

된장 숙성중 정미성분의 변화에 관한 연구 (II) -유리당과 휘발성, 비휘발성 유기산-

김미정 · 이해수
전 서울대학교 식품영양학과

Studies on the Changes of Taste Compounds during Soy Paste Fermentation(II)

Meejeong Kim and Hei Soo Rhee
Department of Food Science and Technology, Seoul National University

Abstract

For the purpose of supplying the information to improve the acceptability of soy paste as the condiment, we investigated the changes of free sugar, volatile and nonvolatile organic acids during improved soypaste fermentation. The results were as follows; Free sugars were increased in order of glucose>arabinose>galactose. Acetic, formic, butyric, and propionic acid in volatile organic acids were detected. And total contents were increased until 60 day. In 180 day, contents of volatile organic acids were high in order of acetic>propionic>butyric>formic. The contents of succinic and glutaric acid in nonvolatile organic acids were predominant and increased in order of succinic>glutaric>lactic. Tartaric>citric>malic acid were produced in the next order.

I. 서 론

된장은 우리나라의 대표적 발효 식품으로 단백질의 좋은 공급원이며 조미료로서도 또한 중요한 역할을 한다. 이러한 된장의 맛은 짠맛과 단맛, tangy flavor, 구수한 맛이 조화를 이루어 고유의 맛을 나타낸다. 따라서 된장의 맛성분에 관한 여러가지 연구가 진행되어 왔는데 이 중에서도 이¹⁾ 등은 우리나라 재래식 간장의 맛성분으로 핵산 관련물질, 유리아미노산, 유리당, 비휘발성 아민, 유기산 등을 검출했는데 유리당으로는 xylose, arabinose, glucose, galactose가 검출되었으며 galactose가 가장 많았다고 하였다. 또한 간장의 신맛을 지배하는 유기산 10종을 검출하여 이들이 맛성분에 기여하는 것으로 보여진다고 보고하였다. 재래식 간장과 개량식 간장의 숙성 10개월 후의 유기산을 장²⁾이 비교한 것을 보면 개량식 간장의 휘발성은 acetic, propionic, butyric, formic acid의 순서였다. 개량식 간장의 비휘발성 유기산은 lactic, succinic, glycolic, malic, glutaric, tartaric, galacturonic, malonic acid의 순서였다. 일반가정에서 채취한 재래식 간장중의 당류의 함량을 보면 galactose, arabinose, xylose, glucose의 순서였다고³⁾ 한다. 또한 galactose가 절대적으로 많다는 보고도 있다⁴⁾.

우리는 전보⁵⁾에서 개량식으로 제조한 된장에서 숙성 시기별로 맛성분에 관여할 것으로 여겨지는 효소의 역할과 유리아미노산과 핵산 관련물질의 변화를 보고한 바 있다. 따라서 본 논문에서는 조미료로서 된장의 수용도를 높이는 자료를 제공하고자 황곡균을 이용한 개량식 된

장을 제조하고 숙성시기별로 맛성분중에서 유리당과 휘발성, 비휘발성 유기산의 변화를 살펴보고 이들 맛성분의 기여도를 비교 검토하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 재료는 전보⁵⁾와 같은 방법으로 준비하였다.

2. 실험방법

(1) 유리당

시료 10 g을 80% 에탄올 100 ml에 넣어 3~5분간 homogenize하였다. 같은 과정을 반복한 뒤 추추물을 모아 이것을 15분 가열한 후 냉각하여 Whatman filter paper 4로 여과하고 건테기를 에탄올로 씻어 내린 뒤 HPLC 분석을 위하여 에탄올을 날려보내고 10 ml 증류수로 정용하였다. HPLC의 분석조건은 Table 1과 같다^{6,7)}.

