

간장의 저장 중 갈색화반응에 대한 산소의 영향

박승규·한창근·경규항·유양자*
세종대학교 식품공학과, *가정학과

Effect of Oxygen on the Browning of Soy Sauce During Storage

Seung-Kyu Park, Chang-Geun Han, Kyu-Hang Kyung and Yang-Ja Yoo*
Department of Food Science and *Department of Home Economics, King Sejong University, Seoul

Abstract

Raw soy sauce and raw soy sauce added with several Maillard reactants (glucose, xylose, glycine), preheated or unheated, were stored under aerobic or anaerobic conditions to investigate the effect of oxygen on the browning of soy sauce. All experimental groups, except xylose-added groups, stored under aerobic condition browned about 2.5 times as much as those stored under anaerobic condition. Soy sauce added with xylose stored under aerobic condition browned about 1.5 times as much as that stored under anaerobic condition. Contrarily, there have been no consistent differences in the browning except the initial 10% difference between preheated and unheated samples, implying that biological (microbiological and enzymatic) browning was not important in the browning of commercially brewed soy sauce.

Key words: soy sauce, browning, aerobic, anaerobic

서 론

간장의 갈색은 주로 비효소적 갈변반응으로서 간장 중의 아미노산과 환원당의 반응으로 생성되는데^(1,2) 산소 존재하에서의 갈변은 때로는 간장의 맛이나 풍미에 악영향을 주기 때문에 바람직하지 않은 현상이다⁽¹⁾. 이같은 아미노-카르보닐(마이야르) 반응은 외부로부터 에너지의 공급이 없이 자발적으로 일어나는 반응이며^(3,4) 산소를 요구하지 않는다고 알려져 있다⁽⁴⁾.

마이야르반응은 산소를 요구하지 않으면서 자발적으로 일어난다고 하나 간장이나 당-아미노산 model system의 갈변에 산소가 미치는 영향에 대해서는 상이한 결과가 보고되고 있다.

먼저 Hodge⁽⁶⁾와 Meyer⁽⁷⁾는 마이야르반응에 산소가 관련이 없다고 하였고 Hashiba⁽⁸⁾는 간장을 산화시켰을 때 갈색이 증가하지 않았다고 보고하였다.

한편 Okuhara 등⁽⁹⁾은 간장을 희석하여 공기에 노출시키면 탈색이 되어 색이 옅어진다고 했고 Hashiba⁽⁹⁾는 간장 model system을 만들어 혐기적 상태와 호기적 상태로 37°C에서 2주일간 저장하였을 때 호기적 상태에서

보다 혐기적 상태에서 더 많은 갈변이 일어났다고 보고하였다.

다른 한편으로는 산소가 간장의 갈변이나 마이야르반응을 촉진시킨다는 보고가 있는 바 우선 마이야르반응시 중간생성물로서 hydroxymethyl furfural(HMF)이 생기는데 이 물질은 반응성이 매우 큰 물질이며 상온에서도 공기와 접촉되면 자동산화에 의해 중합되어 흑색의 착색물질을 만든다고 하였다⁽³⁾. 또 간장을 이용한 연구에서 간장을 저장할 때 공기와 접촉하면 색깔이 더욱 짙어졌고^(10,11) 濃口(koikuchi) 간장은 산소가 없어도 착색이 되나 산소가 있으면 색이 더욱 짙어졌으며 淡口(usukuchi) 간장은 산소가 있어야 착색이 된다고 보고하였다⁽¹²⁾. Yokotsuka⁽²⁾는 농구간장이나 담구간장을 유리병이나 기타 공기가 통하지 않도록 포장 저장하면 색깔을 안정하게 유지하는 한편 포장을 열어서 공기와 접촉하게 하면 산화적 비효소적 갈변의 결과 급속하게 착색된다고 하였다.

본 연구에서는 산소의 존재가 간장의 갈변에 미치는 영향을 좀 더 명확히 규명하기 위하여 발효숙성 직후의 생간장을 산소와 접촉할 수 있는 조건과 그렇지 않은 조건에서 장기간 저장하면서 색깔의 변화를 조사하였다.

