은 澱粉質이 主成分인 粉碎小麥이 Koji의 amylase의 作用을 받아 加水分解되어 쉽게 溶出되어 있는데 反하여,

Table 3. Changes of specific gravity during the aging of soysauces

Sample code	Days				
	10	30	50	70	90
A	1.118	1.122	1.128	1.128	1.129
B	1.116	1.119	1.126	1.128	1.128
C	1.116	1.117	1.124	1.128	1.127
D	1.112	1.117	1.123	1.125	1.124
E	1.105	1.106	1.115	1.118	1.120
F	1.098	1.100	1.106	1.109	1.112

Natto 配合量이 많은 區에서는 amylase activity 가 낮고 protease activity가 높다하여도 그 基質인 大豆는 微細하게 粉碎되지 않았으므로 그다지 protease의 作用을 받지 못하여 加水分解가 잘 되지 못하여 可溶成分이 잘 溶出되지 못하는데 起因하는 것으로 生覺되며 各 試驗區가 다같이 經時的으로 比重이 높아지는 것은 澱粉, 蛋白質等이 amylase, protease의 作用으로 加水分解된 것이 溶出되는 것⁽²⁴⁾과 一部 水分의 自然蒸發⁽⁶⁾로서 熟成液이 漸

次 濃縮되는 結果라고 생각된다.

(2) 總窒素

總窒素의 變化는 Fig. 2에서 보는 바와 같이, 各 試驗區가 다같이 熟成期間이 經過함에 따라 增加하는 경향을 보이고 있는데, 大體의으로 熟成50日까지는 變化가 크고 그 以後에는 變化가 적다. 그리고 全般的으로 Natto의 配合比가 많은 試驗區일 수록 높은 값의 總窒素量을 나타내고 있다. 以上의 結果로 부터 大體로 熟成 50日까지 蛋白質의 分解 및 溶出이 많고 그 以後는 緩慢함을 알수있다.

(3) amino 態窒素

amino 態窒素는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 어느 試驗區에서나 經時的으로 서서히 增加되고 있는데 그 增加樣相은 大體로 總窒素의 變化和 같으나, 熟成 50日以後의 增加率이 若干 높은 것이 다르다. 熟成初期에는 Natto 單用區인 F區가 가장 높은 값을 보이고 있고 Natto 配合量이 적을수록 낮은 값을 나타내고 있다.