(2) 유기산

1) 휘발성 유기산

시료 300 g을 블렌더에 넣고 600 ml 증류수를 가해 15초간 마쇄하고 같은 방법으로 재추출 하여 이들을 모아 일부를 1 L 증류 플라스크에 넣은 뒤 45°C 이하에서 3시간 감압 증류하고 증류액은 ice bath에 받고 여기에 pH 8.3에 이르게까지 0.1 N NaOH를 가하였다. 이것을 60°C 에서 감압농축시키고 물을 제거, 건조시킨 뒤 N-butanol 3 ml, conc-H₂SO₄ 0.3 ml, 무수Na₂SO₄ 2 g을 가하여

Table 1. Conditions of HPLC for Free Sugar

1. Instrument	: Waters HPLC
2. Column	: Bio-Rad HPX 87-C
3. Column Temp.	: 85°C
4. Flow Rate	: 0.6 ml/min
5. Detection	: RI detector

Table 2. Conditions of Gas Chromatogram for Volatile Organic Acids

1. Instrument	: Hp 5890 A Gas C. Hewlett Packard
2. Column	: Stainless Steel Column Length; 2 m I.D.; 4 mm Packing Material; 10% Carbowax 20 M (80/100 mesh)
3. Detector	: Flame Ionization Detector
4. Temp.	: Column ; 60~220°C Rate ; 20°C/min Detector ; 220°C Injector ; 220°C
5. Carrier Gas	: N ₂ Flow Rate; 27.8 ml/min

환류 냉각기를 부착하여 30분간 비등한 뒤 에스테르화 시켰다. 이것을 냉각한 후 n-hexane 10 ml를 사용하여 에스테르를 추출하고 소량의 Na₂SO₄를 넣어 물을 제거한 뒤 1 μl를 취해 Table 2와 같은 조건의 Gas Chromatography로 분석하였다⁸⁾.

2) 비휘발성 유기산

비휘발성 유기산은 Flores의 방법⁹⁾에 따라 다음과 같이 하였다. 80% 에탄올 추출액 중 5 ml를 취해 원침관에 넣고 1% glutaric acid(85% ethanol) 1 ml, lead acetate 포화용액(16 g/100 ml) 0.5 ml와 85% 에탄올 15 ml를 넣어 잘 흔들고 45분간 실온에 방치하였다. 다음, 1500 rpm에서 7분간 원심분리하여 상층액을 따라내고 80% 에탄올 15 ml를 넣어 침전물을 잘 씻고 원심분리하고 이것을 두번 반복한 뒤 ethyl ether 5 ml를 잘 섞어 원심분리하여 에테르층을 따라 낸 후 100°C 건조오븐에서 30분 건조시킨 뒤 60~70°C에서 계속 건조하였다. 완전 건조된 시료를 10 ml captest tube에 밀봉하여 Gas Chromatograph 분석용 시료로 사용하였다. 시료에 silyating reagent(anhydrous pyridine : hexa-methyl disilazane : trimethyl chlorosilane=9 : 3 : 1) 1.5 ml를 가하고 vortex mixer로 40초간 섞은 뒤 45°C 항온수조에서 15분간 방치하여 유도체를 만들고 실온에 방치한 뒤 상층액 중 2 μl를 주입하였다. 분석조건은 Table 3과 같다.

III. 결과 및 고찰

1. 유리당

전기와 같은 조건에서 표준물질로 사용한 유리당의 HPLC에서의 retention time과 시료된장의 유리당 함량

Table 3. Conditions of Gas Chromatogram for Volatile Organic Acids

1. Instrument	: Hp 5890 A GAS C. Hewlett Packard
2. Column	: Stainless Steel Length; 2 m I.D.; 4 mm Packing Material; 3% OV-1 (80~100 mesh)
3. Detector	: F.I.D.
4. Temp.	: Column ; 80~240°C Rate; 10°C/min Detector; 260°C Injector; 240°C
5. Carrier Gas	: N ₂ Flow Rate; 35.8 ml/min

은 Table 4와 같다.

각 수치는 시료중에 존재하는 유리당의 백분율로서 표에 제시된 유리당류 외에 6,7,8분대와 17분 이후에 당류가 나타났는데 6분과 7분대에 나타나는 당류는 4개의 당류가 결합된 형태로 DP 4의 분자로 여겨지며 8분대의 당은 DP 3의 당인것으로 추정된다. 그 외에 유리당인 glucose, xylose, arabinose, galactose가 검출되었고 이탄당인 sucrose가 존재하는 것으로 나타났다. 17분대에 나타난 것은 숙성 10일부터 큰 비율을 차지하는 것으로 나타났는데 6탄당 이하의 당류이거나 분해물인 것으로 여겨진다. 된장중의 유리당은 된장의 감미원으로 역할을 하므로 된장의 조미료로서의 가치에 큰 영향을 준다.