Corresponding author: Kyu-Hang Kyung, Department of Food Science, King Sejong University, Kunja-dong, Sungdong-gu, Seoul 133-150

재료 및 방법

재료

상업적 간장양조회사에서 제공받은 생간장을 기본시료로 사용하였으며 마이야르반응 물질의 영향을 조사하기 위하여 포도당, 자일로오스 및 글리신을 0.3몰씩 기본시료에 첨가하였다.

시료액의 가열

시료간장액을 저장하기 전에 효소작용에 의한 갈변여부와 가열에 의한 갈변촉진여부를 확인하기 위하여 위의 각 실험군을 80°C에서 30분간 물중탕한 시료군과 가열하지 않은 대조군으로 나누었다.

시료액의 저장

호기적인 시료군은 500 ml 비이커에 500 ml의 시료를 넣은 후 지속적인 산소공급을 위해 비이커 입구를 식용 비닐 랩으로 덮었으며 시료를 취할 때마다 1분 동안 저어줌으로써 산소공급을 촉진시키며 시료액을 균일하게 섞이게 하였다.

혐기적 조건의 시료군은 300 ml 삼각플라스크에 300 ml씩의 시료액을 넣고 고무마개를 하였다. 고무마개에는 구멍을 두 개 뚫고 플라스크 바닥까지 내려간 긴 유리관을 통해 질소가스를 공급해 주고 고무마개 바로 밑까지 내려간 다른 짧은 유리관을 통하여 질소가스가 배출되도록 장치하였으며 저장시험기간 초기에는 질소가스를 불어넣어 플라스크내의 공기를 몰아낸 후 외부로 연결된 고무관을 핀치클램프로 집어주어 공기와의 접촉을 막았다. 저장 중 혐기적 시료를 취하기 전에 1분간 질소가스를 불어 넣어 주므로써 시료액을 혼합하는 효과를 얻었다.

시료는 30°C의 암실에서 상대습도를 95% 이상으로 하여 저장하므로써 시료액의 증발에 따른 부피의 감소를 최소화하였다.

갈변의 측정

매 1주일마다 시료액 약 2.5 ml를 취하여 증류수로 적절히 희석한 후 490 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 흡광도 측정에 영향을 줄 수 있는 고형물질을 제거하기 위하여 흡광도 측정 전에 membrane filter(0.2 μ m, 25mm in diameter; Gelman Sciences, Inc.)로 걸렀다.

결과 및 고찰

산소의 영향

간장을 호기적 조건에 저장하였을 때에는 혐기적 조건에 저장하였을 때에 비해 자일로오스 첨가구(약 1.5배 정도)를 제외하고는 대체로 약 2.5배 정도의 갈변이 일어나서(Fig. 1, 2 및 Table 2) 산소의 존재가 간장의 갈변에 큰 영향을 준다는 사실이 관찰되었다. 이와 같은 산소의 갈변촉진현상은 간장액에 환원당(포도당, 자일로오스)이나 아미노산(글리신)을 첨가하였을 때에도 마찬가지였으며 저장하기 전에 가열한 시료나 가열하지 않은 시료나 같은 경향이였다.

가열하지 않은 경우 호기적 조건에 저장한 시료를 혐기적 조건에 저장하였던 시료와 비교하면(Table 2; 저장 최초 90일 기준) 대조군은 2.83배, 포도당 첨가구는 2.57배, 자일로오스 첨가구는 1.58배, 글리신 첨가구는

