

장수버섯 배양법에 의해 urushiol이 제거된 발효옷 추출물이 된장발효에 미치는 영향

최한석^{1*} · 정석태¹ · 최지호¹ · 감지은¹ · 김유진¹ · 노종민¹ · 김명곤²

¹국립농업과학원 발효식품과, ²전북대학교 식품공학과

Effect of Urushiol-Free Extracts from Fermented-*Rhus verniciflua* Stem Bark with *Fomitella fraxinea* on the Fermentation Characteristics of *Doenjang* (Soybean Paste)

Han-Seok Choi^{1*}, Seok-Tae Jeong¹, Ji-Ho Choi¹, Ji-Eun Kang¹, Eugene Kim¹,
Jong-Min Noh¹ and Myung-Kon Kim²

¹Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-853, Korea

²Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea

(Received 30, October 2012., Revised 8, November 2012., Accepted 19, November 2012)

ABSTRACT: The effect of fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) extract on the microbial count, enzyme activity, concentrations of free amino acids and organic acids, and physicochemical properties of *doenjang* (soybean paste) was evaluated during brine fermentation. The FRVSB extract increased the total free amino acid concentration by 1.3-3.1-fold on the 42nd day of brine fermentation. After the filtration of brine, the following microbial counts were obtained in the *doenjang*: bacteria, 0.3×10^8 - 12.0×10^8 cfu/g; mold, 3.0×10^4 - 21.0×10^4 cfu/g; yeast, 1.0×10^4 - 2.0×10^4 cfu/g; *Escherichia coli*, not detected; and *Bacillus cereus*, 3.0×10^2 - 25.0×10^2 cfu/g. The FRVSB extract addition enhanced the protein and starch degrading activity by 13.8-26.0% and 16.1-35.1%, respectively. The extract increased the total free amino acid content by 1.4-3.0-fold. Lactic acid, acetic acid, and pyroglutamic acid were the predominant organic acids in *doenjang*. Moreover, the proximate composition, pH, moisture, ash, salt, and amino nitrogen content were increased.

KEYWORDS : *Doenjang*, *Fomitella fraxinea*, FRVSB, *Rhus verniciflua*, Soybean paste

서 론

옷나무는 전통적으로 혈액순환 촉진, 위장질환, 심장질환, 부인과 질환에 효과가 있어(Namba, 1980) 한의학에서는 다양하게 이용되어 왔지만(Eom and Kim, 2008) urushiol을 함유하고 있어 수포, 가려움, 발진 등을 동반한 접촉성피부염을 유발하기 때문에(Epstein, 1974) urushiol이 검출되지 않는 추출물에 한하여 전통적으로 섭취하여 온 옷담 및 옷오리 조리에 제한적으로 허용하고 있다(KFDA, 2010). 그러나 옷에 대한 소비자의 요구가 증가되면서 옷이 함유된 옷 된장, 옷 고추장 등 다양한 형태의 식품으로 유통되고 있으며, 이에 따른 음성시장도 확대되고 있는 실정이다. 더욱이, 이들 생산업체에서 사용하고 있는 urushiol제거 방법은 아직 과학적으로 증명되지 않아 여러 부작용을 발생시킬 수 있는 여지가 있다.

최근 장수버섯(*Fomitella fraxinea*)을 옷나무에 배양시킴으로서(발효옷) 옷에 함유된 urushiol을 제거하는 방법이 확립되었고(Choi *et al.*, 2007; RDA 2010; Choi *et al.*, 2012a) 13종의 안전성 시험을 거친 결과 안전성이 확보되었다고 평가됨에 따라 식약청에서는 발효옷 추출물을 장류, 발효식초, 일부 주류에 허용하는 것을 행정예고하였다(KFDA, 2012). 발효옷은 전구지방세포의 분화를 촉진시키고(Choi *et al.*, 2010), 높은 항산화활성을 가지고 있으며(Choi *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2010), 뇌신경세포 보호활성(Sapkota *et al.*, 2011; Byun *et al.*, 2010; Sapkota *et al.*, 2010)도 있기 때문에 제품의 기능성도 높일 수 있을 것으로 기대하고 있다. 특히, 옷 산업 특구로 지정받은 충북 옥천군 및 강원도 원주시에서는 옷 산업을 활성화시키기 위해 다양한 노력을 하고 있기 때문에 다양한 제품이 생산될 것으로 예상된다.

그러나 식품사용 확대가 예상되는 품목에 대하여 발효옷 첨가에 따른 제품의 특성 및 품질변화 연구가 없는 실

*Corresponding author <E-mail : coldstone@korea.kr>

정으로 제품개발에 상당한 어려움이 있다. 우리팀은 발효옷 추출물을 장류에 적용하였을 때 발효과정과 제품의 품질에 어떠한 영향을 미치는지 확인하고자 전보(Choi *et al.* 2012a)에서 발효옷 추출물이 장류발효 미생물의 생육과 효소활성에 미치는 영향을 살펴보았으며, 본 연구는 그 후속으로 발효옷 추출물을 장류발효과정에 첨가하였을 때 제품에 미치는 영향을 확인 하였다.

재료 및 방법

발효옷 추출물 제조

본 시험에 사용된 발효옷은 2011년 4월에 채취한 충북 옥천산 옷나무 껍질을 2×2 cm 크기로 자른 후 수분이 통할 수 있는 자루에 담아 1일 동안 수침하고 건져내서 1일 동안 물빼기 하였다. 수분이 흡수된 옷나무 껍질을 5 L 버섯재배 봉투에 옮겨 담은 다음 필터를 달아 121°C에서 100분 동안 살균하였다. Choi 등(2007)의 방법에 따라 전 배양된 장수버섯균사체를 접종하고 21°C에서 30일간 배양한 후 50°C에서 열풍 건조시켜 발효옷을 제조하였다.

추출물은 믹서로 잘게 갈은 발효옷 1 kg에 10배(w/v) 증류수를 첨가한 후 무게를 측정하고 고압 살균기에 넣어 100°C에서 8시간 동안 추출하였다. 증발된 수분량을 보정하기 위하여 물을 첨가하여 동일무게로 맞추고 원심분리(4°C, 12,000×g, 30 min)한 다음 여과(Filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK)하여 제조하였다.

된장제조

본 시험에 이용된 메주는 사각메주(10×15×10 cm)로 순창장류(주)(Sunchang, Korea)에서 구매하여 사용하였다. 구입한 메주는 공장에서 동일 batch로 생산된 것으로서 *Bacillus licheniformis* KCCM 11052P 0.02%(w/v)와 *Aspergillus oryzae*(Chungmu Fermentation Co., Ulsan, Korea) 0.15%(w/w)를 starter로 접종하였고 65°C에서 18시간 동안 걸말린 다음 발효온도 30°C, 상대습도 50%에서 10일 동안 발효하여 제조된 것이다.