김등¹⁰⁾은 재래식 간장의 단맛에 관여하는 유리당으로 galactose, xylose, arabinose, glucose의 검출을 보고하였고 장은^{3,11)} 오래 묵은 개량식 제조 간장과 재래식 간장중에서도 위와같은 당류의 분리를 보고하였으며 김등⁴⁾은 재래식 간장중 유리당류는 숙성 40일까지 계속 증가하다가 그 후 격감하여 80일경 조금 증가한다고 하였다.

2. 휘발성 유기산

시료 된장의 휘발성 유기산 함량은 Table 5와 같다. 각 시료에서 검출된 휘발성 유기산은 주로 acetic, formic, propionic, butyric acid였고 다른 유기산은 거의 볼 수 없었다. 장¹¹⁾은 비휘발성 유기산은 총산과 같이 오래 묵을수록 많아지며 휘발성 유기산은 감소한다고 하였는데 이것은 7년, 12년 정도로 묵힌 시료에 대한 보고이므로 단기간의 숙성중의 변화량으로는 볼 수 없다. 그러나 고린 냄새의 성분으로 추정되는 butyric, propionic acid 같은 휘발성 유기산이 재래식 간장에서는 해를 막힐수록 감소하였으며 장은²⁾ 개량식 한국간장의 휘발성 유기산은 acetic, propionic, butyric, formic acid 순서라 하였고 비휘발성 유기산은 lactic, succinic, glycolic, malic, glutaric, tartaric acid순서로 많이 나타남을 보고하였다. 80일 경과후 재래식 간장의 유기산은 butyric이

Table 4. Contents of Free Sugars during Soy Paste Fermentation (%w/w)

	R.T	SO	CO	0	10	20	30	40	60	180
SUC	9.6	0.022	0.065	0.023	0.027	0.032	0.037	0.040	0.032	0.028
GLC	11.7	0.006	0.237	0.230	0.129	0.090	0.035	0.041	0.050	0.076
XYL	12.9	0.024	0.038	0.021	0.045	0.041	0.032	0.030	0.035	0.041
GAL	13.3	0.039	0.041	0.030	0.021	0.014	0.009	0.009	0.015	0.014
ARA	14.9	0.051	0.032	0.018	0.032	0.038	0.025	0.027	0.022	0.018

Table 5. Contents of Volatile Organic Acids during Soy Paste Fermentation (g/300 g)

Sample V.Org. Acid	SO	CO	0	10	20	30	45	60	180
Formic Acid	0.005	0.018	0.013	0.013	0.016	0.024	0.036	0.049	0.015
Acetic Acid	0.002	0.077	0.066	0.062	0.071	0.072	0.087	0.090	0.081
Propionic Acid	0.004	0.014	0.010	0.011	0.016	0.022	0.029	0.034	0.024
Butyric Acid	0.001	0.008	0.011	0.016	0.011	0.018	0.013	0.014	0.018

Table 6. Contents of Nonvolatile Organic Acid during Soy Paste Fermentation (mg/300 g)

Sample N.O.A.	Lactic Acid	Succinic Acid	Glutaric Acid	Tartaric Acid	Malic Acid	Citric Acid
Soak	226.06	92.744	41.71	-	-	-
Cook	156.77	116.00	83.10	-	-	-
0	32.51	86.33	154.21	18.95	-	-
10	89.06	820.34	292.76	15.929	-	-
20	94.63	810.05	385.43	21.46	-	-
30	96.86	717.15	383.95	26.36	-	-
45	297.28	716.22	251.64	29.58	15.69	21.11
60	304.42	720.99	274.13	43.87	18.68	23.23
180	308.79	764.89	318.61	115.92	22.40	41.61

가장 많았고 acetic, propionic fraction이 많았으며 비휘발성 유기산은 glycolic>fumaric, glutaric>oxalic acid순서였다. 그 함량은 butyric acid가 숙성 80일에 44 mg/100 ml, acetic, propionic이 37.1 mg/100 ml, fumaric, glutaric이 4.6 mg/100 ml였고, lactic, succinic은 미량 나타났다고 하였다¹⁾. 아라미 등은 대두¹³⁾에서 n-caproic, acetic, isocaproic, n-caprylic acid가 비교적 다량있다고 보고하였는데 acetic acid를 제외하고는 생콩과 같은 향미를 낸다. 누나무라등은¹⁴⁾ 일본간장에서 acetic, propionic acid의 함량이 많다고 보고하였다.

