ISSN(Print) : 1738-7248, ISSN(Online) : 2287-7428
Korean J Food Preserv
20(6), 818-826 (2013)
http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.6.818

사단법인 한국식품저장유통학회
The Korean Society of Food Preservation

Evaluation in physicochemical properties of soy sauce fortified with soymilk residue (okara koji)

Young-Cheol Song[1], Sam-Pin Lee[1,2]*
[1]*Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea*
[2]*The Center for Traditional Microorganism Resource (TMR), Keimyung Univerity, Daegu 704-701, Korea*

비지 koji 첨가에 따른 양조간장의 발효 중 이화학적 특성 평가

송영철[1] · 이삼빈[1,2]*
[1]계명대학교 식품가공학과, [2]계명대학교 TMR 센터

Abstract

To evaluate the practical use of okara koji in soy sauce fermented with soybean koji, the okara koji was fortified with different contents (0, 50, and 100%) in soybean koji and then fermented for 90 days. The saltiness of the soy sauce was about 17.15~17.22%. The higher okara koji content showed lower net soluble solid contents of 8.73, 6.12, and 2.50%, as well as lower acidity levels of 1.09, 0.98, and 0.47%. The buffering capacity of the soy sauce decreased to 1.26-3.41 by adding higher okara koji. The protease activity was higher in the soy sauce with 50% orara koji and decreased with longer fermentation. Also, the tyrosine content peaked to 275.2 mg% after 90 days. α-amylase showed higher activity in the soy sauces fortified with okara koji, which resulted in the highest total sugar and reducing sugar contents after 60 days. The total sugar and the reducing sugar in the soy source decreased after longer fermentation. The total free amino acid contents of the soy sources fortified with okara koji (0, 50, and 100%) were 41.68 mg/mL, 33.10 mg/mL, and 9.27 mg/mL, respectively. In particular, the glutamic acid contents of the three types of soy sauces were highest, and most amino acids, except for glutamine, increased during the fermentation for 90 days. The sensory evaluation, except of the saltiness and color, showed similar values in the soy sauces, except in the okara koji 100%. Thus, okara koji could be a valuable ingredient of traditional soy sauces. However, the 50% okara koji did not differ significantly from the others.

Key words : okara koji, soy source, tyrosine, α-amylase, protease

서 론

간장은 쌀을 주식으로 하는 동남아 지역에서 콩 원료에 곰팡이 등의 미생물을 이용하여 제조되고 있는 전통적인 대두발효식품이다. 최근 들어 생활환경의 급속한 변화로 인하여 산업적으로 생산된 개량식 양조간장의 비중이 증가하고 있는 추세이다. 간장에 관한 연구로는 사입과 숙성조건의 영향(1), 전통간장의 기능성 물질 탐색(2,3), 품질개선을 위한 메주의 제조법개선(4), 재래식간장에 효모를 첨가한 공정개선(5). *Aspergillus*속 균류를 이용한 간장 생화학적 특성연구(6), 전통간장의 숙성기간별 생육 미생물의 분리 및 동정(7), 제조기간에 따른 재래식간장의 발효특성(8), 담금 비율을 달리한 간장의 품질의 영향에 미치는 영향(9), 고온에서의 간장 제조법에 대한 연구(10) 및 간장 제조시에 효소적 가수분해에 대한 연구(11) 등이 보고되었다. 또한 영양 지향적 기능성에 중점을 두어 DHA함유 간장의 제조(12), 키토산 간장의 제조법(13), *Monascus*균을 이용한 간장의 제조(14) 등이 보고되었다.

일반적으로 비지는 두부제조과정에서 생산되는 부산물로서 콩 파쇄물의 착즙방법에 따라 열처리된 비지와 비열처리된 비지로 구분된다. 이러한 비지에는 수용성 물질이 빠져나간 상태이긴 하나 양질의 단백질과 풍부한 섬유소를 비롯한 많은 영양성분들을 포함하고 있다(15,16). 비지 단백질은 다른 식품 단백질에서 부족 되기 쉬운 함황 아미

*Corresponding author. E-mail : splee@kmu.ac.kr
Phone : 82-53-580-5554, Fax : 82-53-580-6447

노산과 lysine이 풍부하여 양질의 단백질로 평가되고 있다(17). 또한 비지의 식이 섬유소는 과실 펙틴과는 다른 다량의 중성 당을 함유한 다당류인 것으로 보고되었다(18). 그러나 비지의 이러한 영양적 우수성에서 불구하고 높은 수분함량과 자체 존재하는 미생물에 의해 쉽게 변질되기 때문에 현재 일부분만이 대두유 생산에 재활용되고 나머지는 대부분이 가축의 사료로 이용되거나 부패된 상태로 폐기처리되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 두부 제조시에 부산물로 생산되는 비지를 활용하여 *Aspergillus* 속을 접종하여 고체배양을 통한 비지 koji생산의 최적화 조건을 탐색하였으며, 다양한 농도의 비지 koji를 개량식 알메주를 이용한 양조간장 제조 시에 첨가함으로서 발효 중에 이화학적 특성 및 관능평가를 수행하였다. 이를 통해서 부산물로서 비지를 발효소재로 활용한 양조간장의 제조 가능성을 살펴보았으며, 비지 koji의 양조간장 제조의 소재로 활용을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에 사용된 비지는 아워홈에서 두유를 압착할 때 발생한 비지를 제공받아 냉동보관하면서 사용하였다. 개량형 알메주와 식염은 알알이 식품, 멥쌀분은 가루나라, 제국용 균주인 *Aspergillus oryzae*(포자수 2.4×10^9, 수분 6.65%)는 충무발효(주)(울산, 한국)에서 각각 구입하여 이용하였다. 아미노산 분석에 사용한 시약은 모두 특급 이상을 사용하였다.