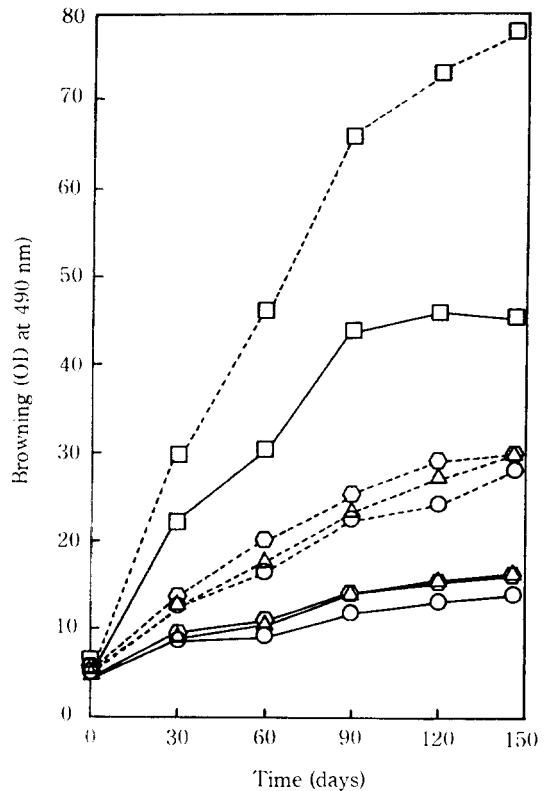


Fig. 1. Browning of preheated raw soy sauce depending on the storage condition.-----aerobic, — anaerobic condition

○ Control, △ Glucose (0.3M), □ Xylose (0.3M), ○ Glycine (0.3M)

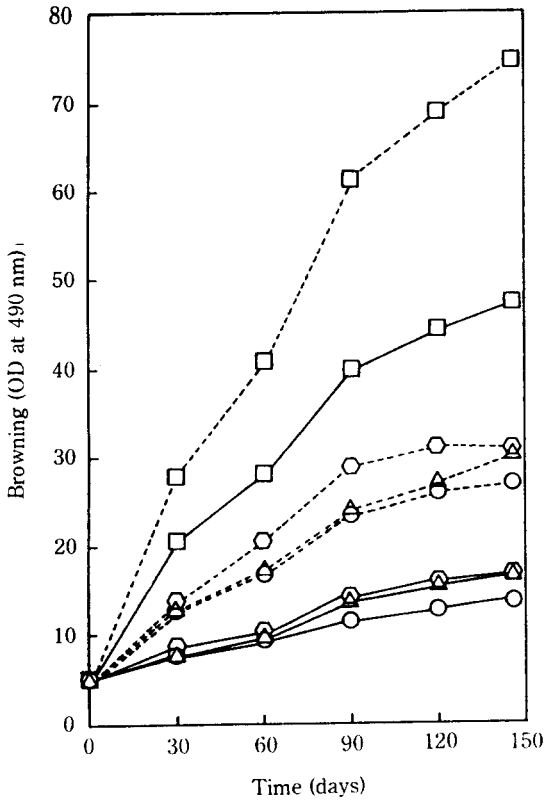


Fig. 2. Browning of unheated raw soy sauce depending on the storage condition
 ----aerobic, — anaerobic conditions. ○ Control, △ Glucose (0.3M), □ Xylose (0.3M), ○ Glycine (0.3M)

2.56배의 갈변이 일어났다. 그리고 80°C에서 30분간 가열처리한 시료의 경우는 호기적 조건에 저장하였을 때 혐기적 조건에 저장하였을 때보다 대조구는 2.67배, 포도당 첨가구는 2.25배, 자일로오스 첨가구는 1.56배, 글리신 첨가구는 2.50배의 갈변이 일어났음이 관찰되었다. 이와 같은 현상은 저장 초기부터 갈변이 비교적 직선으로 증가하는 저장 90일까지 대체로 비슷하였음을 Fig. 1과 2로부터 알 수 있다.

Fig. 1과 2에서와 같이 직선적으로 증가하던 갈변의 속도가 변하는 경우가 있는데 이것은 불용성 침전물의 생성 때문인 것으로 사료된다. Kacem⁽¹³⁾은 갈변폭선이 구부러진 모양을 띄는 것은 반응자체가 그런것인지 또는 갈색색소가 중합되기 때문인지는 확인할 수 없었으나 시료에서 침전이 관찰되었다고 보고하였다. 본 연구에서도 시료에 따라 정도는 다르나 membrane filter에 침전이 걸러지는 것이 관찰되었다.

따라서 산소가 마이야르반응이나 간장의 갈변에 촉진 작용을 한다고 보고한 김⁽³⁾, Hashiba^(9,10,14), Motai⁽¹¹⁾, 茂田과 井上⁽¹²⁾, 鎌田과 櫻井⁽¹³⁾ 및 Yokotsuka⁽²⁾의 보고와 본 연구결과는 일치한다는 사실을 알 수 있다. 이와 같은 현상에 대한 설명으로는 마이야르반응 중에 생성된다고 알려진 HMF가 산소에 의해 산화되어 갈색중합물질을 만든다는 내용⁽³⁾ 및 갈변과정 중에 생성되는 Amadori compound가 산소에 의한 갈변에 중요한 작용을 할 것이라는 추측⁽¹⁴⁾이 있었다. 그러나 마이야르갈변반응이 산소와는 무관하다는 Hodge⁽⁶⁾와 Meyer⁽⁷⁾의 주장과는 달랐다.

