

효모첨가에 의한 재래식 간장 제조공정 개선

유진영[†] · 김현규 · 권동진

한국식품개발연구원 생물공학연구부

Improved Process for Preparation of Traditional *Kanjang* (Korean-Style Soy Sauce)

Jin-Young Yoo[†] and Hyeon-Gyu Kim and Dong-Jin Kwon

Div. of Food Biotechnology, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea

Abstract

The traditional *kanjang* has been prepared by mixing *meju* and 18% saline solution, and fermenting for 60 days. The traditional *kanjang* is very salty and inferior in flavor and taste comparing with commercial fermented soy sauce. To improve the quality of traditional *kanjang*, *Zygosaccharomyces rouxii* H-62, a flavor-related mutant, was inoculated during fermentation. It was found that the addition of *Z. rouxii* helped to improve the organoleptic quality of traditional *kanjang*. The optimal condition for preparing traditional *kanjang* was to use 5L of 15.5% saline solution per *meju*. *Meju* must be cut into 12 pieces to get a proper total nitrogen and pure extract content. The optimal fermentation temperature was 30°C. The prepared *kanjang* contained over 0.8% total nitrogen and 6.0% pure extract after 60 days of fermentation.

Key words: *meju*, *kanjang*, process, *Zygosaccharomyces rouxii*

서 론

재래식 간장은 원래 각 가정에서 직접 만들어 소비되어 왔다. 따라서 재래식 간장의 맛과 향은 가정마다 차이가 있으며 제조 방법이 대량생산으로 연결하기에 적합하지 않고 그 기술이 제대로 계승되고 있지 않다. 한편 농촌에서는 소규모로 메주를 이용하여 재래식 간장을 제조하여 왔으며 도시의 소비자들은 이들 간장을 구하여 이용하거나 장류업체들이 제조한 산분해간장, 혼합간장, 밀코오지를 이용한 양조간장 등을 소비하고 있다(1).

최근 전통 대두발효식품에서 항돌연변이원성(2,3), 항암성(4), 항산화성(5,6), 혈전 용해성(7), ACE(Angiotensin converting enzyme)저해물질(8) 등 생물학적 활성 물질이 확인됨에 따라 소비자들의 관심이 증대되고 있으며 전통장류에 대한 인식도가 높아짐에 따라 수요가 급격히 증가되는 경향이 있다. 따라서 산업체에서도 제조 방법의 재현에 대한 관심이 높아지고 있으며 이에 따라 장류업체들은 전통장류의 생산방법을 산업

화하는 노력을 진행하고 있다. 그러나 재래식 간장은 상업적인 양조 또는 산분해간장에 비하여 식염 농도가 높아 기호도가 낮으며 향미면에서도 품질이 낮고 사용 용도 또한 일부 전통 음식에 국한되어 있다. 저자들은 장류의 향미 개선에 이용할 목적으로 재래식 간장에서 분리된 효모인 *Zygosaccharomyces rouxii*를 개량하여 향미 관련물질을 다량 생산하는 변이주를 개발한 바 있다(9). 본 연구에서는 재래식 간장의 향미 개선에 이 변이주를 사용하고자 하였으며 아울러 발효 환경 및 방법이 재래식 간장의 품질에 주는 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주

본 연구에서 사용된 효모는 향미개선 변이주로서 *Zygosaccharomyces rouxii* H-62(9)를 사용하였으며 10% NaCl이 포함된 YM 사면배지(Difco, U.S.A)에 접종하여 30°C에서 24시간 배양 후 4°C에서 보관하였다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

종균배양

전배양은 10% NaCl이 포함된 YM배지에 *Zygosaccharomyces rouxii* H-62 균주를 1-2 백금이 접종하여 30°C, 200rpm으로 24시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 Multigen™ jar fermentor(New Brunswick Sci. Co., U.S.A., Working volume 1L)를 이용하였다. 사용배지로서는 생간장을 근간으로 하는 간장배지를 사용하였다. 간장배지에는 간장 300ml, glucose 5g, yeast extract 5g, beef extract 5g, KH₂PO₄ 5g, NaCl 5g, 증류수 600ml를 사용하였다. 발효조의 온도는 30°C, 교반속도는 200rpm, 통기 속도는 0.5vvm으로 유지시키고 배지의 초기 pH는 5.5로 조정하였다(10).