熟成이 進行함에 따라 全區 다 같이 amino 態窒

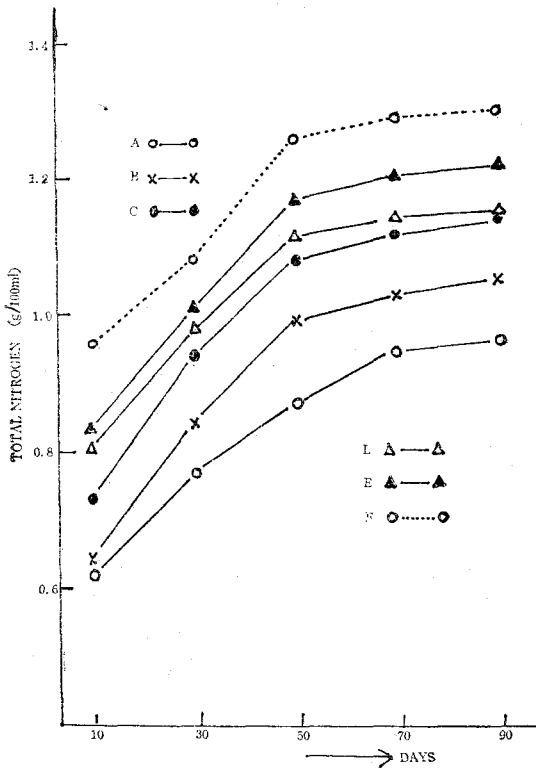


Fig. 2. Changes of total nitrogen during the aging period of soysauces

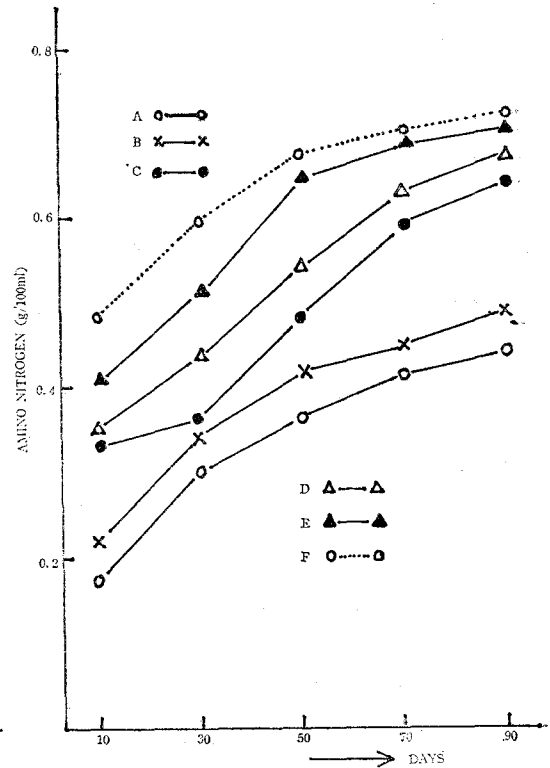


Fig. 3. Changes of amino nitrogen during the aging period of soysauces

소가 증가되고 있는데 C, D區는 熟成 2個月以後에도 계속 증가하고 있는데 반해, A, B E, F 區는 증가율이鈍化하고 있어 熟成 3個月以後에는 C~F 區間의 amino 態窒素含量的 차가 더욱 적어질 것으로 예상된다.

全般的으로 Natto 多量配合區가 Koji 多量配合區보다 더 높은 값을 보이는 것은 Natto 製造中 *Bacillus subtilis*의 protease activity가 높으므로 蛋白分解율이 높아 低分子 peptide 내지는 amino 酸이 多量 생기게 되어 當然 amino 態窒素의 生成량이 많기 때문이라고 생각된다.

(4) ammonia 態窒素

ammonia 態窒素의 變化는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 熟成初期에는 各試驗區가 共通的으로 증가하고 Natto 配合량이 많을수록 그 증가율이 높다.

그리고 Koji 單用區는 始終 大體로 같은 傾向으로 증가하고 있으나, Natto 單用區와 Natto 配合비가 많아질수록 熟成 30~50日頃에 증가율이鈍化되었다가 50~70日以後에는 오히려 減少되는 傾向을 보였다. Natto 單用區는 熟成 30日이 되었을 때