메주를 10개씩 무게를 측정한 다음 플라스틱통에 담고 21%로 조절된 염수를 메주무게의 2배 부피로 첨가하여 25°C에서 42일 동안 염수발효를 행하였다. 이 후 부직포를 이용하여 염수와 발효된 메주를 분리한 다음 메주를 균질기로 분쇄하여 된장을 제조하였다. 이때 염수는 발효옷 추출물이 총무게의 0.7, 2.0, 5.0, 10.0%(w/v)함유 되도록 제조되었고 소금은 (주)섬들채(Sinan-gun, Korea)에서 천일염을 구입하여 사용하였다. 각 처리구의 메주무게는 대조구 9.2 kg, 추출물 첨가군은 각각 9.0, 8.9, 9.1, 9.4 kg이었으며, 발효옷 추출물 첨가 농도는 예비실험을 통해 설정하였다.

효소활성

된장 5 g에 0.5% NaCl이 함유된 10 mM sodium phosphate buffer(pH 5.0) 25 mL를 부은 다음 4°C에서 하룻밤 추출하고 원심분리(4°C, 12,000×g, 30 min)한 후 여과(Filter paper No. 2, Whatman™, GE Healthcare Co., Buckinghamshire, UK)하여 조효소액을 조제하였다. 증류수 50 mL에 0.5% soluble starch(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)와 1.2% agar를 첨가하여 균한 다음 6 mm의 구멍을 뚫어 제작된 starch plate(18×16 cm×3 mm), 그리고 1.2% skim milk(Wako Co., Osaka, Japan)에 1.2% agar를 첨가한 skim milk plate에 조효소액 10 µL를 각각 점적하고 25°C에서 24시간 동안 반응시킨 다음 clear zone의 직경을 측정하였다. α-amylase는 측정 키트(Kikkoman Co., Tokyo, Japan)를 활용하였다. Acidic protease 측정을 위해서 MacIlvaine buffer(pH 3.0)에 녹인 2% casein(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 용액 1.5 mL에 MacIlvaine buffer(pH 3.0) 1.0 mL을 가한 후 40°C에서 예열하였다. 여기에 효소액 0.5 mL을 첨가하고 40°C에서 60분간 반응시킨 후 0.4 M trichloroacetic acid 용액 3 mL을 가해서 반응을 정지시켰다. 반응액 1 mL에 0.4 M Na₂CO₃ 5 mL와 5배 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol액(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 1 mL을 가하고, 40°C에서 30분간 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정한 후 tyrosine함량으로 환산하였으며 효소가 반응하여 1 µg의 tyrosine 상당량의 정색을 나타내는 것을 1 unit로 하였다.

유리아미노산 및 유기산

유리아미노산은 아미노산분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 시료 2 g에 물 30 mL를 가한 다음 100°C에서 10분간 가열 한 다음 물을 첨가하여 50 mL로 맞추었다. 원심분리(4°C, 5,000×g, 10 min)하여 상등액 1 mL를 취하고 여기에 5% trichloroacetic acid 1 mL를 첨가한 후 원심분리(4°C, 12,000×g, 10 min)하였다. 상등액을 회수하고 0.02N HCl로 2배(v/v) 희석한 다음 여과(0.2 µm, Millipore Co., Cork, Ireland)한 것을 분석하였으며, 분석조건은 제조사의 매뉴얼을 따랐다.

유기산 분석을 위해서 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하였으며 post column방법을 사용하여 분석하였다. 유기산분석용 column은 Shodex Rspack KC-G(6.0×50.0 mm) guard column에 RSpak KC-811(8.0×300 mm, Showa Denko Co., Tokyo, Japan) 2개를 연결하여 사용하였다. 이동상은 3 mM perchloric acid를 이용하였으며, flow rate는 0.8 mL/min, column oven의 온도는 63°C로 하였다. 분리물은 반응용액(0.2 mM bromothymol blue, 15 mM Na₂HPO₄, 2 mM NaOH)과 반응한 후 UV 440 nm에서 검출하였다. 이때 반응용액의 flow rate는 1.0 mL/min, 반응온도는 30°C로 하였다. 시료는 된장 1 g

에 증류수 20 mL를 붓고 균질화(WiseTis HG-15D, Wlteg Co., Germany)한 다음 원심분리(4°C, 12,000 × g, 10 min)하고 여과(0.2 µm, Millipore Co., Cork, Ireland)하여 사용하였다.

일반성분 및 미생물

pH, 수분, 염농도, 적정산도, 조지방, 회분은 식품공전(KFDA, 2010)에 준하여 실시하였다. 일반세균, 대장균, 효모, 곰팡이의 생균수 측정을 위해서 된장 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 가해 균질화한 다음 10⁸까지 단계적으로 희석하고 단계별 희석액 1 mL를 건조필름(3MTM PetrifilmTM, 3M Microbiology Products, St Paul, Minnesota, USA)에 접종하였다. 일반세균은 aerobic count plate, 효모 및 곰팡이는 yeast and mold count plate, 대장균은 *E. coli*/coliform count plate를 각각 사용하였으며 30°C에서 48-60시간 동안 배양하면서 특징적인 집락수를 계수하였다. *B. cereus*는 된장 25 g에 멸균생리식염수 225 mL를 첨가하여 2분간 균질화 한 다음 10⁴까지 단계적 희석액을 만들었다. Mannitol egg yolk polymyxin agar (MYP Agar, BD DifcoTM Co. Canada) 평판배지에 단계별 희석액을 0.2 mL씩 5장을 접종하고 30°C에서 24±2시간 배양한 후 특징적인 집락을 계수하였다. 아미노산성 질소는 Formol법으로 측정하였다. 시료 2 g에 증류수 100 mL를 가하고 10분 동안 교반하여 충분히 용해한 다음 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 pH 8.4로 하였다. 여기에 중성 formalin 20 mL를 가하고 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 되도록 적정하도록 한 후 0.1 N NaOH의 소비량을 아미노산성 질소함량으로 환산하여 사용하였다.

결과 및 고찰

염수의 유리아미노산 변화

된장제조 공정에 있어 메주가 염수에 침지되어 있는 기간 동안에는 메주 내부의 변화를 확인하기 쉽지 않기 때문에 염수 중에 유리된 유리아미노산 함량을 측정하여 발효옷 추출물 첨가에 의한 발효양상을 간접적으로 확인하였다(Fig. 1). 염수의 총아미노산의 함량은 침지 10일 전후로 증가하기 시작하였으며 42일째 발효옷 추출물 첨가군(0.7%, 2.0%, 5.0%, 10.0%, w/v)의 총유리아미노산 함량은 각각 2188.3, 4634.7, 2982.7, 5070.6 mg/100 mL로 대조군 1638.6 mg/100 mL보다 각각 1.3, 2.8, 1.8, 3.1배 높게 나타났다. 추출물의 농도에 따라서는 2.0% 이상의 첨가군, 즉 첨가되는 추출물 양이 부피비로 메주와 염수를 포함한 원료무게의 2.0% 이상에서는 총유리아미노산의 함량이 오히려 감소하거나 2.0% 첨가군과 유사한 함량을 나타내는 것으로 조사되었다. 메주를 침지하고 일정 시간이 경과된 염수의 주요 유리아미노산은(Table 1)