한편 간장을 희석하여 공기 중에 노출시키면 탈색이 되어 색깔이 옅어진다고 보고한 Okuhara 등⁽⁸⁾의 보고나 환원당, 아미노산, 유기산 및 식염으로 조합한 간장

Table 1. Effects of air and preheating on the browning and on the rate of browning of raw soy sauce during storage at 30°C

	Browning ^{a)} accumulated during the 1 st 90 days of storage (preheated/unheated)		Rate ^{b)} of browning during the 1 st 90 days (preheated/unheated)	
	Aerobic	Anaerobic	Aerobic	Anaerobic
Control (Raw soy sauce)	16.0/17.0	6.0/6.0	0.18/0.19	0.07/0.07
Control + 0.3M xylose	61.0/56.0	39.0/35.5	0.68/0.62	0.44/0.39
Control + 0.3M glucose	18.0/18.0	8.0/7.0	0.20/0.20	0.09/0.08
Control + 0.3M glycine	20.0/23.0	8.0/9.0	0.22/0.26	0.09/0.10

^{a)}OD₄₉₀ of soy sauce on the 90th day-OD₄₉₀ of the original raw soy sauce

^{b)}Browning accumulated during the first 90 days of storage ÷ 90 days

model system을 혐기적인 조건에 저장하였을 때 호기적인 조건에서 숙성시킨 때보다 갈변이 더 많이 일어났다는 보고⁽⁹⁾는 본 연구결과와 반대되는 결과를 나타냈으나 Hashiba⁽⁹⁾는 산소의 존재하에서 산화적 갈변이 일어난다는 사실은 인정하였다.

간장을 100°C에서 24시간 동안 가열하였을 때 공기를 공급해 주거나 질소가스를 공급하여도 갈변에 차이가 없었는데 (data not shown) 이는 이와 같은 높은 온도에서는 갈변작용에 영향을 줄 수 있을 만큼의 산소가 간장에 용해되지 못했기 때문으로 생각된다. 따라서 간장이나 마이야르반응에 미치는 산소의 영향을 연구하고자 할 때는 비교적 낮은 온도에서 장기간에 걸쳐 시험하여야 할 것으로 사료된다.

반응물질 첨가의 영향

생간장액에 마이야르반응 물질(포도당, 자일로오스, 글리신)을 첨가하였을 때 자일로오스 첨가군을 제외하고는 갈변속도 및 갈변정도에 큰 영향이 없었다. 자일로오스(0.3몰)를 첨가하였을 때 갈변속도가 대단히 빨라져서 저장시험 최초 90일 동안의 갈변속도가 호기적 비가열 시료일 때 0.62 OD/일, 호기적 가열시료일 때에는 0.68 OD/일, 혐기적 비가열시료는 0.39 OD/일이었고 혐기적 가열시료는 0.44 OD/일이었는데 기타의 다른 갈변반응 물질을 첨가하였을 때는 갈변이 뚜렷한 영향을 주지 못하여서 갈변속도가 대체로 비슷하였으나 (Table 1) 글리신의 영향은 비교적 큰 편이었다. 이와 같은 결과는 글리신을 첨가하였을 때 착색이 증가하는 것과 포도당을 첨가하였을 때 큰 영향이 없었다는 결과는 같으나⁽¹³⁾ 자일로오스를 첨가하였을 때 본 연구에서는 갈색이 현저히 증가하였던 것과는 달리 鎌田과 櫻井⁽¹³⁾는 영향이 없었다고 하였다. 그러나 자일로오스는 마이야르반응에 매우 강한 반응물질로 알려져 있음은 일반적인 사실^(3,16)이므로 이들의 결과를 설명하기는 어렵다고 본다. Okuhara 등⁽⁸⁾은 간장에 포도당을 첨가하여도 갈변속도에 영향을 주지 않았다고 하여 본 연구결과 및 鎌田과 櫻井⁽¹³⁾의 보

고와 그 내용이 일치하였다.