메주의 제조

재래식 간장 제조용 메주는 충청북도 제천 소재의 C 식품에서 제조하여 사용하였다. 메주의 제조는 대두를 세척하여 약 5시간 물에 불린 후 NK(Nippon Kikkoman) 증자관으로 증자(40~50분, 1.5kg/cm²)하여 파쇄 후 사출기(Dice: 8×17cm)로 성형하였다. 성형된 메주는 40°C에서 2일간 걸말림을 하고 나서 35°C 발효실에서 약 40일 발효하였으며 메주 1개당 무게는 1.2kg이었다.

간장의 제조

메주는 맑은 물에 steel brush를 사용하여 표면에 있는 곰팡이류를 잘 닦은 후 햇볕에 말렸다. 소금은 시판 천일염(D사)을 사용하였으며 순도는 80%이었다. 간장의 담금은 FRP(Fiber Reinforced Plastic) 용기(80L) 및 용기 항아리(13L)를 사용하였으며 발효는 효모첨가구와 무첨가구, 온도별, 소금의 농도별, 염수량, 메주 형태별 등으로 구분하여 실시하였다.

일반 분석

총 질소의 함량은 Kjeldahl법(11,12)으로, pH는 pH meter로(11,12) 측정하였고 염분은 0.01N AgNO₃의 소비량(11,12)으로 표시하였다. 순추출물(13)은 정제 해사 약 5g를 넣어 함량을 측정 후 칭량병에 간장 5ml을 넣고 함량이 될 때까지 건조하여 추출물의 양을 측정한다. 이 측정치에 염분의 함량을 감하여 순추출물로 하였다.

미생물균수 측정

한국 3M 주식회사로부터 구입한 2종류의 Petrifilm

™을 이용하여 메주의 총 균수와 효모의 수를 측정하였다(14). 총 균수(total aerobic plate counts) 측정을 위하여 Petrifilm™ aerobic count(PAC, 3M)를 이용하여 37°C에서 24~48시간, 효모수의 측정은 Petrifilm™ yeast and mold count(PYMC)을 이용하여 30°C에서 24~48시간 배양하여 계수하였다.

관능검사

제조된 간장의 관능적 품질은 쇠고기국을 만든 후 평가하였으며 채점법에 따라, 아주 좋다(7점), 좋다(6점), 약간 좋다(5점), 보통이다(4점), 약간 싫다(3점), 싫다(2점), 아주 싫다(1점)의 7단계별로 채점하였으며 data의 통계처리는 SAS 통계처리 프로그램에 의해 분석되었으며 모든 통계처리의 유의성은 p<0.05 범위에서 실행되었다.

결과 및 고찰

Z. rouxii H-62 첨가에 의한 간장 발효

재래식 간장의 향미 개선을 위한 효모의 영향을 조사하기 위하여 재래식 메주와 소금물(18%)을 이용하여 간장을 담고 20일 후에 1%(2×10^7 cfu/ml)의 농도로 접종하고 20°C에서 발효하였다. 발효 중 pH와 총질소의 함량을 조사한 바는 Fig. 1과 같다. pH의 경우 효모를 첨가하든가 자연 발효를 하든지 큰 차이가 없었다. 즉 발효초기에 pH 8.1이던 것이 발효가 진행됨에 따라 급격히 감소하여 발효 27일에 pH 4.90~4.97, 발효 종료점에서 pH 4.60~4.66(산도 0.6%)으로 감소되었다. 총질소의 경우도 처리기간 큰 차이가 없어 발효 27일에 0.21~0.22%, 발효 종료시 0.35~0.36%이었다. 박과 이(15)는 *Saccharomyces rouxii*의 첨가에 의한 재래식 간장의 향기 성분에 관한 연구에서 효모첨가구와 효모무첨가구간에 pH와 총질소의 함량이 큰 차이가 없었다고 보고한 바 있다. Fig. 2는 발효기간 중 미생물수의 변화를 나타낸 결과이다. 총 균수인 경우 초기에 1.8×10^4 cfu/ml이던 것이 효모첨가구 및 자연 발효구에서 각각 발효 18일에 1.45×10^6 cfu/ml, 1.82×10^6 cfu/ml이었으며 발효가 진행됨에 따라 비슷한 경향으로 증가되어 발효 말기에는 각각 2.69×10^6 cfu/ml 및 2.45×10^6 cfu/ml이었다. 효모의 경우 초기에 3.4×10^4 cfu/ml이던 것이 발효 7일 이후부터 증가되는 경향을 보여 주었다. 효모첨가구의 경우 18일째에 효모의 첨가에 의하여 1.26×10^6 cfu/ml로 증가되었다가 서서히 감소되어 발효 37일에 2.95×10^4 cfu/ml이었다. 자연 발효의 경우 발효 7일까지 $3.2 \times$