비지 koji가 첨가된 양조간장의 제조

비지 koji가 첨가된 양조간장을 제조하기 위하여 먼저 비지, 멥쌀분말, 그리고 *Asp. oryzae*의 비율을 100 : 6 : 0.5 (w/w/w)의 비율로 혼합하여 30℃에서 48시간동안 제국하여 비지 koji를 제조하였다. 간장 담금을 위해서 물 2 L와 소금 480 g을 녹인 소금물에 대조군으로 알메주 550 g을 그물망에 넣어 담금 하였다. 실험군은 알메주와 비지 koji를 각각 50 : 50, 0 : 100의 비율로 대조군과 동일한 방법으로 담금하여 간장을 제조하였다. 90일 동안 숙성시키면서 30일 간격으로 간장을 채취하고 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 간장의 상등액을 본 실험에 사용하였다.

염도, pH, 산도 및 완충능 측정

염도는 Mohr(19)법에 따라 50배 희석된 간장 5 mL를 10%(v/v) K_2CrO_4 용액 1 mL를 가하고, 0.1 N $AgNO_3$ 용액을 가하여 적갈색이 15초간 사라지지 않을 때까지 소비된 질산은 용액의 양을 이용하여 산출하였다. pH는 pH meter (Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 측정하였다. 산도는 시료 10 mL를 0.1 N NaOH를 이용해 pH 8.3까지 적정종말점으로 하여 산출하였다. 완충능은 간장 원액 5 mL에 0.1 N NaOH 3 mL를 넣은 후 pH 값의 차이를 완충능으로 하였다(20).

환원당 및 총당 측정

간장의 환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS)법(21)에 따라 증류수로 50배 희석한 시료 추출액 1 mL에 DNS시약 3 mL를 가한 후 100℃의 수욕상에서 10분간 중탕 가열한 다음 냉각하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. Glucose (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 0.2~1.0 mg/mL의 농도범위에서 작성한 표준검량곡선에 따라 환원당 함량을 정량하였다.

총당 함량은 phenol-H_2SO_4법(22)에 따라 간장 0.1 mL를 증류수로 100 mL로 정용한 다음 여과한 시료액 1 mL에 5% 페놀 용액 1 mL 및 진한 황산 5 mL를 차례로 가하여 30분간 실온에서 정치시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며, glucose(Sigma, Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 작성한 표준 검량선에 의해 계산하였다.

Protease 활성도 측정

Protease 활성은 Sarath 등(23)의 방법에 준하여 측정하였다. 우선 간장 5 mL에 증류수로 45 mL를 가하여 여과지 (Whatman No. 41)로 여과하고 얻은 용액 0.35 mL에 0.6% bovine casein 0.35 mL(0.02 M sodium phosphate buffer, pH 7.0)을 가하여 10분간 반응시켰다. 여기에 0.44 M TCA (trichloro acetic acid) 0.7 mL를 가하여 37℃에서 30분간 반응을 정지시킨 후 15,000 rpm, 15분 동안 원심분리하여 얻은 상등액 1 mL을 0.55 M Na_2CO_3 2.5 mL, folin 시약 0.5 mL를 가하여 37℃에서 30분간 발색시켜 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 효소단위는 1분간 1 μg의 tyrosine을 생성하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

α-Amylase 활성도 측정

조효소액은 간장 원액을 15,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 사용하였다. α-Amylase 활성도는 1% 전분용액(0.02 M sodium phosphate buffer, pH 7.0) 1 mL에 조효소액을 1 mL 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후, 1 M acetic acid 10 mL로 반응을 정지시키고, I_2 0.005%와 KI 0.5% 혼합액 2 mL를 가하여 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여, blank 흡광도 값의 10%를 감소시키는 것을 1 unit로 하여 간장 mL당으로 나타내었다(24).

갈색도 측정

간장의 갈색도는 시료를 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 spectrophotometer(UVKION, Kontron

instruments, Montigny, France)를 이용하여 420 nm, 400 nm와 500 nm에서의 흡광도 비율을 갈변의 척도로 사용하였다(25,26).

Tyrosine함량 측정

간장의 peptide생성정도를 측정하기 위하여 Folin phenol 시약을 이용하여 간장에 존재하는 tyrosine함량을 측정하였다(27). 각각의 간장을 증류수로 5배 희석하여 추출한 시료액 0.7 mL에 0.44 M TCA 0.7 mL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 다음, 15,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 침전물을 제거하였다. 회수된 상등액 1 mL에 0.55 M Na_2CO_3 2.5 mL와 phenol reagent 0.5 mL를 차례로 넣고 혼합한 후 37℃ 항온수조에서 30분간 반응시켰다. 상온에서 냉각 후 반응액의 흡광도를 spectrophotometer(UNION, Kontron Instruments)로 660 nm에서 측정하였다.