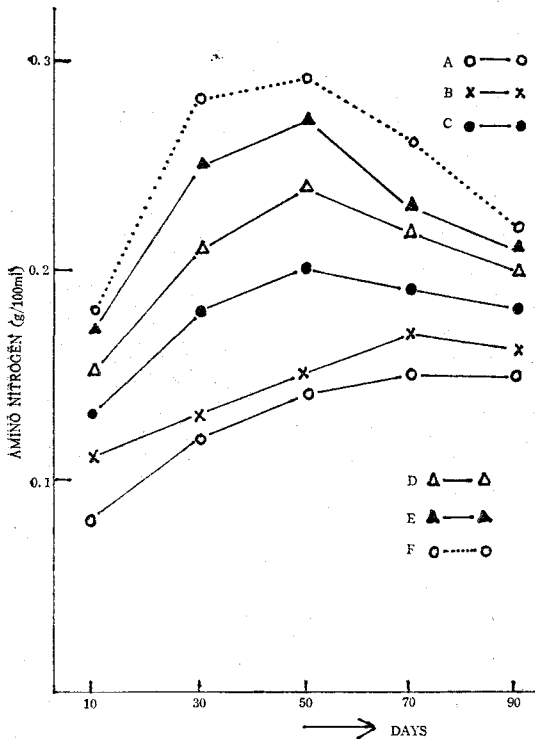


Fig. 4. Changes of ammonia nitrogen during the aging period of soysauces

증가율이鈍化되고 50日 經過以後에는 顯著的 減少傾向을 나타내고 있다. 그리하여 모든 試驗區가 熟成末期에 가서는 ammonia 態窒素含量的 차가 적어지는 傾向으로 變化되고 있다. 熟成初期 Natto 配合량이 많은 試驗區일수록 ammonia 態窒素의 含量이 많은 것은 納豆配合量에 比例하여 生成된 遊離 ammonia 態窒素가 많이 溶出되어 나온 때문이며, 30~50日以後에 減少된 것은 ammonia 態窒素의 生成은 적어지는 한편, 熟成中에 계속 揮發되어 全體的으로 적어지는 傾向을 보이며 90日以後에는 大體로 같은 含量으로 가까워지는 것으로 추측된다. 本實驗에서 24時間만에 出麩하여 ammonia 態窒素量을 分析한 結果는 16%의 값을 나타냈는데 이것은 納豆製造中 20時間頃에 測定한 ammonia 態窒素량이 11%, 12~15%였다는 中島⁽²⁵⁾, 金等⁽²⁶⁾의 報告와 比較할 때 若干 많은 것이다.

(5) 還元糖

熟成中の 還元糖變化는 Fig. 5에서 보는 바와 같이 各試驗區가 共通的으로, 담근 後 70日頃까지는 계속 增加現象을 보이다가 그 以後부터는 急激히 減少하는 傾向을 나타내었다. 이것은 金⁽⁹⁾, 張⁽²⁴⁾ 등이 報告한 바와 같이 熟成初期에는 微生物이 分泌한 amylase가 多糖類에 作用하여 漸次 糖量은 增加되나, 醱酵性單糖類인 glucose 등이 alcohol 醱酵과 有機酸醱酵을 계속 하게 됨으로써 熟成中 相當量의 還元糖이 소모되어 減少現象을 나타내는 것이라고 생각된다.

그리고 還元糖이 減少되는 熟成 70日以後 부터 有機酸量이 顯著하게 增加하는 結果는 이것을 잘 뒷받침하여 주고 있다. 處理區間別로 볼 때 熟成 3個月頃까지 계속 Koji 單用區에서의 糖量이 가장 많았으며 Natto 配合비가 많고 Koji 配合량이 적은 區일수록 糖含量이 낮았는데 이것은 Koji의 強力한 amylase에 起因하는 것으로 解釋된다.

(6) 總 酸

熟成中 總酸의 變化는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 Koji 單用區는 全熟成期間을 通하여 大體로 緩慢한 增加를 나타내고 있으나 Natto의 配合량이 많아질수록 熟成 50日까지는 顯著的 增加를 보이고 그 以後부터는 Natto 配合량이 比較的 낮은 區는 緩慢하게 增加하나 Natto 配合량이 많으면 오히려 減少하는 傾向이 크다.

그러나, 이와같은 傾向을 나타내는 것은 F 區쪽 으로 갈수록 ammonia 態窒素가 많이 생기게 되는 데 이것에 依하여 酸이 中和되므로 NaOH로 滴定