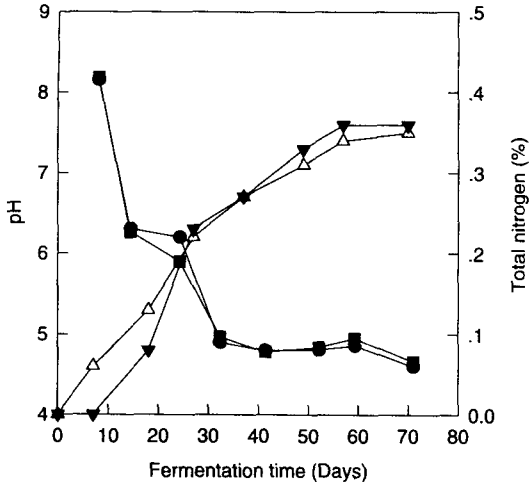


Fig. 1. Changes of pH and total nitrogen content(TN) of *karjang* by natural and yeast fermentation in 18% NaCl solution during fermentation at 20 °C(Yeast was inoculated after 20 days of fermentation at 10⁷cfu/ml level).
 ● pH of *karjang* prepared by yeast fermentation (YFK)
 ■ pH of *karjang* prepared by natural fermentation (NFK)
 △ TN of YFK, ▼ TN of NFK

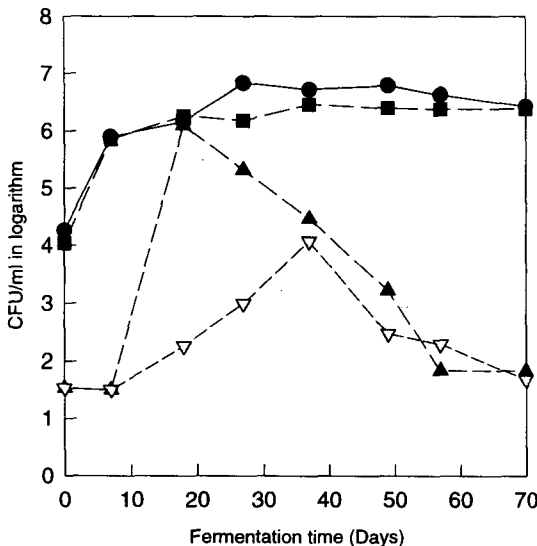


Fig. 2. Changes of viable cell and yeast count of *karjang* during fermentation at 20°C.
 ● Viable cell count of YFK
 ■ Viable cell count of NFK
 ▲ Yeast count of YFK
 ▼ Yeast count of NFK

10cfu/ml이던 것이 서서히 증가되어 발효 37일에 1.2×10⁴cfu/ml로 증가되어 효모첨가구와 유사한 수준을 보였다가 발효 말기까지 감소 추세를 보여 5.0×10cfu/ml

이었다. 이와 같이 제조한 간장에 대하여 효모첨가구 관능적 평가에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 즉 효모첨가에 의하여 제조한 간장이 관능적인 색도, 향, 맛 및 전체적인 기호도가 우수함을 알 수 있다. 박과 이(15)는 간장에 효모를 첨가하여 90일간 숙성시킨 결과, 향에 있어서 알코올향이 증가된 효모첨가구가 우수한 것으로 나타났고, 맛과 색에서는 별 차이없는 것으로 보고한 바 있으며 박과 이(16)는 산분해간장의 제조과정 중에 생성되는 분해취나 중화취가 제품에 잔존하여 향미를 저하시키는 것이 큰 결점인데 이를 개선하기 위하여 *Sacharomyces rouxii*와 당을 첨가하여 간장을 제조한 바 있다.