가열처리의 영향

간장액의 저장시험을 하기 전에 80°C에서 30분간 가열 처리하였을 때 (OD=5.5)에 가열하지 않은 원래의 생간장액의 갈색 (OD=5.0)과 비교하였을 때 초기갈변값에는 약 10% 정도의 차이가 있었을 뿐 저장시험기간 동안의 갈변에는 영향을 주지 않았다. 저장시험 최초 90일 동안에 축적된 갈변정도 (Table 1)를 보면 가열처리 유무가 호기적 조건이나 혐기적 조건에 저장한 간장의 갈변에 유의할 만한 영향을 주지 않았음을 알 수 있다. Hashiba⁽⁶⁾는 가열처리를 하여도 간장이 갈색이 증가하지 않았다고 보고하였던 바 이는 간장을 가열 (pasteurization) 하였을 때 갈색이 증가한다는 四方⁽¹⁷⁾ 및 Okuhara 등⁽⁸⁾의 결과는 물론 본 연구의 결과와도 상이하였다.

한편 간장을 가열하였을 때와 가열하지 않았을 때 갈색의 차이가 크지 않았던 점으로 미루어 보아 효소에 의한 갈변도 기대하기 어렵다. 만일 효소나 기타 미생물에 의한 갈변이 간장 갈변작용의 중요한 부분을 차지한다면 가열처리한 시료와 비가열처리한 시료의 갈변증가에는 유의할 만한 차이가 있었어야 하기 때문이다. 海老根⁽¹⁸⁾은 간장의 갈변에 효소의 작용이 있을 수 있다고 하였고 Motai⁽¹¹⁾도 간장의 갈변에 효소적 갈변의 가능성은 있으나 *Aspergillus soyae*에 의한 tyrosinase의 생산은 증명되지 않았다고 밝혔다. 박과 경⁽¹⁹⁾은 한국 재래식 된장으로부터 티로신을 산화하여 갈변을 일으키는 세균의 존재를 보고한 예가 있고 정⁽²⁰⁾은 재래식 메주로부터 분리한 *Bacillus subtilis*가 여러 가지 미생물배지에 갈변을 일으켰다고 보고했으나 발효 및 숙성 등의 과정이 잘 통제된 상업용 양조간장에 이러한 세균이 뚜렷한 영향을 주리라고 예측하기란 어렵다. 김 등⁽²¹⁾은 국군의 균주를 달리해 된장을 만들어 본 결과 균주에 따라 갈변정도가 달랐다고 하였으며 이는 국군이 생산해내는 산화효소에 의한 작용일 수 있다고 설명하였다. 한편 김 등⁽²¹⁾과 유

Table 2. Ratio of accumulated browning^{a)} of soy sauce depending on the storage conditions

	Ratios of browning of preheated soy sauce (O) ₁ aerobic/(O) ₂ anaerobic	Ratios of browning of unheated soy sauce (O) ₁ aerobic/(O) ₂ anaerobic
Control	2.67(16.0/6.0)	2.83(17.0/6.0)
Control + 0.3M xylose	1.56(61.0/39.0)	1.58(56.0/35.5)
Control + 0.3M glucose	2.25(18.0/8.0)	2.57(18.0/7.0)
Control + 0.3M glycine	2.50(20.0/8.0)	2.56(23.0/9.0)

^{a)}Browning accumulated during the 1st 90 days was compared.

사하게 균주에 따라 미소의 갈변정도가 다른 것을 관찰한 海老根⁽¹⁸⁾은 단백질 분해효소의 역가가 높은 국균이 미소를 강하게 착색시켰음을 알았고 이는 미소 중에 peptide 나 아미노산이 증가하고 이들이 당과 반응하기 때문이라고 김 등⁽²¹⁾과는 다른 방향으로 설명하였다.

본 연구의 결과로 볼 때 간장을 발효시키는 동안은 알 수 없으나 저장하는 동안에는 생물학적인 갈변은 중요하지 않다는 사실을 알 수 있었다.