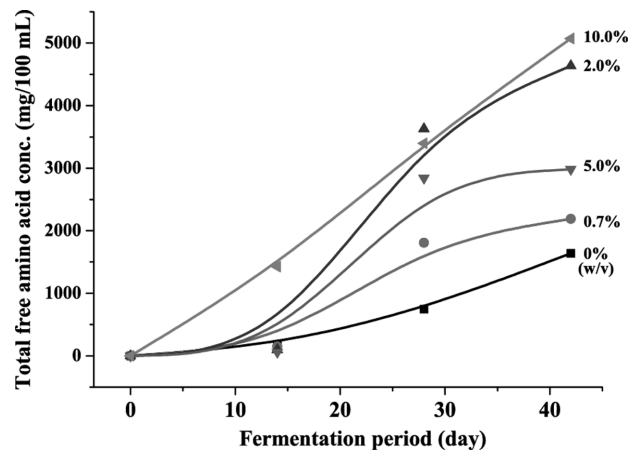


Fig. 1. Effect of FRVSB extract on total free amino acid content in brine mash during the brine fermentation stage. FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

alanine, aspartic acid, citrulline, glutamic acid, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, phosphoserine, sarcosine, threonine, tyrosine, urea, valine이였으며, 발효옷 추출물 첨가에 의해서 함량이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 특히 된장발효의 주요 지표성분인 glutamic acid의 경시적 변화를 살펴보면, 침지 14일 경과 후 10.0% 첨가군이 256.9 mg/100 mL로 대조군에 비하여 9.8배 높은 함량을 보이면서 가장 많은 증가를 보였으며, 침지 42일 경과된 각 첨가군의 glutamic acid의 함량은 각각 440.9, 857.4, 607.2, 892.4 mg/100 mL로 대조군 290.6 mg/100 mL에 비하여 150.3-601.8 mg/100 mL 높은 함량을 보였다. 발효옷 추출물은 콩의 분해를 촉진시켜 염수 중의 아미노산함량을 높이는 것으로 판단된다.

미생물 생균수의 변화

첫 번째 가설을 검증하기 위하여 침지 42일 후에 염수 분리한 된장의 생균수를 측정하여 Table 2에 나타내었다. 무첨가군의 생균수는 일반세균 9.7×10^8 , 곰팡이 3.2×10^4 , 효모 2.5×10^4 cfu/g이었으며, 대장균은 검출되지 않았고 *B. cereus* 9.8×10^2 cfu/g으로 나타났다. 반면 추출물 첨가군은 일반세균 $0.3-12.0 \times 10^8$, 곰팡이 $3.0-21.0 \times 10^4$, 효모 $1.0-2.0 \times 10^4$, 대장균 불검출, *B. cereus* $3.0-25.0 \times 10^2$ cfu/g으로 추출물 첨가에 의해서 일반세균과 곰팡이의 생균수가 1 log cycle 범위 내에서 변화했을 뿐 큰 변화는 관찰되지 않았다. 메주를 염수에 침지하게 되면 메주에 생육하던 미생물은 고농도의 소금이 존재하는 환경 하에서 급속히 사멸하고 장류 발효액 중에는 대부분 내염성 미생물들만이 존재하게 된다(Yoshizawa *et al.*, 2004). 따라서 발효옷 추출물에 의해 starter의 일종으로 첨가하였던 *A. oryzae*는 비내염성 미생물로 균체수 증가가 어려웠던 탓에 곰팡이의 생균수가 변하지 않은 것으로 생각된다. 그

Table 1. Changes in free amino acid contents of FRVSB extract supplemented brine mash

Compounds	Brine fermentation period (day)														
	14					28					42				
	0%	0.7%	2%	5%	10%	0%	0.7%	2%	5%	10%	0%	0.7%	2%	5%	10%
Alanine	8.9	5.9	7.4	4.5	85.8	51.1	118.6	203.9	175.6	187.9	116.0	153.1	252.5	229.8	277.8
Ammonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anserine	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0	-	-	-	11.7	6.8	8.4
Arginine	-	-	2.7	3.2	42.5	1.0	2.4	130.1	36.5	85.5	5.3	4.2	145.6	6.2	74.3
Aspartic acid	4.1	2.4	3.9	2.5	86.4	15.2	18.4	168.8	189.7	226.8	4.9	9.4	250.6	129.4	339.5
α -Aminoadioic acid	6.5	5.8	-	-	13.7	16.8	38.4	37.9	35.4	37.1	35.9	45.8	47.5	39.8	52.7
α -Aminobutyric acid	-	-	-	-	8.2	-	18.7	20.5	16.8	20.2	17.6	19.6	22.9	16.2	25.0
β -Alanine	0.4	-	-	0.3	12.7	0.8	11.3	15.9	16.3	15.1	11.0	14.1	5.5	4.0	11.5
β -Aminoisobutyric acid	-	0.6	-	-	22.6	3.1	12.6	39.4	12.9	35.8	11.4	22.0	26.7	17.6	39.7
γ -Aminobutyric acid	3.3	3.3	1.5	1.2	8.3	5.5	11.0	24.0	9.7	15.8	9.0	15.6	26.1	9.8	20.3
Carnosine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrulline	17.0	14.7	3.3	2.7	59.6	55.5	133.5	159.6	131.1	168.7	103.8	137.6	220.8	132.0	262.0
Cystathionine	-	-	-	-	2.7	4.1	9.1	6.0	4.9	4.4	30.9	9.0	5.2	7.6	6.8
Cystine	12.9	8.8	-	4.3	9.2	-	9.0	23.7	14.6	21.3	23.9	11.4	31.7	24.6	44.2
Ethanolamine	1.9	-	-	-	3.6	3.4	6.2	7.0	5.8	6.8	5.7	5.9	7.4	5.2	7.8
Glutamic acid	26.3	20.0	15.3	11.1	256.9	136.6	343.7	669.9	561.5	605.7	290.6	440.9	857.4	607.2	892.4
Glycine	3.3	3.2	4.5	2.7	52.6	18.9	37.2	119.2	99.4	117.3	33.5	47.8	150.7	100.3	167.9
Histidine	-	-	-	-	26.0	10.2	26.4	79.1	54.0	68.7	20.9	34.6	101.9	51.7	98.4
Hydroxylysine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydroxyproline	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-
Isoleucine	6.0	6.2	3.5	1.7	66.4	44.0	101.0	178.2	142.2	170.4	93.1	119.2	236.9	151.8	256.2
Leucine	12.8	11.4	7.3	3.3	104.9	77.6	182.1	292.6	223.0	270.1	164.0	211.8	385.2	241.9	403.9
Lysine	15.0	14.3	10.2	5.4	107.6	66.1	167.5	302.2	207.7	249.5	142.8	204.0	373.7	227.4	359.7
Methionine	3.2	3.1	1.3	0.4	19.6	14.5	34.0	54.5	40.8	49.0	40.5	38.2	68.9	48.8	77.5
1-Methylhistidine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methylhistidine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine	7.0	5.3	2.1	2.0	19.6	33.6	81.8	42.7	79.4	42.8	88.9	97.9	51.9	105.5	77.4
Phenylalanine	14.1	13.0	3.6	1.1	64.8	54.5	127.0	185.2	138.9	169.8	108.3	143.9	242.3	151.7	250.3
Phosphoethanolamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphoserine	2.8	3.0	3.1	2.4	0.0	5.1	11.7	-	-	-	9.2	13.4	-	15.7	-
Proline	0.0	5.2	0.0	0.0	47.4	10.4	40.2	138.6	90.4	104.6	35.4	50.1	154.1	111.6	184.7
Sarcosine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serine	4.9	2.7	4.0	1.9	77.8	38.7	85.9	202.3	162.8	196.1	78.5	110.4	262.8	170.0	288.1
Taurine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Threonine	4.6	2.8	4.4	1.6	57.8	25.9	61.1	155.8	115.5	141.9	53.6	78.7	201.1	121.6	210.3
Tyrosine	4.6	2.4	0.0	0.0	40.7	8.5	10.9	89.2	57.4	117.3	9.7	6.9	133.1	16.6	153.2
Typtophan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea	-	3.0	7.7	2.6	52.5	-	-	91.9	67.1	92.0	-	20.0	114.2	72.1	216.9
Valine	13.2	13.0	9.6	4.4	75.7	45.2	105.9	189.4	147.5	175.1	94.3	122.7	245.7	159.6	263.6