소금물의 농도별 발효시험

재래식 간장은 18~25% 이상의 소금물에 메주를 첨가하여 약 60일 동안 숙성시키며, 일반적인 시판 양조간장은 15~18% 정도의 염분을 함유하고 있다. 그러나 최근 소비자의 기호에 따라 간장의 제조가 저염화 추세로 되고 있다. 따라서 재래식 간장의 제조시 염농도가 발효에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 3). pH의 경우 염도별 큰 차이를 보이지 않았으며 담금시 pH가 8.0이던 것이 발효 37일에 4.8~5.0로 감소되어 종료시까지 같은 수준으로 유지되었다. 총 질소의 경우에도 염도가 증가됨에 따른 변화가 없었는데 전체적으로 발효 37일까지 빠르게 증가되었으며 그 후는 완만한 증가를 보여 발효말기(70일째)에는 0.35~0.37%이었다.

또한 순추출물을 살펴보면 염도가 증가함에 따라 증가되는 경향을 보여 주었으며 효모첨가구의 경우 13.0, 15.5, 18.0%의 염도에서 각각 3.28, 3.75, 4.97%이었다. 자연발효의 경우는 저염도에서는 효모첨가구보다 낮아서 13%의 염도에서 2.31%이었으며 15.5%에서는 4.4%를 나타냈으나 18%에서는 4.8%로 차이를 보여주지

Table 1. Sensory evaluation of *karjang* by natural and yeast fermentation in 18% NaCl solution

Parameter	Samples		L.S.D(p=0.05)
	YFK	NFK	
Color	4.27	3.40	0.69
Flavor	4.40	4.20	0.94
Taste	4.80	3.60	0.89
Overall acceptability	4.73	3.67	0.95

Each value represented the mean of scores of 20 panel members using a hedonic scale from 1(dislike very much) to 7(like very much). NFK and YFK stand for *karjang* prepared by natrally fermented and yeast. *Karjangs* respectively. Sensory scores were obtained by evaluating the Korean beef soup with *karjang*.

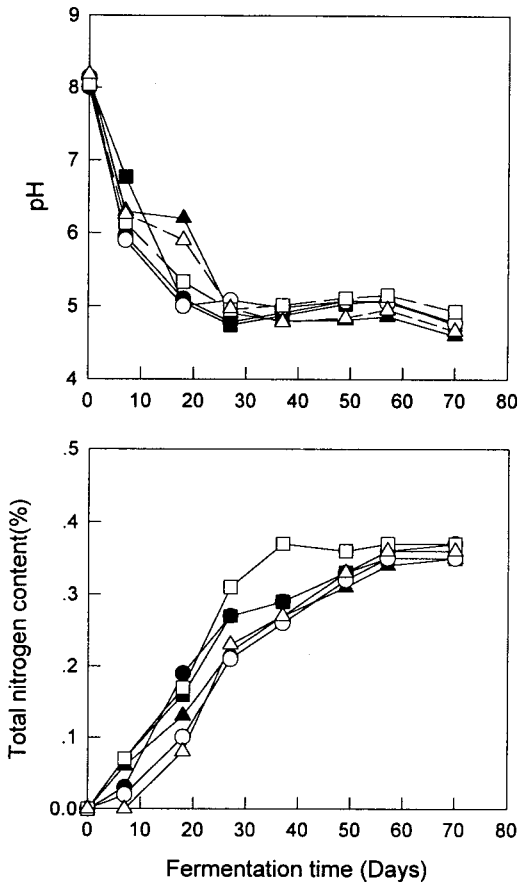


Fig. 3. Changes of pH and total nitrogen content during fermentation of *kanjang* prepared with saline of different NaCl concentration.
 ●— 13% NaCl of YFK ○— 13% NaCl of NFK
 ■— 15.5% NaCl of YFK □— 15.5% NaCl of NFK
 ▲— 18% NaCl of YFK △— 18% NaCl of NFK