요 약

간장의 갈변에 산소가 미치는 영향을 연구하였다. 발효속성이 종료된 직후 여과한 생간장에 환원당(포도당, 자일로오스)과 아미노산(글리신)을 첨가한 것과 이들을 첨가하지 않은 대조시료를 호기적 조건과 혐기적 조건에서 저장(30℃, 150일)하면서 갈색화반응의 차이를 관찰하였던 바 호기적 조건에서는 혐기적 조건에서보다 약 2.5배(단, 자일로오스 첨가구는 약 1.5배)의 갈변이 일어났다. 간장을 80℃에서 30분간 열처리하고 저장하였을 때는 가열하지 않았을 때에 비해 초기갈변값이 약 10% 정도 증가하였을 뿐 저장시험기간 동안에 열처리 유무가 갈변에 영향을 주지 않았으며 따라서 상업적으로 양조한 간장에서는 미생물이나 효소 등에 의한 생물학적인 갈변은 중요하지 않았다.

감사의 말

이 연구는 한국학술진흥재단의 1989년 자유공모과제 연구비 지원으로 수행된 것으로 이에 감사드리는 바입니다.

문 헌

1. Hashiba, H.: Non-enzymatic browning of soy sauce. Comparison of the browning of soy sauce with that of a sugar-amino acid model system. *Agr. Biol. Chem.*, **36**(3), 390(1972)
2. Yokotsuka, T.: Soy sauce biochemistry. *Adv. Food Res.*, **36**, 195(1986)
3. 김동훈: 식품화학, p. 322. 탐구당(1971)
4. 이서래, 신효선: 최신 식품화학, p. 255, 신광출판사(1985)
5. 橋場弘長: 醬油の褐變物質(タラフィジソ)にフムコ農化, **47**, 727(1973)

6. Hodge, J.E.: Dehydrated foods; chemistry of browning reactions in model systems. *Agr. Food Chem.*, **1**, 928(1953)
7. Meyer, L.H.: *Food Chemistry*. Litton Educational Publ. Inc., p.109(1978)
8. Okuhara, A., Nakajima, T., Tanaka, T., Saito, N. and Yokotsuka, T.: Color of soy sauce. *J. Ferment. Technol.* **47**, 57(1969)
9. Hashiba, H.: Effects of ageing on the oxidative browning of sugar-amino model systems. *Agr. Biol. Chem.*, **38**, 551(1974)
10. 橋場弘長: 醬油の褐變物質について農化, **45**, 29(1971)
11. Motai, H.: Browning of shoyu. *Nippon Shokubin Kogyo Gakkaishi*, **23**, 372(1976)
12. 茂田井宏, 井上進: 醬油の色の變化褐變, *農化*, **48**, 329(1974)
13. 鎌田宋基, 櫻井芳人: 大豆製品の着色に関する研究(第4報)みそ, しょうゆの色の生成とアミノ酸-糖あるいはアミノ酸-フルフラールの着色反応との関係, *農産加工技術研究會誌*, **6**, 104(1959)
14. Kacem, B., Cornell, A., Marshall, M.R., Shire, R.B. and Matthews, R.F.: Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange drinks-Effects of ascorbic acid, amino acids and oxygen. *J. Food Sci.*, **52**, 1668(1987)
15. Hashiba, H.: Participation of Amadori rearrangement products and carbonyl compounds in oxygen-dependent browning of soy sauce. *J. Agr. Food Chem.*, **24**, 70(1976)
16. 양 룡, 신동범: 아미노-카르보닐반응에 관한 연구, *한국식품과학회지*, **12**, 88(1980)
17. 四方日出男: 醬油の色, *醸協*, **75**, 149(1980)
18. 海老根英雄: 미소의 변색, *醸協*, **75**, 145(1980)
19. Park, S.K. and Kyung, K.H.: Pigment-forming bacteria in the presence of L-tyrosine and their possible role in the browning of fermented soybean products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **18**, 376(1986)
20. 정윤수: 간장의 미생물학적 연구: 재래 간장에서 세균의 분리 및 동정, *한국미생물학회지*, **1**, 30(1963)
21. 김상순, 김순경, 유명기, 최홍식: *Aspergillus oryzae*를 이용한 대두발효식품의 색상개량에 관한 연구, *한국산업미생물학회지*, **11**, 67(1983)

(1990년 3월 15일 접수)