유리아미노산 함량 측정

유리아미노산 분석은 건조시킨 간장 시료를 PITC (phenylisothiocyanate)용액으로 유도체화 하여 건조시킨 후 A 용매 (140 mM NaHAc, 0.1% TEA, 6% CH_3CN, pH 6.1) 200 μL와 함께 혼합하여 원심분리 하였다. 이 상등액을 0.45 μm syringe filter로 여과하여 분석시료로 하여 아미노산 자동 분석기로 정량하였다. 분석기 조건은 Waters Nova-Pak C_{18} 4 μm column을 사용하였고, detector는 UV 254 nm을 사용하였으며, injection volume은 standard 10 μL, samples 2 μL를 주입하였다.

관능검사

90일 동안 발효시킨 양조간장의 기호도를 조사하기 위하여 간장 맛을 훈련한 패널 10명을 선정하여 각 구별로 색, 향기, 짠맛, 신맛, 단맛, 구수한 맛, 종합적 기호도로 항목을 나누어 5점 척도법(1=매우 싫다, 5=매우 좋다)으로 실시하였다(28).

통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS (statistical package for social science, 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 검증하였다. $p<0.05$ 이상일 때만 통계계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다(29).

결과 및 고찰

간장 발효액의 염도, pH, 산도 및 완충능

알메주 또는 비지 koji를 50%, 100% 수준으로 첨가한 담금액의 염도는 17.15~17.22%를 나타내었으며, 이는 일반적인 양조간장의 제조시에 사용하는 염도와 유사한 것으로 분석되었다(30). 간장 발효 기간에 따른 pH, 산도 및 완충능 측정 결과는 Fig. 1과 같다. 양조간장의 pH는 발효 후 30일까지 pH 4.27~4.89로 급격하게 감소하는 것으로 나타났으며, 발효 90일 에서 비지 koji 50% 첨가구에서 pH 4.92로 가장 높았다. 그리고 침지기간 60일을 지나면서 pH가 오히려 약간 증가하는 경향을 나타내었다. Park 등(31)은 콩알형 개량메주로 담근 간장에서 저장기간이 길어짐에 따라 암모니아태 질소의 감소와 함께 간장의 pH도 감소한다고 보고하였으며, 발효과정 중 pH가 약간 상승하는 경향도 발효과정에서 생성된 유기산이 알코올발효에 의하여 ester를 생성하여 pH가 상승하였거나 암모니아성 질소의 영향을 받는다는 보고(32)가 있었다.

간장의 산도는 발효 90일 동안 모두 증가하였으며, 이와 같은 결과는 Chae(19)의 연구에서 담금 조건에 따른 간장의 모든 군에서 침지기간이 길어짐에 따라 산도가 증가하였다고 보고한 결과와 일치하였다. 그리고 비지 koji 첨가율이 높을수록 산도가 낮았으며 비지 koji 0, 50, 100% 첨가구에서 각각 1.09, 0.98, 0.47%로 나타나는 것을 알 수 있었다. 이는 koji곰팡이에 의해서 생성되는 유기산에 의한 것으로

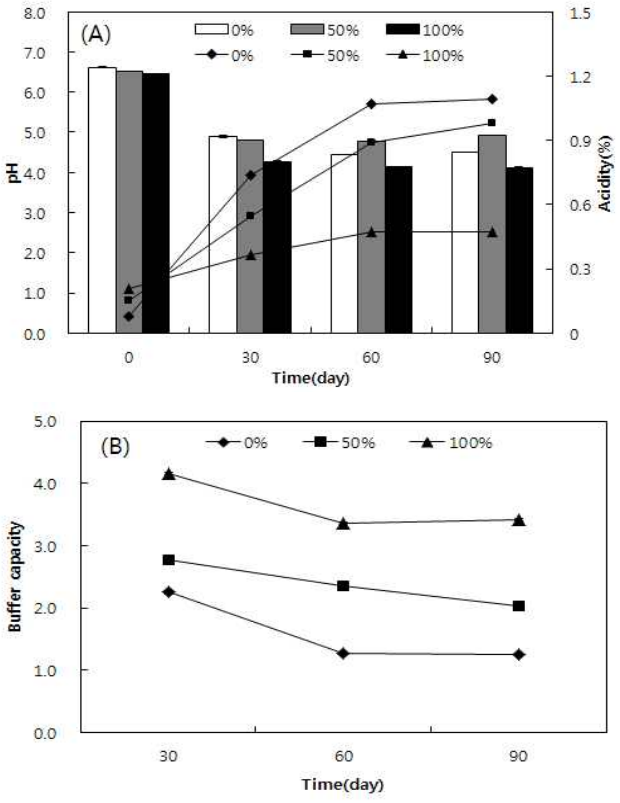

Fig 1. Changes in pH, acidity and buffer capacity of soy sauces during fermentation for 90 days. (A) pH (■), acidity (—) (B) buffer capacity

% : the content of Okara koji fortified (0%, 50%, 100%)

사료되며, koji형 알메주 첨가는 영양성분 공급 등 곰팡이생육 환경을 제공하는 것으로 판단된다. 또한 알메주를 이용하여 90일 동안 발효시킨 경우에 높은 산도에도 불구하고 비지 koji가 첨가된 조건보다 높은 pH를 보이는 것은 간장 발효액의 높은 완충작용에 기인한 것으로 사료된다.

간장의 완충능은 Joo 등(33)은 양조간장과 화학간장 판별의 한 지표로서 간장의 중요 규격으로 설정되어 있으며, 수치가 적을수록 완충작용이 강하다는 것을 의미하여 양질의 간장으로 평가된다 하였고, 숙성 기간에 따른 전통 간장의 연구에서는 90일 까지 숙성되면서 완충능이 2.22~1.86으로 감소하였다고 보고하였고, 본 연구에서는 90일째 비지 koji 0, 50, 100% 첨가구에서 각각 1.26, 2.04, 3.41로 나타나 비지 koji 무첨가구 또는 비지 koji 50% 첨가구에서는 완충작용이 더 강한 것으로 판단된다.