않았다(Fig. 4). 소금의 농도별로 제조한 간장에 대하여 관능검사를 실시한 결과는 Table 2와 같다. 대체적으로 기호도는 염분이 낮을수록 좋은 경향을 보여 주었으며 특히 맛에서 차이를 보여 주었다. 권과 하(17)는 간장의 발효 숙성과정에서 간장의 향미에 관여하는 휘발성 유기산 및 알코올의 생성은 저염인 12.5%의 식염 농도

Table 2. Sensory evaluation of *kanjang* with different NaCl concentrations by yeast fermentation

Parameter	Samples			LSD (p=0.05)
	13%	15.5%	18%	
Color	4.40	4.47	3.80	0.79
Flavor	4.13	4.27	3.93	0.75
Taste	4.67	4.07	4.00	0.64
Overall acceptability	4.40	4.40	3.93	0.75

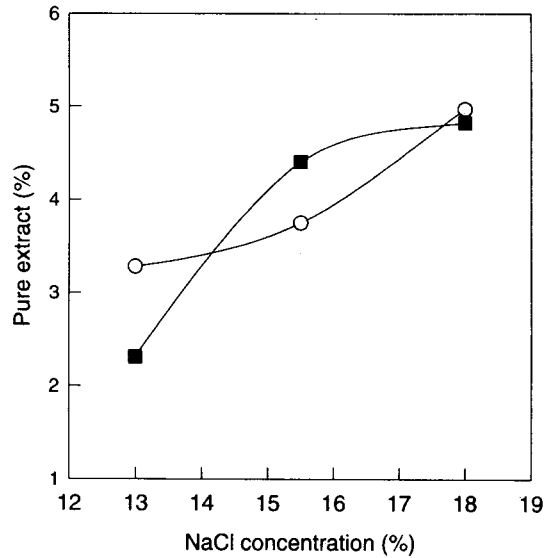


Fig. 4. Pure extract of *kanjang* prepared with saline of different NaCl concentration at 57 days of fermentation.
 ○— YFK, ■— NFK

에서 가장 높은 값을 나타내며 식염 농도가 높아질수록 억제된다고 한 바 있다. 본 연구에서의 염도별 발효현상과 분석자료 및 간장이 조리시 염분조절의 역할도 크다는 것을 고려하면 15.5%의 염도로 제조하는 것이 바람직하다고 사료된다.

소금물의 용량별 간장 발효시험

사용된 메주에 대한 소금물의 용량을 달리하여 발효시키면서 pH 및 총질소의 변화를 살펴본 결과 Fig. 5, Fig. 6과 같다. 발효 10일까지의 pH를 보면 소금물의 양이 메주 1개당 5L까지는 증가함에 따라 pH의 하강속도가 느린 것으로 나타났으며 발효 30일 이후에는 소금물의 용량에 따른 pH의 변화 차이가 없었다. 이는 소금물의 양이 증가함에 따라 발효액에 추출되어 존재하는 영양성분의 양이 감소되었기 때문으로 사료된다. Fig. 6은 소금물의 용량별 발효시 총질소량의 변화를 추적한 것이다. 소금물의 양을 메주 1개당 2~8L로 변화시킬 때 총 질소의 함량은 용량이 증가함에 따라 감소하는 경향으로 2L, 5L, 8L의 경우 각각 1.06, 0.36 및 0.21% 이었다. 역시 순추출물의 량은 소금물의 양이 증가함에 따라 감소하여 2L, 5L, 8L의 소금물로 발효하였을 때에 9.0, 6.7 및 3.6 %로서 한식간장의 성분 기준을 감안할 때(13) 메주 1개당 5L의 염수를 사용하면 적절할 것으로 사료되었다(Fig. 7). 한편 관능검사의 결과에서도