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

러나 *Bacillus*균은 비교적 내염성 미생물로 *B. subtilis*는 15%의 소금농도에서도 사멸하는 균체수가 다소 낮고 (Chang and Chang, 2007) 시중에서 유통되는 전통장류에서 *B. licheniformis*와 *B. subtilis*가 주요미생물로 확인되었기 때문에(Nam *et al.*, 2012), 일반세균류는 발효옷 추

출물 첨가에 의해서 생균수가 증가할 것으로 기대하였으나 고농도의 염수발효 조건하에서는 균체성장에도 영향을 미치지 못했다.

또한, 발효옷 추출물은 내염성 효모인 *Z. rouxii*의 균체 생산을 8-32%까지 저해적이었으나(Choi *et al.*, 2012a)

Table 2. Viable cell counts of *doenjang* (fermented soybean paste) supplemented with FRVSB extract

(cfu/g)

FRVSB extract concentration (w/v)	Bacteria	Mold	Yeast	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>
0% (control)	9.7×10^8	3.2×10^4	2.5×10^4	nd	9.8×10^2
0.7%	12.0×10^8	3.0×10^4	2.0×10^4	nd	17.0×10^2
2.0%	1.6×10^8	21.0×10^4	1.0×10^4	nd	5.5×10^2
5.0%	0.9×10^8	3.5×10^4	1.0×10^4	nd	25.0×10^2
10.0%	0.3×10^8	8.0×10^4	2.0×10^4	nd	3.0×10^2

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

nd means not detected.

효모 수의 변화는 관찰되지 않았다. *Z. rouxi*는 소금농도 최고 24-26%(w/v)까지 생육 가능한 내염성을 가지고 있으나 식염환경에서는 pH 4-5범위에서만 증식가능하기 때문에 간장의 발효과정에서는 간장덧에 유산균이 증식하여 pH가 하강하는 시점인 발효 50일 부근에서 최대 균체수를 나타나게 된다(Yoshizawa *et al.*, 2004). 그러나 발효옷 추출물 첨가된장의 pH는 5.58-6.06으로(Table 6) 대조군 보다 높게 나타났기 때문에 발효옷 추출물에 의해 균체수의 변화가 발생했을 가능성이 있다. 식품공전(KFDA, 2010)에서 *B. cereus*의 양은 g당 100.0×10^2 이하로 제한하고 있는데 발효옷 추출물 첨가에 의해서 *B. cereus*의 증가가 관찰되기는 하나 법적기준 이하였다. 발효옷 추출물은 고농도의 소금이 존재하는 환경에서는 *Bacillus* 균과 *Aspergillus* 균의 균체성장을 돕지 못하며, 이외의 된장발효에 관여하는 미생물에도 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 우리나라 된장의 미생물 변화는 일반적으로 발효초기 미생물이 증가되다가 점차적으로 감소되는 경향을 나타내며 제조방법에 따라 균체 수는 다소 차이가 있다. Yoo *et al.*(1999)은 전통된장을 대상으로한 미생물 조사에서 0-20일 사이에 일반세균, 효모, 곰팡이 등이 대부분 생성된 후 숙성시기 후반에는 거의 관찰되지 않는다고 하였고, Rhee *et al.*(2000) 및 Yoo *et al.*(2000) 또한 30-60일 사이에 감소하는 것으로 보고하고 있다.

효소활성의 변화

발효옷 추출물 첨가에 의한 된장의 효소활성 변화를 Fig. 2와 Table 3에 나타내었다. Skim milk plate상에서 추출물 첨가군의 clear zone size는 각각 12.16, 13.02, 13.32, 13.16 mm로 대조군 10.69 mm에 비하여 각각 13.8, 21.9, 24.7, 26.0%씩 증가하였으며, starch plate의 clear zone size는 각각 14.29, 16.63, 15.28, 16.31 mm로 무첨가구 12.30 mm에 비하여 16.1, 35.1, 24.2, 32.5%씩 증가하였다. 발효옷 추출물 첨가 된장의 acidic protease의 활성은 각각 101.3, 398.7, 296.9, 283.6 U/g으로 대조군 156.9 U/g에 비하여 1% 첨가군을 제외하면 추출물 첨가에 의하여 각각 2.5, 1.9, 1.8배 증가하였다. α -amylase의

효소활성은 첨가군이 각각 66.9, 652.8, 639.6, 598.3 U/g으로 대조군 93.9 U/g에 비하여 1% 첨가군을 제외하면 6.4-7.0배 높게 나타났다. 발효옷 추출물이 염수환경에서 장류 미생물의 생육에 영향을 미치는 않았다는 결과(Table 2)를 감안하면, 메주발효단계에 *B. licheniformis*와 *A. oryzae*

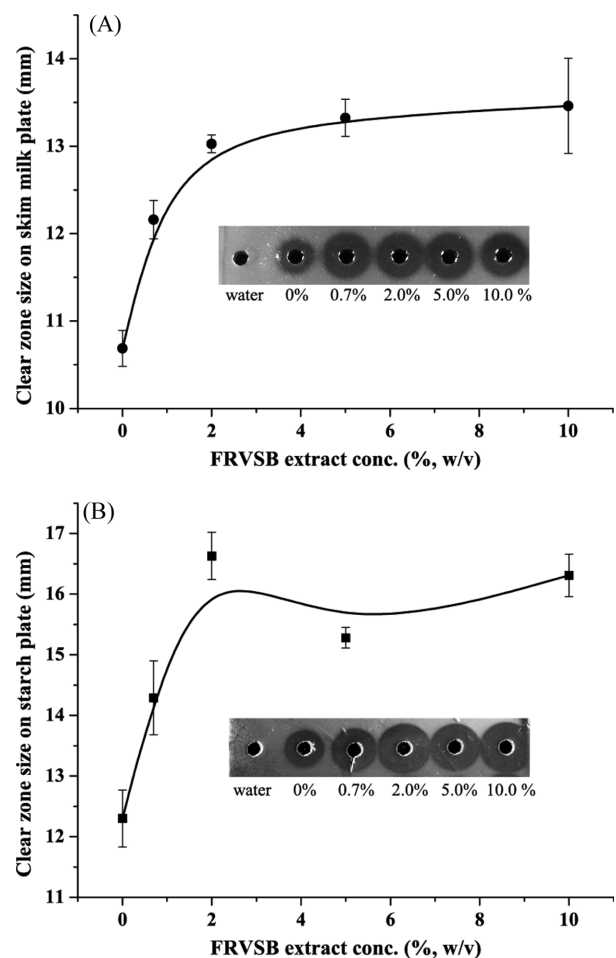


Fig. 2. Clear zone on skim milk (A) and starch (B) plate for FRVSB extract-supplemented *doenjang*. FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark. The photo (insert) is typical picture of clear zone on starch and skim milk plate.