Protease 활성

간장의 맛은 아미노산, inosinic acid, 당, 아민, 유기산, NaCl 등의 복합적인 맛성분 등이 주로 관여한다(34). 특히 감칠맛과 구수한 맛에 관여하는 유리아미노산의 함량은 protease의 활성도에 영향을 받는다. 따라서 간장의 발효 중 protease의 활성도 측정 결과는 Fig. 2와 같다. Protease 활성은 발효 30일에 대조구, 시험구 모두 최대값을 나타냈고, 담금 기간이 증가할수록 단백질 분해효소활성은 크게 감소되었다. 이는 Park 등(35)의 연구결과와 비슷한 경향을 보였다. 간장 담금 90일에서는 비지 koji 0% 첨가구에서 protease 활성이 나타나지 않았다. 콩메주에 함유된 곰팡이 유래 단백질 분해효소는 비지 koji만을 사용해 담금한 경우와 비교할 때 높은 단백질분해효소 활성을 보이면서, 30일 동안 담금 과정에서 용출된 단백질분해효소 활성은 20 unit/mL정도를 나타내었다. 반면에 담금 초기 시료에서는 단백질분해효소 활성이 검출되지 않았으며, 이는 알메주 등에 존재하는 효소가 용출되기 위해서는 일정 기간 담금과정이 필요하다는 것을 알 수 있었다. 특히 비지 koji 50% 첨가구에서 단백질 분해효소 활성이 26.5 unit/mL로 가장높게 나타났는데, 이는 알메주 및 비지코지에 존재하는 곰팡이로부터 일부 단백질분해효소가 추가로 생성되어 나타나는 현상으로 추축된다. 따라서 콩메주 또는 비지 koji로부터 유래된 단백질 분해효소에 의한 가수분해효소의 작용으로 원료 단백질이 펩타이드 및 아미노산으로 분해되어 맛 성분에 관여할 것으로 판단된다.

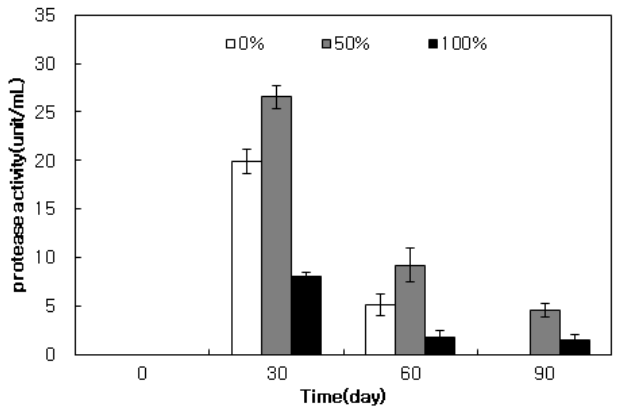

Fig. 2. Changes in protease activity of soy sauces during fermentation for 90 days.

α-Amylase 활성

간장의 α-amylase 활성 측정 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 우선 비지 koji의 첨가 유무에 따라 효소활성의 차이를 보였으며 30일 째 대조구인 비지 koji 0%에서는 1.41 unit/mL였지만 시험구인 비지 koji 50, 100% 첨가구에서 6.41, 7.08 unit/mL로 높게 나타났다. 이는 비지 koji를 제조할 때 사용된 *Asp. oryzae*에 의해 생성된 가수분해 효소가 간장 발효에 첨가됨으로 효소작용이 활발히 일어났기 때문이라 생각된다. 하지만 담금 기간이 30일 이후로는 효소활성이 감소하는 것을 알 수 있었고, 이는 Park 등(36)의 연구결과보다 효소활성이 더 높았으며, 경향도 일치하는 것으로 보였다. 특히 발효 90일에서는 대조구의 효소활성이 나타나지 않았고, 비지 koji 100% 첨가구는 효소활성이 발효기간 동안 급격히 감소하는 것을 나타내었다.

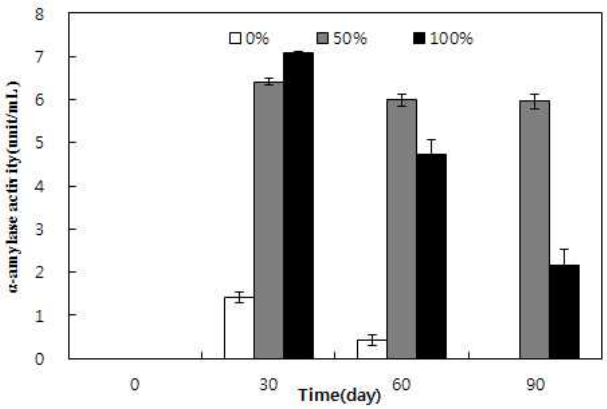

Fig. 3. Changes in α-amylase activity of soy sauces during fermentation for 90 days.