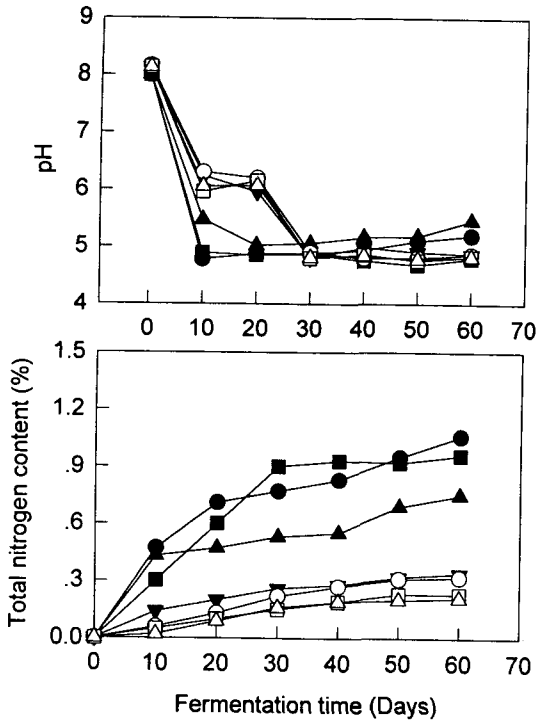


Fig. 5. Changes of pH and total nitrogen content of *kanjang* prepared with different volume of 18% NaCl solution during fermentation.
 ●: 2L saline per *meju*, ○: 6L saline per *meju*
 ■: 3L saline per *meju*, □: 7L saline per *meju*
 ▲: 4L saline per *meju*, △: 8L saline per *meju*
 ▼: 5L saline per *meju*

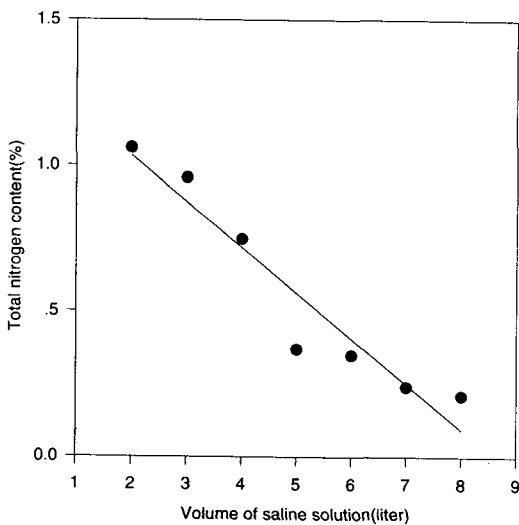


Fig. 6. Total nitrogen content as affected by the volume of 18% saline solution.

색, 향, 맛에서 메주 1개당 식염수를 5L 첨가하는 것이

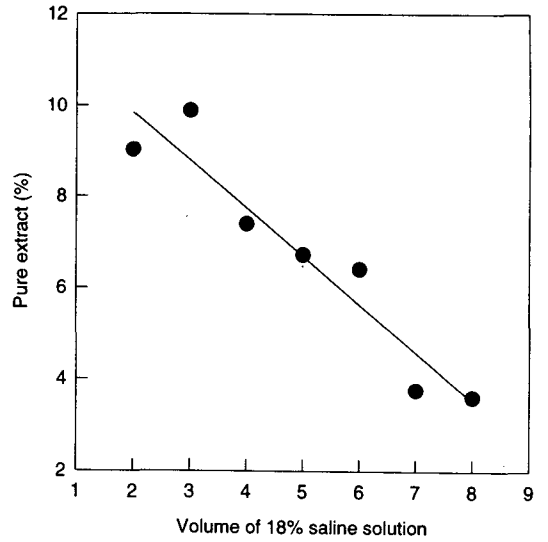


Fig. 7. Pure extract content of *kanjang* prepared with different volume of saline solution after 70 days of fermentation.

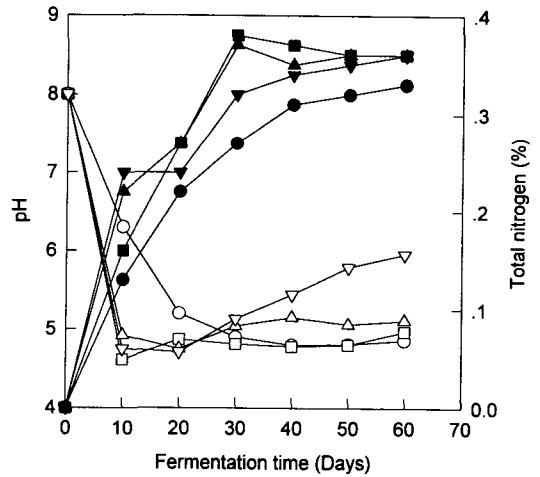


Fig. 8. Changes of pH and total nitrogen content of *kanjang* during fermentation at different temperatures.