Table 3. Effect of FRVSB extract on acidic protease and α -amylase activity of *doenjang*

FRVSB extract conc.	acidic protease (U/g)	alpha-amylase (U/g)
0%	156.9±35.7	93.9±12.3
0.7%	101.3±10.6	66.9±10.2
2.0%	398.7±46.2	652.8±68.2
5.0%	296.9±27.4	639.6±55.3
10.0%	283.6±37.7	598.3±57.1

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark. Values represent means of three replications±standard deviations.

에 의해서 생성된 효소들이 염수발효단계에서 발효옷 추출물에 활성이 증가된 것으로 판단된다. 그러나 어떠한 성분이 효소활성을 증가시켰는지는 후속 연구가 필요하다. 된장의 대사산물은 대부분 메주에서 증식된 미생물이 생산한 효소에 의해서 주로 생성되는데 일본의 간장양조에 사용되는 *Aspergillus*균은 최적 pH에서 여러 종류의 protease를 생산하며, 이 중 알칼리성 protease와 중성 protease가 1차 단백질 분해에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고 *A. oryzae*의 α -amylase의 활성이 *A. sojae*보다 높은 것으로 알려져 있다(Yoshizawa *et al.*, 2004). 우리나라 장류에서 *Aspergillus* 균을 사용하는 이유는 *Bacillus* 균은 강한 protease를 생산하나 amylase는 낮은 단점을 지니므로 이를 보완하기 위해 사용한다(Kim *et al.*, 2011). 그러나 아직까지 이들 미생물이 생산하는 효소가 장류에 어떻게 작용하는지 구체적인 연구가 없는 실정으로 이에 대한 연구가 시급하다.

된장의 유리아미노산 변화

발효옷 추출물이 첨가된 된장의 총 유리아미노산 함량은 각각 855.97, 1899.01, 1675.03, 1733.07 mg%로 추출물 첨가에 의해서 alanine, arginine, aspartic acid, citrulline, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tyrosine, valine 등이 비교적 높게 증가 되면서 대조군 627.12 mg%에 비하여 1.4-3.0배 상승하였다(Table 4).

유리아미노산은 된장의 풍미에 많은 영향을 미치는데 (Yang *et al.*, 1992) i) 감칠맛에는 aspartic acid와 glutamic acid가 ii)단맛에는 alanine, glycine, lysine, proline, serine, threonine이 iii)쓴맛에는 arginine, histidine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, threonine, valine 등이 관여하는 것으로 알려져 있다(Kato *et al.*, 1989). 발효옷 추출물 첨가 된장에 함유된 유리아미노산 중 위에서 언급한 감칠맛을 나타내는 성분의 함은 각각 179.34, 415.35, 407.12, 407.56 mg%로 대조군 124.43 mg%에 최대 3.3배 증가하였다. 이 중 우리나라 전통된장의 아미노산 중에 가장 많은 함량으로 존재하고 있는 것으로 알려진

(Kim, 2004) glutamic acid의 함량은 각각 169.96, 311.71, 313.43, 287.39 mg%로 대조군 117.17 mg%에 비하여 각각 1.5, 2.7, 2.7, 2.5배 증가되었으며, 총 유리아미노산 함량에 대한 비율은 16.6-19.2%로 다른 아미노산에 비하여 가장 높았다. Glutamic acid이외에 감칠맛에 관여하는 aspartic acid의 함량도 각각 9.38, 103.64, 93.69, 120.17 mg%로 대조군 7.26 mg%에 비하여 1.3-16.6배 증가하였으며 총아미노산 함량에 대한 비율도 1.2%(대조군)에서 5.5-6.9%(3-15% 첨가군)로 높아졌다. 단맛을 나타내는 유리아미노산의 함은 242.51-545.89 mg%로 대조군 166.95 mg%에 비하여 1.5-3.3배 증가하였으며 glycine, proline, serine, threonine이 발효옷 추출물에 의해 각각 1.4-4.3, 2.4-7.3, 1.4-3.5, 1.5-4.0배 증가하면서 비교적 높은 폭으로 변화였고 총 유리아미노산에 대한 비율도 증가하였다. 쓴맛을 가지고 있는 유리아미노산의 함은 327.59-704.58 mg%로 대조군 234.37 mg%에 비하여 최대 3배(3% 첨가군) 증가하였으며, arginine, histidine, threonine이 각각 최대 12.9, 4.9, 4.0배 증가하면서 가장 높은 변화를 나타내었고 isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, valine의 함량은 2.9배 이하로 다른 화합물보다 낮은 비율로 증가하면서 총 유리아미노산에 대한 함량비율도 낮아졌다.

결과적으로 발효옷 추출물 첨가에 의해서 총 유리아미노산의 증가와 더불어 감칠맛 성분의 비율이 19.8%에서 20.2-24.3%로 증가하였고 단맛성분의 비율도 26.6%에서 27.4-28.9%로 높아진 것에 반해 쓴맛성분은 37.4%에서 34.1-37.1%로 감소되면서 된장에 긍정적인 요소로 작용하였다.

유기산의 변화

발효옷 추출물이 첨가된 된장의 유기산 함량을 Table 5에 나타내었다. 추출물 첨가군의 총 유기산 함량은 각각 854.1, 877.9, 874.3, 734.7 mg%로 10% 첨가군을 제외한 나머지 처리구에서 대조군 782.6 mg%보다 다소 높게 나타났다. Lactic, acetic, pyroglutamic acid가 주요 유기산 이었고 malic acid와 succinic acid는 일부 첨가군에서 소량 검출되었다. 한편, oxalic, citric, tartaric, fumaric, formic acid는 모든 처리군에서 검출되지 않았다. 일반적으로 콩 발효식품의 유기산은 원료의 분해, 생화학적 대사과정, 미생물의 작용 등에 의해서 생성되며 일본의 miso 및 natto, 중국의 sufu, 대만의 thua nao 등에는 주로 lactic acid와 acetic acid가 주요 유기산으로 알려져 있고 원료 분해산물인 것으로 추정되는 propionic acid와 butyric acid가 일부 존재하고 있다(Chung *et al.*, 2005; Leejeerajumnean *et al.*, 2001). 우리나라 전통된장의 유기산 역시 lactic acid와 acetic acid가 많은 양을 차지하고 있는 것으로 확인되나(Oh *et al.*, 2003; An *et al.*, 1987) 일부에서는 citric acid(Jeong *et al.*, 1998), succinic acid