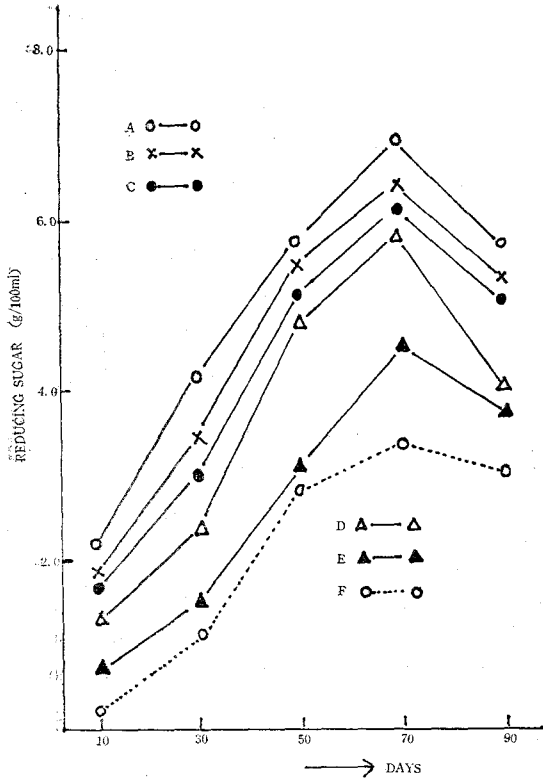


Fig. 5. Changes of reducing sugar during the aging period of soysauces

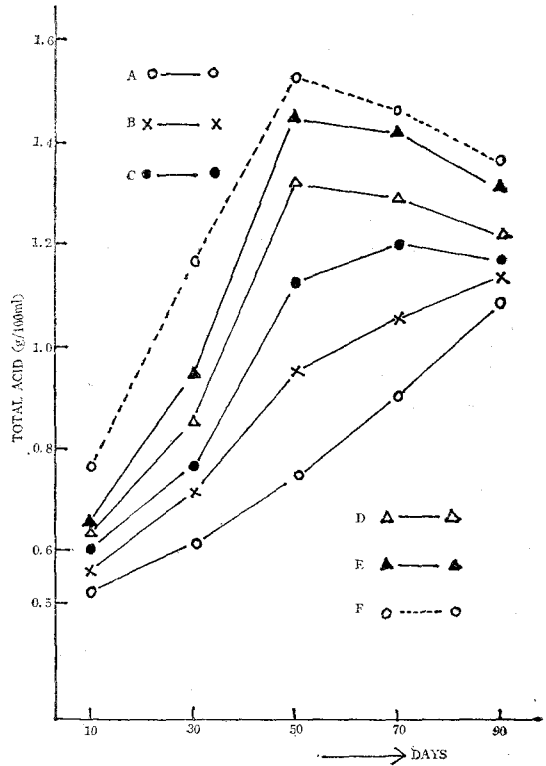


Fig. 6. Changes of total acid during the aging period of soysauces

한 값으로는 적게 나온 것이 아닌가 생각된다.

(7) pH

pH의 변화는 Table 4에서 보는 바와 같이 各區의 pH는 全熟成期間을 통하여 始終 Koji의 配合比가 많을수록 比較的 높은 값을 보이고 있으나, 全區가 다같이 熟成 50日까지는 大體로 漸次 낮아졌다가 그 以後부터는 약간 상승하는 추세를 보이고 있다. 이러한 pH의 변화는 有機酸의 변화와 大體로 一致하는 경향이기는 하나 細菌간장덧中の 여러가지 成分에 起因한 緩衝作用 등으로 반드시 合致되지 않는 것으로 生覺된다.

(8) 食鹽

食鹽量은 Table 5에서와 같이 全熟成期間을 통하여 漸次 增加하였으며 Natto 또는 Koji配合比에 따른 各區間의 增加傾向에 別差異를 볼 수 없었다 이것은 단지 간장덧液中的 水分이 蒸發되어 濃縮되는 結果로 食鹽의 濃度가 增加되는 것으로 生覺된다.

Table 4. Changes of pH during the aging of soysauces

Sample code	days				
	10	30	50	70	90
A	6.0	5.4	4.8	4.9	5.1
B	6.0	5.3	4.7	4.8	4.9
C	5.9	5.1	4.6	4.5	4.8
D	5.8	4.8	4.3	4.4	4.7
E	5.4	4.6	4.2	4.2	4.3
F	5.2	4.4	4.0	4.0	4.2

4. 官能檢査結果

Koji와 Natto의 配合比를 달리하여 담그어서 3個月間 熟成시킨 간장덧液을 떠서 달인 간장原液에 對하여 評價한 食味試驗結果는 Table 6과 같다.