Tyrosine 함량

Tyrosine 함량 측정은 단백질로부터 가수분해된 펩타이드 함량을 간접적으로 측정하는 방법으로 담금과정 중에 간장의 tyrosine의 함량 변화는 Fig. 4에 나타내었다. Tyrosine은 담금 일로부터 30일 동안 급격히 증가한 후 서서히 증가하는 경향을 나타냈으며 알메주 100%와 알메주 50%를 포함하는 담금에서 100% 비지 koji 만을 사용한 경우보다 높은 tyrosine함량을 나타내었다. 이는 알메주 원료 단백질의 단백질분해효소에 의한 가수분해의 결과로 사료된다. 특히, 담금 90일 째 분석결과 250.64 mg%로 나타

난 대조구에 비해 비지 koji 50% 첨가구가 275.20 mg%로 더 높은 것을 알 수 있었다. 이는 단백질분해효소 활성이 비지 koji 50%을 첨가한 담금에서 가장 높았던 결과와 연관성이 있는 것으로 판단된다.

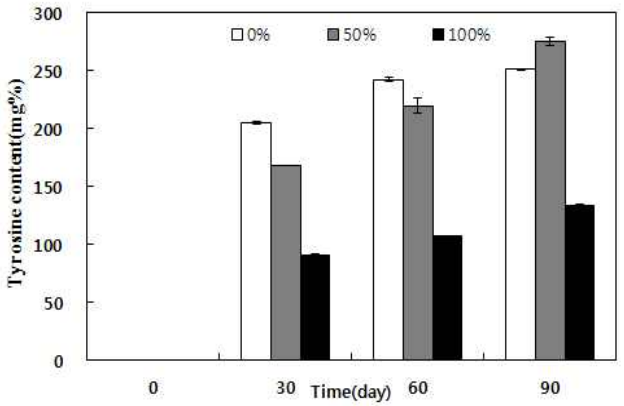

Fig. 4. Changes in tyrosine content of soy sauces during fermentation for 90 days.

환원당 및 총당 함량

간장의 발효 숙성 중 환원당과 총당 함량의 변화를 나타낸 결과는 Fig. 5와 같다. 담금 기간이 증가함에 따라 환원당과 총당의 변화는 증가하는 경향을 나타내고 있으며, 담금 후 60일까지 최고치에 도달한 후 감소하는 경향을 보였다. 환원당은 담금 30일 후에 비지 koji 무첨가구에서 22.4 mg/mL로 비지 koji를 50, 100% 수준으로 첨가한 시료에서 각각 12.54, 12.18 mg/mL에 비해 2배 정도 높았지만, 담금 60일에는 알메주 또는 비지 koji가 첨가된 경우에 모두 비슷한 환원당 값을 나타냈다. Son 등(37)은 개량메주군의 환원당 함량은 2.8~3.7% 정도라고 보고하여 본 연구보다 결과값이 높았지만 담금용기가 항아리일 경우 환원당 수치가 높게 나타났다는 보고에 따라 담금용기에 따른 차이로 판단된다. 환원당은 알데하이드 또는 케톤기를 함유한 당의 일종으로 포도당, 과당, 엿당, 글리세르알데하이드 및 아라비노스 등이 여기에 속하며, 간장 중의 환원당은 간장의 담금과 숙성 중에 유입된 미생물에 의해 생성된 amylase가 메주 중의 전분질을 분해하여 생성되므로 amylase의 활성과도 관련성이 있다(38).

간장 담금 90일 후에는 알메주 만을 이용한 담금에서 환원당이 가장 크게 감소하면서 비지 koji를 첨가한 담금에서도 약간의 감소를 보였는데, 이는 담금액 중의 아미노산과 환원당 성분의 비효소적 갈변화에 의한 손실로 사료된다. 또한 알메주 또는 비지 koji가 첨가된 개량 양조간장 담금에서 90일 정도 기간이 소요되면서 간장의 색상 등 생화학적 변화가 수반되는 것으로 판단된다. 또한 담금 30일 후에 간장 담금액 총당의 함량은 알메주 만을 이용한 경우에 가장 높은 값을 보였으며, 비지 koji 첨가량이 증가할수록 총당 함량은 낮은 값을 보였다. 이는 담금 초기에는 코지에 함유된 탄수화물 가수분해 효소의 작용보다는 담금에 사용된 원료성분에 따라 차이가 있으며, 비지 koji에 비해서 알메주 원료에 존재하는 당성분의 용출이 총당의 함량에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

총당 함량도 비지 koji 0% 첨가구의 간장 담금액에서 31.4 mg/mL와 비교해서 시험구인 비지 koji 50, 100% 각각 첨가된 간장이 발효 후 60일이 지나면서 각각 38.4, 39.6 mg/mL로 증가하였다. 이후로는 환원당과 총당의 함량이 약간 감소하는 경향을 나타냈는데 이는 유리된 당과 아미노산이 갈변화 반응에 일부 사용된 것으로 판단된다.

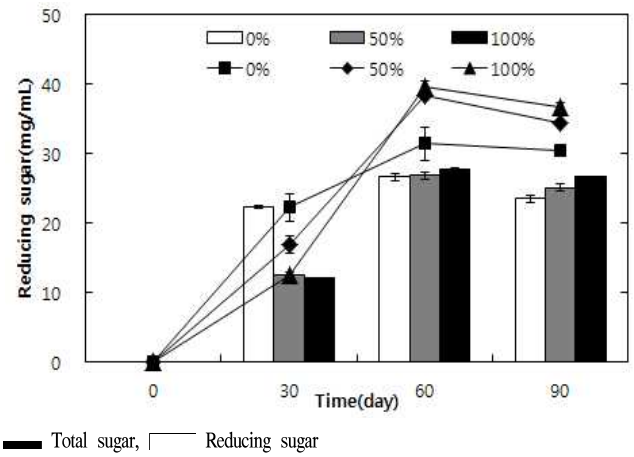

Fig. 5. Changes in reducing sugar and total sugar content of soy sauces during fermentation for 90 days.