Table 4. Free amino acid contents of FRVSB extract supplemented *doenjang*

Compounds	Free amino acid concentration (mg/100 g)				
	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
Alanine	41.44 (6.6) ¹⁾	56.34 (6.4)	95.76 (5.0)	95.70 (5.7)	87.09 (5.0)
Ammonia	-	-	-	-	-
Anserine	-	-	5.98 (0.3)	-	-
Arginine	4.87 (0.8)	7.26 (0.8)	63.02 (3.3)	31.09 (1.9)	35.42 (2.0)
Aspartic acid	7.26 (1.2)	9.38 (1.1)	103.64 (5.5)	93.69 (5.6)	120.17 (6.9)
α -Aminoadipic acid	12.90 (2.1)	16.31 (1.8)	16.69 (0.9)	18.98 (1.1)	15.65 (0.9)
α -Aminobutyric acid	-	7.44 (0.8)	9.05 (0.5)	8.25 (0.5)	8.25 (0.5)
β -Alanine	5.81 (0.9)	5.56 (0.6)	8.48 (0.4)	5.53 (0.3)	8.02 (0.5)
β -Aminoisobutyric acid	8.75 (1.4)	6.14 (0.7)	19.89 (1.0)	18.66 (1.1)	17.47 (1.0)
γ -Aminobutyric acid	3.39 (0.5)	3.94 (0.4)	9.42 (0.5)	5.15 (0.3)	6.43 (0.4)
Carnosine	-	-	-	-	-
Citrulline	36.89 (5.9)	51.57 (5.8)	90.16 (4.7)	67.35 (4.0)	88.24 (5.1)
Cystathionine	3.45 (0.6)	13.06 (1.5)	1.31 (0.1)	1.04 (0.1)	1.63 (0.1)
Cystine	4.11 (0.7)	10.93 (1.2)	12.18 (0.6)	8.41 (0.5)	15.07 (0.9)
Ethanolamine	1.83 (0.3)	1.88 (0.2)	2.59 (0.1)	2.13 (0.1)	2.30 (0.1)
Glutamic acid	117.17 (18.7)	169.96 (19.2)	311.71 (16.4)	313.43 (18.7)	287.39 (16.6)
Glycine	13.46 (2.1)	18.38 (2.1)	58.15 (3.1)	50.48 (3.0)	54.92 (3.2)
Histidine	8.65 (1.4)	13.09 (1.5)	42.50 (2.2)	33.60 (2.0)	35.85 (2.1)
Hydroxylysine	-	-	-	-	-
Hydroxyproline	-	-	-	0.58 (0.0)	-
Isoleucine	35.04 (5.6)	49.65 (5.6)	101.15 (5.3)	85.23 (5.1)	92.2 (5.3)
Leucine	66.48 (10.6)	89.91 (10.1)	167.46 (8.8)	143.36 (8.6)	148.57 (8.6)
Lysine	54.34 (8.7)	78.47 (8.9)	146.81 (7.7)	126.23 (7.5)	121.55 (7.0)
Methionine	11.88 (1.9)	21.28 (2.4)	29.01 (1.5)	24.7 (1.5)	28.12 (1.6)
1-Methylhistidine	-	-	-	-	-
3-Methylhistidine	-	-	-	-	-
Ornithine	33.29 (5.3)	37.34 (4.2)	20.58 (1.1)	48.01 (2.9)	23.06 (1.3)
Phenylalanine	52.04 (8.3)	68.31 (7.7)	121.25 (6.4)	103.6 (6.2)	108.42 (6.3)
Phosphoethanolamine	-	-	-	-	-
Phosphoserine	5.78 (0.9)	5.90 (0.7)	-	10.64 (0.6)	-
Proline	8.34 (1.3)	20.36 (2.3)	60.89 (3.2)	56.23 (3.4)	53.38 (3.1)
Sarcosine	-	-	-	-	-
Serine	29.43 (4.7)	39.97 (4.5)	104.45 (5.5)	90.30 (5.4)	96.13 (5.5)
Taurine	-	-	-	-	-
Threonine	19.94 (3.2)	28.99 (3.3)	79.83 (4.2)	65.06 (3.9)	70.85 (4.1)
Tryptophan	-	-	-	-	-
Tyrosine	5.11 (0.8)	5.45 (0.6)	80.43 (4.2)	33.29 (2.0)	79.61 (4.6)
Urea	-	-	36.24 (1.9)	49.83 (3.0)	35.95 (2.1)
Valine	35.47 (5.7)	49.10 (5.5)	100.36 (5.3)	84.51 (5.0)	91.32 (5.3)
Total	627.12	885.97	1899.01	1675.03	1733.07

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

¹⁾The numbers in parentheses are the percentages of the total free amino acid.

(Kim and Rhee, 1993) 및 휘발성 유기산(acetic, butyric, propionic, 3-methyl butanoic acid)(Shukla *et al.*, 2010)의 함량이 높게 나타나는 것으로 조사되었다. 된장의 제조방법 및 지역에 따라 미생물 분포는 다소 차이가 있으나 된장 속에는 *Bacillus* 균과 젖산균이 주로 생육하고 있는 것으로 보고되고 있으며(Nam *et al.*, 2012), 젖산균은

homo 발효과정을 거치면서 glucose를 lactic acid로 변화시켜주고(Hofvendahl and Hagerda, 2000), *B. subtilis*는 다양한 경로를 통하여 lactate를 생성한다(Kim, 1998; Kim, 2000). 생성된 lactic acid는 된장의 신맛에 주요한 요소로(Kim and Lee, 2003) 평가되고 있다. 이외에 acetic acid는 콩에도 일부 존재하고 있으나 발효과정 중

Table 5. Organic acid contents of FRVSB extract supplemented *doenjang*

Compounds	Organic acid concentration (mg/100 g)				
	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
Oxalic	nd	nd	nd	nd	nd
Citric	nd	nd	nd	nd	nd
Tartaric	nd	nd	nd	nd	nd
Malic	nd	nd	16.5±3.5	4.1±5.8	28.8±4
Succinic	nd	4.1±5.8	5.5±7.8	nd	nd
Fumaric	nd	nd	nd	nd	nd
Lactic	611.9±65.8	668.3±67.2	681.3±67.4	698.8±69.3	512.9±50.8
Formic	nd	nd	nd	nd	nd
Acetic	75.7±8.9	82.1±3.1	44.6±19.6	68.8±14.6	86.7±4.4
Pyroglutamic	95.0±3.9	99.6±1.9	130.0±10.7	102.6±0.9	106.3±3.2
Total	782.6±53.0	854.1±78.0	877.9±24.2	874.3±78.9	734.7±39.2

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

nd means not detected.

Values represent means of three replications±standard deviations.

homo형 젖산균이나 *Bacillus* 균의 작용으로 발생하는 것으로 알려져 있다(Shin *et al.*, 1996). Succinic acid는 염수발효기간 동안 내염성 효모에 의해서 생성되며, pyroglutamic acid는 glutamic acid의 일부가 비효소적으로 변한 것으로 특이적인 맛이 없다(Yoshizawa *et al.*, 2004).

발효옷 추출물 첨가 된장의 lactic acid 함량이 대조군보다 비교적 높고, 0.7%와 2.0% 첨가군에서 succinic acid가 검출되는 것으로 미루어 발효옷 추출물은 젖산균과 효모의 대사에 일부 영향을 미쳤을 것으로 추정되며, 발효옷 추출물 첨가에 따른 된장 중 pyroglutamic acid 함량 증가는 높은 glutamic acid 생성에 따른(Table 4) 변화로 판단된다.