即 이 結果를 보면 C (Koji: Natto=6:4)가 가장 優良하였고 그 다음이 B, A, D, E의 順序이며 Natto單用區인 F區가 가장 不良하였다. 이들 試料間의 差異에 對한 順位結果를 t-檢定法(위험률:

Table 5. Changes of salt during the aging of soysauces^a (%)

Sample code	days				
	10	30	50	70	90
A	16.2	16.9	17.5	18.4	19.0
B	16.1	16.5	16.9	18.1	18.8
C	15.4	16.4	16.7	17.9	18.5
D	15.0	16.2	16.4	16.9	18.2
E	14.8	15.8	16.2	16.7	17.5
F	14.7	15.2	15.7	16.1	16.5

Table 6. Sensory evaluation of soysauces

Sample code	ΣX	taste order
A	124	3
B	116	2
C	80	1
D	158	4
E	170	5
F	194	6

5%)에 의하여 有意性を檢定한 結果, 가장 優良한 C區와 各試料間에 有意성이 인정되었다. 以上の 官能檢査結果의 成分을 綜合하여 볼 때 豫想한대로 Koj와 Natto를 6:4로 配合한 C區는 protease와 amylase가 比較的 強力하게 作用하여 가장 適當한 量의 amino 態化合物과 糖이 生成되고 適當한 酸과 아울러 맛이 잘 調和된 結果라 生覺되며 B區와 A區는 Natto의 配合量이 적든가 또는 전혀 없으므로 protease activity가 弱하여 蛋白質分解生成物이 적게 생겨 맛이 덜하고 D區, E區 및 F區는 反對로 protease는 強하나 amylase activity가 낮아 糖의 生成이 적으므로 甘味が 낮아 우리나라 國民의 嗜好로서 不利한 것으로 生覺되며 특히 F區는 Natto가 내는 納豆特有의 냄새때문에 그 嗜好도가 낮은 것이라 生覺된다. 以上の 結果로 볼 때 最小限 우리나라 國民의 嗜好上으로 볼 때 從來의 Koji만 使用하는 간장보다 Natto를 一定量 配合하여 만든 간장이 優秀함을 알 수 있고 成分上으로 볼 때 蛋白質分解와 澱粉分解로서 생긴 peptide, amino acid 그리고 糖分이 調和를 이루면서 比較的 많은 量이 含有되어 있어 營養의으로도 有利하여 優秀한 調味料로서 製造普及할 必要가 있을 것으로 判定되는 바이다.

그리고 從來 우리들이 Koji를 全的으로 單用하는 간장을 만들기 위하여 Koji를 만들 때, 잘못되어 Natto가 오염되던 失敗한 것으로 看做되어 왔

으나 部分的으로 Natto菌이 차란 것도 別支障이 없은 것으로 보이며 이 境遇에 對한 評價도 다시 檢査 必要가 있을 것이다.

IV. 要 約

*Aspergillus sojae*를 使用하여 製造한 Koji와 *Bacillus subtilis*를 使用하여, 製造한 Natto의 配合比를 달리하여, 그 酵素力價를 檢討하고 Koji와 Natto의 配合比를 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, 0:10으로 하여 담근 간장을 3個月間 熟成시키면서 熟成期間中의 化學成分變化를 調查하고 3個月間 熟成시킨 간장덧液에 대하여 食味試驗을 行하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Koji 製造中의 protease activity는 時間이 經過함에 따라 꾸준한 增加를 보여 60時間에 가서 44 tyrosine $\mu\text{g/ml}$ 인데 비해 Natto 製造中의 protease activity는 急激한 增加를 보여 培養 15時間만에 이미 46 tyrosine $\mu\text{g/ml}$ 였으며, 30時間 培養으로 99 tyrosine $\mu\text{g/ml}$ 에 이르렀다. 한편, amylase activity는 Natto 製造中 時間이 經過함에 따라 若干의 增加를 보였으나 Koji 製造中에는 30時間頃까지 急激한 增加를 보이고 그 以後 比較的 緩慢하게 增加하였으나 全期間을 通하여 Natto에 比하여 越等히 높았다.

2. Koji와 Natto를 一定한 比로 配合하였을 때 protease activity는 Natto의 配合量이 많을수록 漸次 높았고 amylase activity는 Koji의 配合量이 많을수록 높아졌다.

3. 總窒素는 모든 試驗區에서 熟成 2個月頃까지 急激한 增加를 보이다가, 그 以後 거의 一定值를 維持하였으며 Natto 配合比가 많은 試驗區일수록 높은 값을 보이면서 增加하였다.