3. 비휘발성 유기산

시료된장의 비휘발성 유기산 함량은 Table 6과 같다. 물에 담금한 경우에 비휘발성 유기산은 lactic>succinic>glutaric순서였고, 삶은 대두에서도 같은 경향이었지만 lactic acid함량이 줄었다. 된장담금을 했을 때 숙성 0일째는 glutaric>succinic>lactic>tartaric acid순이었는데 대두 때와는 달리 tartaric acid가 생성되었다. 숙성 45일째부터 lactic에 비해 succinic acid의 함량이 많아져 succinic>glutaric>lactic>tartaric>citric>malic acid순서로 많았으나 숙성 180일에는 succinic>lactic>gluta-

ric>tartaric>citric>malic acid순서로 변화하였다. 된장의 조미료로서의 가치에 크게 영향을 주는 유기산 중 비휘발성 유기산은 산미, 방향, 감미 성분으로 특히 숙성이 진행되면서 그 함량이 증가하므로 맛성분으로 크게 기여하리라 여겨지며, 이중에 lactic acid와 succinic acid는 상쾌하고도 감미로운 신맛을 가지고 있어 더 좋은 맛을 내게 한다.

IV. 요약

조미료로서 된장의 수용도를 높일 수 있는 자료를 제공하고자 황곡균으로 개량식 된장을 제조하고 이것을 180일 간 숙성시키면서 맛성분으로 중요한 역할을 하는 유리당, 휘발성 유기산, 비휘발성 유기산을 분석하였다. 그 결과 된장의 감미원인 유리당은 glucose>xylose>arabinose순서로 많이 존재하였다. 휘발성 유기산은 acetic, formic, butyric, propionic acid가 검출되었고 총량은 숙성 60일까지 증가하였다. 180일 숙성 후, 휘발성유기산의 함량은 acetic>propionic>butyric>formic acid순서로 많이 존재하였다. 비휘발성 유기산은 담금 직후부터 succinic>glutaric>lactic acid순서로 많았으며 숙성 45

일부터 tartaric>citric>malic이 뒤를 이은 순서로 생성되었다.

참고문헌

1. 이종규, 김창식, 한국재래식 간장의 맛성분에 관한 연구, 한국농화학회지, 23(2): 89-105(1980).
2. 장지현, 한국 간장중의 유기산에 대하여, 농화학회지, 8: 1-9(1967).
3. 장지현, 한국 간장중의 유리당류, 농화학회지, 7: 35-37(1966).
4. 김종규, 강대호, 한국재래식 간장의 맛성분에 관한 연구, 한국영양식량학회지, 7-2: 21-24(1990).
5. 김미정, 이혜수, 된장숙성 중 정미 성분의 변화에 관한 연구(1), 한국조리과학회지, 6(4): 1-8(1990).
6. Picha David H., HPLC determination of sugar in raw and baked sweet potatoes, *J. Food Sci.*, 50: 1189-1210(1985).
7. Wilson, A.M., Work, T.M., Bushway, A.A., and Bushway, R.J., HPLC determination of fructose, glucose, and sucrose in potatoes, *J. Food Sci.*, 46: 300-301(1981).
8. 이혜성, 재료의 종류에 따른 김치의 이산화탄소, 알코올, 휘발성 유기산의 변화, 서울대 석사학위 논문(1984).
9. 류재연, 재료의 종류에 따른 김치의 비휘발성 유기산과 카보닐화합물의 변화, 서울대 석사학위 논문(1984).
10. 김용취, 김재욱, 원료배합이 간장의 품질과 풍미에 미치는 영향, 한국농화학회지, 4: 17-19(1963).
11. 장지현, 저장간장의 생화학적 연구, 농화학회지 9: 9-26(1968).
12. Snyder, Harry E. and Kwon, T.W., *Soybean utilization*, Avi(1987).
13. Arai, S., Suzuki, H., Fujimaki, M. and Saurai, Y., Studies on flavor components in soybean, *Agr. Biol. Chem.*, 30-9: 863-868(1966).
14. Nunomura, N., Sasaki, M. and Yokotsuka, T., *Shoyu flavor components*, *Agr. Biol. Chem.*, 44-2: 339-351(1980).