일반성분의 변화

발효옷 추출물 첨가 된장의 일반성분을 Table 6에 나타내었다. 추출물 첨가군의 일반성분은 pH 5.58-6.06, 수분 56.8-59.2%, 조지방 6.1-7.6%, 회분 12.6-14.2%, 염도 15.2-16.3%, 적정산도 8.73-10.75 mL, 아미노산성 질소 403.1-611.1 mg%로 대조군 pH 5.17, 수분 56.6%, 조지방

7.3%, 회분 12.7%, 염도 14.0% 적정산도 9.57 mL, 아미노산성 질소 315.4 mg%에 비하여 pH, 수분, 회분, 염도, 아미노산성 질소 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 된장의 맛에 관여하는 주요 성분들은 소금을 제외하면 유리아미노산, 유기산, 아미노산성 질소로 상큼한 감칠맛과 관련이 있다(Yang *et al.*, 1992; Kim and Lee 2003). 특히, 아미노산성 질소는 발효식품의 숙성도를 알아보는 간접적인 척도로 식품공전에서는 기준항목이 삭제되었으나 농수산물품질관리원 전통식품 표준규격(NAQS, 2012)에는 300.0 mg% 이상으로 규정하고 있다.

추출물 첨가 된장의 아미노산성 질소의 함량은 추출물 첨가량이 0.7, 2.0, 5.0, 10.0%(w/v)로 증가함에 따라 대조군에 비하여 각각 27.8%, 62.2%, 85.0%, 93.8% 상승하였다. 아미노산성 질소함량의 증가는 콩단백질의 분해가 무첨가군에 비하여 활발하였다는 것을 의미하며 염수 발효기간 동안의 유리아미노산의 증가(Table 1)와 된장의 유리아미노산 함량증가(Table 4)와 관련이 있다. pH 변화에 있어 발효옷 첨가된장의 pH가 다소 높게 나타났는데 유리아미노산 증가에 따른 상승(Yoshizawa *et al.*, 2004)으로 판단된다. 장류발효에 있어 pH상승은 젖산균의 증식

Table 6. Physicochemical properties of FRVSB extract supplemented *doenjang*

FRVSB extract Conc.	pH	Moisture (%)	Salt (%)	TA (mL)	AN (mg%)	Crude fat (%)	Ash (%)
0%	5.17	56.57	13.95	9.57	315.42	7.25	12.68
0.7%	5.92	56.76	15.20	8.73	403.15	7.60	12.56
2.0%	5.68	59.03	16.60	10.42	511.32	7.45	13.80
5.0%	5.58	57.81	15.25	10.75	583.38	7.09	13.00
10.0%	6.06	59.28	16.35	9.33	611.10	6.07	14.15

FRVSB means fermented-*Rhus verniciflua* stem bark.

TA: titratable acidity (0.1N NaOH); AN: amino type nitrogen.

을 억제시켜 품질에 좋지 않은 영향을 미칠 수 있는데, 일반세균수의 큰 차이가 없고(Table 2) lactic acid 함량이 대조군보다 높게 나타난 것으로 보아(Table 5) 이 정도 범위의 변화는 젖산균의 생육에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 수분과 염도의 상승의 이유는 대조군의 경우 원료의 분해가 아직 완료되지 않은 상태로 조직이 치밀하여 수분과 소금의 평형이 이루어지지 않았던 반면 첨가균은 대조군보다 높은 분해도에 의해 평형이 이루어졌기 때문인 것으로 판단된다. 또한, 회분함량의 증가는 발효옷 추출물의 일반성분은 건조물을 기준으로 지방 1.69%, 단백질 10.21%, 회분 15.80%로(Choi *et al.*, 2012b) 액상상태로 환산하면 각각 0.10%, 0.58%, 0.90%에 불과하기 때문에 발효옷 추출물에 함유된 성분의 유입에 따른 직접적인 변화보다는 된장의 염도증가가 주요한 원인으로 보여 진다. 적정산도의 증가는 유기산의 증가와 관련이 있으며(Table 5) 조지방함량의 변화가 적은 것은 발효옷 추출물은 lipase의 활성을 증가시키지 않아(Choi *et al.*, 2012a) 콩에 함유된 지방의 분해에 기여하지 못했기 때문으로 추정된다.

위의 결과들로부터 된장제조에 있어 발효옷 추출물의 첨가는 된장발효액의 효소활성을 증가시켜 원료의 분해를 촉진시킴으로서 된장발효기간을 단축시킬 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

된장제조공정에 발효옷 추출물을 첨가하고 염수발효기간 동안의 미생물, 효소활성, 유리아미노산, 유기산 및 일반성분 변화를 조사하였다. 염수발효 42일 경과 후 추출물 첨가군(0.7%, 2.0%, 5.0%, 10.0%, w/v)의 염수 중 총 유리아미노산 함량은 2188.3, 4634.7, 2982.7, 5070.6 mg/100 mL로 대조군 보다 각각 1.3, 2.8, 1.8, 3.1배 높게 나타났다. 염수를 걸러낸 된장의 미생물 분포는 일반세균 $0.3-12.0 \times 10^8$, 곰팡이 $3.0-21.0 \times 10^4$, 효모 $1.0-2.0 \times 10^4$, 대장균 불검출, *B. cereus* $3.0-25.0 \times 10^2$ cfu/g으로 추출물 첨가에 의해서 일반세균과 곰팡이의 생균수가 1 log cycle 범위 내에서 변화했을 뿐 큰 변화는 관찰되지 않았다. 발효옷 추출물 첨가에 의해서 skim milk 분해활성은 13.8-26.0%, starch 분해활성은 16.1-35.1%, acidic protease의 활성은 1.8-2.5배, 1.9, α -amylase의 효소활성은 6.4-7.0배 증가되었다. 발효옷 추출물이 첨가된 된장의 총 유리아미노산 함량은 각각 855.97, 1899.01, 1675.03, 1733.07 mg%로 추출물 첨가에 의해서 1.4-3.0배 상승하였으며, alanine, arginine, aspartic acid, citrulline, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tyrosine, valine 등이 주요 유리아미노산이었다. 유기산은 lactic, acetic, pyroglutamic acid가 주요 유기산이었다. 일반성분은 pH, 수분, 회분,

염도, 아미노산성 질소 함량이 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 농진청 공동연구사업(과제번호: PJ007663) 및 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ008600)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