갈색도 측정

양조간장의 색상변화를 흡광도 측정을 통해서 평가하였으며, 이에 대한 결과는 Table 1에 나타내었다. 흡광도를 420 nm에서 측정한 결과 담금 조건에 관계없이 발효 기간이 길어짐에 따라 흡광도가 증가하였으며, 발효 90일에 알메주, 비지 koji 50, 100% 첨가구에서 각각 1.33, 1.16, 0.46으로 나타나면서, 알메주 만을 이용한 경우에 가장 진한 갈색 색상을 나타내는 것을 알 수 있었다. 또한 비지 koji 50%를 첨가한 경우에도 알메주 만을 이용한 담금액과 유사한 흡광도 값을 나타내었다. 반면에 비지 koji만을 이용한 경우에는 420 nm에서 흡광도 값이 매우 적었으며 간장 색상에 차이가 있음을 알 수 있었다.

Lee(26)는 적색색소의 최대흡수 파장은 500 nm이고 황색색소의 최대흡수 파장은 400 nm임을 고려하여 두 파장에서의 흡광도 비율로 간장의 색도를 측정할 수 있다고 하였으며 한국의 시판간장은 3.13~3.39의 비율로 나타냈다고 보고하였다. Table 1에서 나타내는 것처럼 간장 발효액의 흡광도 400/500 nm에 대한 흡광 비율은 숙성 기간에 따라 알메주 100%(1.25~3.65), 비지 koji 50%(1.25~3.65), 비지 koji 100%(1.25~5.14)의 비율로 나타났다. 이는 모든 조건

Table 1. Changes in brown color of soy sauces during fermentation for 90 days

Fermentation days	420[1]			400/500[2]		
	0%	50%	100%	0%	50%	100%
0	0.32±0.00	0.32±0.00[a]	0.32±0.00	1.25±0.00	1.25±0.00[a]	1.25±0.00[a]
30	0.94±0.00	0.75±0.00[b]	0.37±0.00	3.65±0.00	3.62±0.01[c]	4.83±0.01[b]
60	1.24±0.00	0.98±0.00[c]	0.42±0.00	2.69±0.00	3.54±0.00[b]	5.10±0.01[c]
90	1.33±0.00	1.16±0.02[d]	0.46±0.00	2.74±0.00	3.65±0.00[d]	5.14±0.01[d]

[1]Absorbance of 420 nm; [2]Absorbance ratio of 400 nm to that of 500 nm; Values are means±SD; [a-d]Means in a same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

Table 2. Changes in the free amino acid contents soy sauces during fermentation for 90 days

(mg/mL)

Amino acid	0%				50%				100%			
	0 day	30 day	60 day	90 day	0 day	30 day	60 day	90 day	0 day	30 day	60 day	90 day
Cys	0	0.00	0.00	0.08	0	0.00	0.00	0.00	0	0.00	0.00	0.00
Asp	0	1.73	0.99	1.40	0	1.55	2.65	3.25	0	0.47	0.63	0.71
Glu	0	3.32	4.76	5.42	0	2.72	4.04	4.52	0	0.96	1.17	1.19
Asn	0	0.07	0.10	0.09	0	0.13	0.09	0.09	0	0.14	0.18	0.16
Ser	0	1.32	1.85	2.18	0	0.98	1.48	1.81	0	0.37	0.50	0.52
Gln	0	1.41	0.62	0.45	0	1.03	0.62	0.46	0	0.27	0.14	0.10
Gly	0	0.58	0.86	0.96	0	0.53	0.85	0.96	0	0.21	0.28	0.27
His	0	0.70	1.14	1.26	0	0.56	0.93	0.98	0	0.21	0.29	0.24
Arg	0	1.28	0.19	0.30	0	1.31	1.91	2.03	0	0.16	0.25	0.30
Thr	0	0.98	1.41	1.63	0	0.74	1.27	1.48	0	0.31	0.43	0.44
Ala	0	1.15	2.69	3.19	0	0.92	1.53	1.76	0	0.53	0.68	0.74
Pro	0	0.54	1.03	1.13	0	0.54	1.09	1.32	0	0.27	0.39	0.42
Tyr	0	1.03	1.30	1.41	0	0.78	1.25	1.38	0	0.38	0.43	0.45
Val	0	1.26	1.93	2.18	0	0.98	1.81	2.17	0	0.43	0.57	0.65
Met	0	0.46	0.71	0.83	0	0.34	0.59	0.64	0	0.15	0.18	0.18
Cys2	0	0.09	0.11	0.25	0	0.10	0.16	0.17	0	0.03	0.06	0.00
Ile	0	1.38	2.08	2.53	0	1.03	1.83	2.23	0	0.39	0.51	0.61
Leu	0	2.12	3.38	4.04	0	1.67	2.84	3.41	0	0.69	0.89	0.98
Phe	0	1.27	1.94	2.37	0	0.97	1.62	1.79	0	0.38	0.50	0.47
Trp	0	0.79	5.73	6.22	0	0.30	0.64	0.57	0	0.15	0.20	0.14
Lys	0	1.99	2.99	3.79	0	1.49	2.16	2.69	0	0.50	0.66	0.70
TAA[1]	0	23.45	35.80	41.68	0	18.69	29.35	121.02	0	7.01	8.94	9.27