4. amino 態窒素는 全區가 다같이 熟成期間이 經過함에 따라 大體로 增加되었는데 그 含量은 Natto의 配合量이 많은 區일수록 높은 값을 나타냈다.

5. ammonia 態窒素는 Koji 單用區 및 Koji와 Natto의 配合比가 8:2인 區는 熟成期間이 經過함에 따라 계속 大體로 緩慢한 增加를 보였으나 Natto 單用區 및 Koji와 Natto의 配合比가 6:4, 4:6, 2:8인 區는 熟成 1~2個月까지는 急激히 增加하였다가 그 以後는 減少되었는데 全般的으로 Natto의 配合比가 많을수록 높은 含量을 보였다.

6. 還元糖은 모든 區가 熟成 2個月까지 大體로 顯著하게 增加되었으나 그 以後는 減少되었는데 全區 다같이 還元糖의 含量은 Koji의 配合比가 많을

수익 높았다.

7. 總酸은 Koji 單用區 및 Koji와 Natto의 配合比가 8:2인 區는 熟成期日이 지남에 따라 계속 增加되었으나 Natto의 配合量이 比較的 많은 區일수록 熟成 50~70일頃까지 急激한 增加를 보이다가 그 以後는 減少하였다.

pH는 全區 다같이 熟成 50日까지 低下되었다가 그以後 큰 變化가 없었다.

8. 3個月 熟成시킨 간장에 對한 官能試驗結果는 Koji와 Natto의 配合比가 6:4일때 嗜好度가 가장 높았고 이들 配合比가 8:2, 10:0, 4:6, 2:8, 0:10의 順序로 낮았으며 Natto를 一定量 配合한 것이 Koji 單用區와 Natto 單用區보다 優秀함을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

1. 日野, 角田: 日本農藝化學會誌 31, 17 (1957).
2. 上野, 倉持平: *ibid.*, 35, 454 (1961)
3. 外山, 赤塚: 日本醱酵工學雜誌 42, 356(1964).
4. 金載勛, 趙武濟: 韓國農化學會誌 14, 19 (1971).
5. 李陽熙: 特許 216號, 公告番號 70~133(1970).
6. 朱鉉圭等: 韓國食品科學會誌 4, 276 (1972)
7. 朴啓仁等: 韓國微生物學會誌 9, 74 (1971)
8. 金載勛: 農產加工學(鄉文社) p. 162 (1972)
9. 金載勛: 韓國農化學會誌 11, 35 (1969).
10. 金載勛: 農產加工學 鄉文社 p. 166. (1962)
11. 荻原文二: 標準生化學實驗(日本, 文光堂) 9, 207(1953).
12. Colowick, S.P. and Kaplan, N.O.: Methods in Enzymology Vol. III, p. 469 (1957).
13. Anson, M.L.: Journal of General physiology 22, 79 (1938).
14. 東京大學農學部編: 實驗農藝化學 上卷 p' 283 (1970).
15. *ibid.*, p. 587 (1952).
16. *ibid.*, 別卷 157 (1961).
17. A.O.A.C.: Method of Analysis of the A.O.A.C, 9th ed. p. 430 (1960).
18. *ibid.*, 9th ed. p. 13, (1960).
19. 東京大學農學部編: 實驗農藝化學 別卷 p. 156 (1961).
20. 金載勛: 食品加工實驗實習法(鄉文社) p.110 (1973).
21. 杉田登, 吉田忠夫: 日本醱酵工學誌 35, 506 (1957).
22. 吉川誠次: 食品의 官能檢査法(光林書院) p. 105 (1967).
23. 齊藤進, 狩野總子: 食品學實習實驗書 p.78.
24. 張智鉉: 韓國農化學會誌 6, 9 (1965).
25. 中島顯三: 日本農藝化學會誌 19, 155(1941).
26. 金洙榮·金載勛: 韓國農化學會誌 8, 11 (1967)