○: pH of 20°C, □: pH of 25°C
 △: pH of 30°C, ▼: pH of 35°C
 ●: TN of 20°C, ■: TN of 25°C
 ▲: TN of 30°C, ▼: TN of 35°C

가장 좋은 결과로 나타났다(Table 3).

발효온도별 간장 발효시험

온도별 간장발효시 경과시간 별 pH 및 총 질소량의 변화를 보면 Fig. 8과 같다. pH는 발효 시작 후 10일 이내에 5.0이하로 감소되었으며 20°C에서 발효한 경우만 산

Table 3. Sensory evaluation of *kanjang* prepared with different volume of saline solution per a *meju* by yeast fermentation

Parameter	Samples							LSD (p=0.05)
	2L	3L	4L	5L	6L	7L	8L	
Color	4.13	2.93	4.13	4.87	4.13	4.07	3.93	0.81
Flavor	3.47	3.73	4.07	3.60	3.47	4.00	4.40	0.76
Taste	3.87	3.80	4.27	4.60	3.87	3.47	3.20	0.84
Overall acceptability	3.93	3.40	4.20	4.40	3.93	3.60	3.53	0.77

Table 4. Sensory evaluation of *kanjang* prepared at different fermentation temperatures

Parameter	Samples			LSD (p=0.05)
	25°C	30°C	35°C	
Color	4.13	4.47	4.93	0.96
Flavor	4.47	4.53	4.73	0.89
Taste	4.27	3.93	4.00	0.79
Overall acceptability	4.20	4.20	4.33	0.75

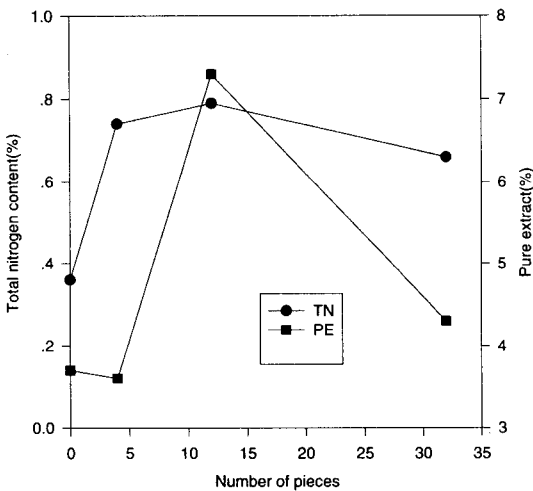


Fig. 9. Total nitrogen and pure extract content as affected by the number of pieces of *meju*.

●: TN, ■: PE

생성이 늦은 경향으로 나타났고 발효 20일에는 25, 30, 35°C 처리구 모두 4.8 이하로 감소되었다. 그러나 35°C에서 발효한 간장에서는 30일 이후에 암모니아성 이취 및 고미가 발생하여 이상 발효가 진행된 것으로 추정되었고 발효후기에 pH가 6.0 부근으로 상승되었다. 총 질소의 경우를 보면 20°C 발효시에만 그 함량의 증가가 저조하였으며 25, 30, 35°C의 경우는 0.35% 이상으로 용출됨을 알 수 있다. 온도별로 발효한 간장의 관능적 평가를 보면 Table 4와 같다. 즉 맛에 있어서는 25°C에서 발효한 간장이 우수한 것으로 나타났으며 색깔 및 향에서는 25~35°C의 경우가 우수하게 나타났으나 유의차는 보이지 않아 발효온도를 상승시키는데 따른 경제적 측면에서 볼 때 30°C가 적합할 것으로 판단되었다.