참고문헌

- An, H. S., Bae, J. S. and Lee, T. S. 1987. Comparison of free amino acids, sugars, and organic acids in soy bean paste prepared with various organisms. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 30:345-350. (in Korean).
- Byun, J. S., Han, Y. H., Hong, S. J., Hwang, S. M., Kwon, Y. S., Lee, H. J., Kim, S. S., Kim, M. J. and Chun, W. 2010. Bark constituents from mushroom-detoxified *Rhus verniciflua* suppress kainic acid-induced neuronal cell death in mouse hippocampus. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 14:279-283. (in Korean).
- Chang, M. and Chang, H. C. 2007. Characteristics of bacterial-koji and doenjang(soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJI. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 35:325-333. (in Korean).
- Choi, H. S., Kim, B. H., Yeo, S. H., Jeong, S. T., Choi, J. H., Park, H. S. and Kim M. K. 2010. Physicochemical properties and physiological activities of *Rhus verniciflua* stem bark cultured with *Fomitella fraxinea*. *Korean J. Mycol.* 38:172-178. (in Korean).
- Choi, H. S., Kim, M. K., Park, H. S., Yun, S. E., Mun, S. P., Kim, J. S., Sapkota, K., Kim, S., Kim, T. Y. and Kim S. J. 2007. Biological detoxification of lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark by mushroom species. *Food Sci. Biotechnol.* 16:935-942.
- Choi, H. S., Yeo, S. H., Jeong, S. T., Choi, J. H., Kang, J. E. and Kim, M. K. 2012a. Effect of the extracts from fermented-*Rhus verniciflua* Stem Bark with *Fomitella fraxinea* on the growth and enzyme activity of soybean product-fermenting microorganisms. *Korean J. Mycol.* (2012, submitted). (in Korean).
- Choi, H. S., Yeo, S. H., Jeong, S. T., Choi, J. H., Park, H. S. and Kim, M. K. 2012b. Preparation and characterization of urushiol free fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44:173-178. (in Korean).
- Chung, H. Y., Fung, P. K. and Kim, J. S. 2005. Aroma impact components in commercial plain sufu. *J. Agric. Food Chem.* 53:1684-1691.
- Eom, S. K. and Kim, K. S. 2008. On estimation of indication, property and processing of *Rhus verniciflua* Stokes. *J. Oriental Med. Classics.* 21:29-37. (in Korean).
- Epstein, W. L. 1974. Poison oak and poison ivy dermatitis as an occupational problem. *Cuits.* 13:544-548.
- Hofvendahl, K. and Hagerda, B. H. 2000. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme Microb. Technol.* 26:87-107.
- Jeong, J. H., Kim, J. S., Lee, S. D., Choi, S. H. and Oh, M. J. 1998. Studies on the contents of free amino acids, organic acids and isoflavones in commercial soybean paste. *J.*

- Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27:10-15. (in Korean).
- Kato, H., Rhue, M. R. and Nishimura, T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food tasted. American Chemical Society, Washington, DC. USA. pp. 158-174.
- KFDA. 2010. Analytical Methods Of Korean Food Code. Korea Food & Drug Administration, Cheongwon, Korea. (in Korean).
- KFDA. 2012. Notice No. 2012-204. Administrative notice of partial revision of the proposed criteria and standards for foods.
- Kim, J. 2004. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste –amino nitrogen, amino acids, and color-. *J. Fd Hyg. Safety.* 19:31-37. (in Korean).
- Kim, J. K. 1998. Modification of traditional fermented soy products by modern technology. Ministry of Science and Technology. pp. 235-375. (in Korean).
- Kim, J. K. 2000. Mass Production of traditional fermented soy products by biotechnological technique. Ministry of Science and Technology. pp. 265-421. (in Korean).
- Kim, J. W., Doo, H. S., Kwon, T. H., Kim, Y. S. and Shin, D. H. 2011. Quality characteristics of *doenjang meju* fermented with *Aspergillus* species and *Bacillus subtilis* during fermentation. *Korean J. Food Presev.* 18:397-406. (in Korean).
- Kim, M. J. and Rhee, H. S. 1993. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation(II). *Korean J. Soc. Food Sci.* 9:257-260. (in Korean).
- Kim, M. O., Kim, J. S., Sa, Y. J., Jeong, H. J., Chun, W. J., Kwon, Y. S., Kim, T. Y., Choi, H. S., Yu, C. Y. and Kim, M. J. 2010. Screening of extraction solvent condition of fermented *Rhus verniciflua* stem bark by antioxidant activities. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 18:217-223. (in Korean).
- Kim, S. H. and Lee, K. A. 2003. Evaluation of taste compounds in water-soluble extract of a *doenjang* (soybean paste). *Food Chem.* 83:339-342.
- Leejeerajumnean, A., Duckham, S. C., Owens, J. D. and Ames, J. M. 2001. Volatile compounds in bacillus fermented soybeans. *J. Sci. Food Agric.* 81:525-529.
- Nam, Y. D., Lee, S. Y. and Lim, S. I. 2012. Microbial community analysis of Korean pastes by next-generation sequencing. *Int. J. Food Microbiol.* 155:36-42.
- Namba, T. 1980. Coloured illustrations of Wakan-Yaku. Hoikusha Publishing Co., Ltd., Osaka, Japan. p. 215.
- NAQS. 2012. Food standards and specifications of Korean traditional food. National Agricultural Products Quality Management Service.
- Oh, G. S., Kang, K. J., Hong, Y. P., An, Y. S. and Lee, H. M. 2003. Distribution of organic acids in traditional and modified fermented foods. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 32:1177-1185. (in Korean).
- RDA. 2010. Process for production of urushiol free lacquer tree bark extract and its utilization. Korean Patent 10-2010-0113258. (in Korean).
- Rhee, C. H., Lee, J. B. and Jang, S. M. 2000. Changes of microorganisms, enzyme activity and physiological functionality in the traditional *doenjang* with various concentration of *Lentinus edodes* during fermentation. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 43:277-284. (in Korean).
- Sapkota, K., Kim, S., Kim, M. K. and Kim, S. J. 2010. A detoxified extract of *Rhus verniciflua* Stokes upregulated the expression of BDNF and GDNF in the rat brain and the human dopaminergic cell line SH-SY5Y. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74:1997-2004.
- Sapkota, K., Kim, S., Park, S. E. and Kim S. J. 2011. Detoxified extract of *Rhus verniciflua* stokes inhibits rotenone-induced apoptosis in human dopaminergic cells, SH-SY5Y. *Cell Mol. Neurobiol.* 31:213-23.
- Shin, D. H., Kim, D. H., Choi, U., Lim, D. K. and Lim, M. S. 1996. Studies on the physicochemical characteristics of traditional *Kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28:157-161. (in Korean).
- Shukla, S., Choi, T. B., Park, H. K., Kim, M., Lee, I. K. and Kim, J. K. 2010. Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste (*Doenjang*). *Food Chem. Toxicol.* 48:2005-2010.
- Yang, S. H., Choi, M. R., Kim, J. K. and Chung, Y. G. 1992. Characteristics of the taste in traditional Korean soybean paste. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21:443-448. (in Korean).
- Yoo, S. K., Cho, W. H., Kang, S. M. and Lee, S. H. 1999. Isolation and identification of microorganisms in Korean traditional soybean paste and soybean sauce. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27:113-117. (in Korean).
- Yoo, S. K., Kang, S. M. and Noh, Y. S. 2000. Quality properties on soy bean pastes made with microorganisms isolated from traditional soy bean pastes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32:1266-1270. (in Korean).
- Yoshizawa, Y., Ishikawa, T. A., Tadenuma, M., Nagasawa, M. and Nagami, K. 2004. Encyclopedia of brewing and fermentation food. brewing. Asakura Publishing Co., Ltd. Tokyo, Japan. pp. 410-417.