[1]TAA (Total amino acid)

에서 발효 초기에는 간장 고유한 색상을 나타내지 않았지만, 발효 30일 후 부터는 알메주 또는 비지 koji 50%를 첨가한 경우에 간장의 색상을 나타내는 것으로 나타났다. 특히 알메주 50%와 비지 koji 50%를 혼합하여 담금한 개량 양조간장에서 시판 간장과 유사한 흡광도 비율 값을 보였으며, 알메주 만을 이용한 경우에는 시판간장 보다 진한 황색을 나타내는 것으로 나타났다. 반면에 비지 koji 100%를 첨가한 경우에는 흡광도 비율 값이 시판 간장과 비교하여 많이 벗어나는 것을 알 수 있었다. 따라서 알메주에 비지 koji를 50% 수준으로 첨가하여 색상이 시판간장과 유사한 양조간장을 제조할 수 있음을 알 수 있었다.

양조간장의 유리아미노산 함량

간장 발효 중 koji 원료에 함유된 단백질이 효소에 의해

분해되어 생산된 아미노산은 간장의 품질을 결정하는 중요한 성분이다. 아미노산은 간장의 감칠맛과 영양학적 가치를 부여하게 된다(39). 비지 koji 첨가에 따른 간장의 유리아미노산 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 발효과정에서 아미노산은 glutamic acid를 포함한 21종이 검출되었으며 발효 기간이 길어질수록 유리아미노산의 함량은 발효기간 90일 동안 증가하는 것을 알 수 있었다.

아미노산 중 glycine, alanine, lysine 및 threonine 등은 단맛을 내고 methionine, valine, isoleucine, phenylalanine 및 leucine 등은 쓴맛을 내며 glutamic acid와 aspartic acid는 구수한 맛을 낸다고 알려져 있다(40). 알메주 만을 이용한 간장 발효액은 발효기간이 증가함에 따라 총 아미노산 함량이 각각 초기 23.45 mg/mL에서 41.68 mg/mL로 크게 증가하였으며, 비지 koji 50% 함유된 간장 발효액도 초기 18.69 mg/mL에서 33.71 mg/mL로 증가하는 경향을 보였다. 반면에 비지 koji 100%로 담금한 양조간장은 초기 7.01 mg/mL로 매우 낮은 총아미노산 함량을 보였으며, 90일 후에는 9.27 mg/mL로 약간의 증가를 보이면서 총아미노산 함량에 차이를 나타내었다. 특히 발효 기간중에 유리아미노산의 변화를 보면, 알메주 또는 비지 koji 50%를 사용하는 경우에 구수한 맛 성분인 glutamic acid 함량이 크게 증가하였으며, 소수성 아미노산인 isoleucine, leucine이 증가되는 경향을 보였다. 또한 glutamine을 제외한 필수아미노산인 lysine을 포함하여 대부분의 유리 아미노산이 발효기간 90일 동안 증가되는 경향을 나타내었다. 따라서 알메주 50%와 비지 koji 50%를 조건에서 발효된 양조간장이 함유한 유리아미노산 함량은 알메주 100%를 사용한 경우와 유사한 경향을 보이면서 양조간장의 구수한 맛을 포함한 조화된 맛과 풍미를 제공할 것으로 사료된다.

관능검사

비지 koji 첨가 유무에 따라 발효된 양조간장의 관능검사 결과는 Table 3에서 보여주는 바와 같이 종합적인 기호도는 대조구로 사용된 알메주 100% 첨가구에서 높은 값 3.90을 나타내었다. 비지 koji 100% 첨가구에서는 색도, 향미, 짠맛 등을 포함하는 모든 관능검사 항목에서 가장 낮은 점수를 얻었다. 반면에 알메주 50%와 비지 koji 50% 첨가구는 대조구에 비교하여 색도와 짠맛에서 차이를 보였으나, 풍미, 신맛, 단맛에서는 차이가 없는 것으로 나타내었다. 알메주 50%와 비지 koji 50%가 혼합된 발효액의 경우에 유리 아미노산을 포함한 고형분 함량이 적은 것이 관능적으로 짠맛을 더 느끼게 하는 것으로 사료된다.

Table 3. Comparison in sensory evaluation of different types of soy sauce.

Sensory characteristics	Types of soy sauce		
	0%	50%	100%[1)]
Color	3.80±0.63[a]	3.30±0.48[b]	2.00±0.00[c]
Flavor	3.80±0.63[a]	3.50±0.53[a]	1.90±0.57[b]
Salty	3.80±0.63[a]	3.30±0.67[ab]	2.60±1.26[b]
Sour	3.30±0.48[a]	3.20±0.42[a]	3.00±0.47[a]
Sweet	3.30±0.67[a]	3.30±0.67[a]	2.80±0.63[a]
Savory	3.50±0.71[a]	3.40±0.52[a]	2.70±0.67[b]
Overall	3.90±0.32[a]	3.50±0.53[b]	2.60±0.70[b]

[1)]The content of Okara koji fortified; Values are means±SD; [a-c]Means in a same row with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