메주의 처리 형태별 발효시험

간장 담금시 메주의 형태가 발효 및 추출물의 양에 미치는 영향을 조사하였다. 메주의 크기는 2등분에서 32등분까지 잘라서 소금물을 5L에 넣어 30°C에서 발효하였다. 60일 발효 후 총 질소의 함량을 조사한 바는 Fig. 9와 같다. 즉 메주 1덩어리를 그대로 담금을 하였을 때 0.36%이었으나 4등분할 때에 0.74, 12등분시 0.79%이었으며 32등분일 때에는 0.66%이었으며 완전히 파쇄할 경우 오히려 여과에 문제가 있고 간장 중의 총 질소 함량도 0.17%로 추출율이 낮은 결과로 나타나서 담금시 메주를 12등분하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

요 약

재래식 간장의 향미를 개선시키기 위하여 *Zygosaccharomyces rouxii* H-62균주를 이용하여 염농도별, 염수 용량별, 발효 온도별 발효시험을 실행하였다. 효모를 발효시 첨가함으로써 관능적 품질을 향상시킬 수 있었으며 발효는 메주를 12등분하여 메주 1개(1.2kg) 당 15.5%의 소금물을 5L 넣어 30°C에서 60일간 발효하는 것이 적합하다고 판단되었다. 이와 같은 공정으로 간장을 제조하면 성분으로는 총 질소 함량이 0.80%, 순 추출물 6.0%이상인 기존의 재래식 간장보다 저염화된 우수한 품질의 간장을 제조할 수 있었다.

감사의 말

본 연구는 농림수산기술개발사업(1994~1995)의 일환으로 수행된 결과의 일부이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

문헌

1. 김찬조, 이석건, 이종수, 박창희 : 국(麴)의 첨가가 아미노산간장의 품질에 미치는 영향. 한국농화학회지, 31, 145 (1988)
2. Hong, S. S., Chung, K. S., Yoon, K. D. and Cho, Y. J. : Antimutagenic effect of solvent extracts of Korean fermented soybean products. *Foods and Biotechnol.*,

- 5, 263(1996)
3. 윤기도, 권동진, 홍석산, 김수일, 정전섭: 대두 및 대두 발효식품의 항돌연변이성. *산업미생물학회지*, **24**, 525 (1996)
 4. 홍석산: 전통 장류의 항암효과. *식품기술*, **7**, 56(1994)
 5. 문갑순, 최홍식: 양조간장으로부터 항산화성 물질의 분리 및 그 특성. *산업미생물학회지*, **22**, 461(1990)
 6. 이종호, 김미혜, 임상선: 재래식 메주 및 된장 중의 항산화성 물질에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, **20**, 148 (1991)
 7. 김용택, 김원극, 오훈일: 청국장으로부터 혈전용해 균주의 분리 및 동정. *산업미생물학회지*, **22**, 1(1995)
 8. 신재익, 안창원, 남희섭, 이형재, 이형주, 문태화: 된장으로부터 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 peptide의 분리. *한국식품과학회지*, **27**, 230(1995)
 9. 유진영: 장류의 품질개선을 위한 균주개량 연구. *한국식품개발연구원 보고서*, p.1(1992)
 10. Yoo, J. Y., Kim, H. G and Kwon. D. J.: Biomass production of *Saccharomyces cerevisiae* KFCC 10823 and its use in preparation of *Doenjang*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **7**, 75(1997)
 11. 박동기: *식품화학실험*. 유한문화사, p.38(1985)
 12. AOAC: Official methods of analysis. 15th ed. Association of official analytical chemists. Washington, D.C. (1990)
 13. 한국식품공업협회: *식품공전*. p.473(1994)
 14. 하상도: 식품내의 미생물 분리를 위한 dryfilm 방법의 평가 연구. *산업미생물학회지*, **24**, 178(1996)
 15. 박성오, 이택수: 효모첨가에 의한 재래식 간장의 향기 개선에 관한 연구. *서울여자대학 논문집*, **11**, 315(1982)
 16. 박성오, 이택수: *Saccharomyces rouxii*에 의한 산분해 간장의 성분 변화. *서울여자대학 논문집*, **16**, 223(1987)
 17. 권동진, 하덕모: 간장에서 분리한 *Zygosaccharomyces rouxii*의 휘발성 유기산 생성에 미치는 식염농도의 영향. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**, 120(1994)

(1997년 12월 19일 접수)