요 약

본 연구는 비지 koji를 제조하여 개량식 알메주와 0, 50, 100%비율로 혼합하여 90일간 발효시켜 양조간장을 제조한 후 품질 평가한 결과는 다음과 같다. 담금액의 염농도는 17.15~17.22%를 나타내었으며, 비지 koji의 첨가량 증가에 따라 수용성 고형분은 각각 8.73, 6.12, 2.50%로 감소하였으며, 간장의 완충능은 알메주만을 사용한 경우에 1.25로 가장 높은 값을 보였다. 발효액의 pH는 발효 기간이 증가할수록 낮아졌으며, 비지 koji 50%에서 4.92를 나타내었다. 알메주, 비지 koji 50, 100% 각각 첨가한 간장의 산도는 1.09, 0.98 및 0.47%로 나타났다. 비지 koji 50%를 혼합하여 발효시킨 간장에서 protease와 α-amylase의 효소활성은 발효 30일에 각각 26.55, 6.41 unit/mL로 높았으며, 발효기간이 증가하면서 감소하는 경향을 보였다. Tyrosine 함량은 발효기간 중 증가하였으며, 발효 90일에 275.2 mg%로 비지 koji 50%를 사용한 간장에서 가장 높았다. 환원당과 총당의 함량은 발효 초기에는 알메주에서 높은 값을 나타내었으나, 발효 60일에는 비지 koji를 첨가한 간장에서 높은 총당 함량을 보였으며 90일에는 약간 감소하였다. 간장용액 갈색도는 발효시간에 따라 증가하였으며, 400/500 nm에 대한 흡광비율값의 범위는 알메주 100%(1.25~3.65), 비지 koji 50%(1.25~3.65), 비지 koji 100%(1.25~5.14)로 나타났다. 알메주 또는 비지 koji 50%를 첨가한 경우에 발효기간이 증가하면서 glutamine을 제외한 glutamic acid 등 대부분 유리 아미노산 함량이 증가하였으며, 반면에 비지 koij 100%를 사용한 간장은 매우 낮은 총아미노산 함량을 나타내었다. 관능검사 결과 비지 koji 50%을 이용하여 제조된 양조간장은 짠맛과 색도에서 차이를 제외하고는 유사한 값을 보였으며, 알메주 만을 사용한 간장의 기호도가 좋았으나 유의적인 차이는 없었다. 따라서 알메주에 비지 koji 50%를 첨가하여 발효시킨 양조간장은 일반성분, 색상과 맛 등 기호성이 양호하였다.

감사의 글

본 연구는 계명대학교 대학원 학생학술 연구 장학금으로 수행된 연구결과로 이에 감사드립니다.

References

1. Choi JD, Im MH, Lee HC, Kim CW, Choi YH, Choi KS (1997) The effects of mashing and maturing conditions on the quality of Korean traditional *kanjang* (soy source). Agric Chem Biotechnol, 40, 365-368
2. Choi SD (1997) A study on the physiological function of traditional kanjang and doenjang, and development of process for functional food. Annual Report of ARPC, Korea
3. Kim JK (1997) Study on the novel antimutagenic pigments in traditional soy sauce and soybean paste. Annual Report ARPC, Korea
4. Im MH, Choi JD, Chung HC, Lee SH (1998) Improvement of *meju* preparation method for the production of korean traditional *kanjang* (soy sauce). Korean J Food Sci Technol, 30, 608-614
5. Yoo JY, Kim HG, Kwon DJ (1998) Improved process for preparation of traditional *kanjang* (Korean-style soy sauce). J Korean Soc Food Sci Nutr, 27, 268-274
6. Kim DH, Kim SH, Choi NS, Bai S, Chun SB (1998) Biochemical characteristics of whole soybean cereals fermented with *Aspergillus* strains. Korean J Appl Microbiol Biotechnol 26, 551-557
7. You SK, Cho WH, Kang SM, Lee SH (1999) Isolation and identification of microorganisms in korean traditional soybean paste and soybean sauce. Korean J Appl Microbiol Biotechnol, 27, 113-117
8. Choi KS, Chung HC, Choi JD, Kwon KI, Im MH, Kim YJ, Seo JS (1999) Effects of *meju* manufacturing periods on the fermentation characteristics of *kanjang*, Korean traditional soy sauce. Agric Chem Biotechnol, 42, 277-282
9. Choi KS, Choi JD, Chung HC, Kwon KI, Im MH, Kim YH, Kim WS (2000) Effects of mashing proportion of soybean to salt brine on *kanjang* (soy sauce) quality. Korean J Food Sci Technol, 32, 174-180
10. Chung HC, Choi JD, Kwon KI, Jung SM, Im MH, Choi C, Choi KS (2000) The effects of maturing temperature of *kanjang* mash on the distribution of compositions and sensory characteristics of *kanjang*. Agric Chem Biotechnol, 43, 253-259
11. Chae HJ, In MJ, Kim MH (1997) Production and characteristics of enzymatically hydrolyzed soy sauce by the treatment using protease. J Korean Soc Food Sci Nutr, 26, 784-787
12. Yazawa K, Kondo S, Kojima T (1994) Soy sauce containing docoxahexaenoic acid, Japan Patent JP-0070711
13. Ando J, Fukunmoto T (1991) Preparation of chitosan soy sauce, Japan Patent JP-0147763
14. Lee SC, Kim SK, Lee SG, Hwang YI (1997) Production of soy sauce with *Monascus* sp.. Agric Chem Biotechnol, 40, 361-363
15. Shurtlff W, Aoyagi A (1995) Tofu and *Soymilk Production*, New Age Food Study Center, Lafayette, CA, USA. p 168-169
16. Kang KH, Lee DS (1991) Studies on the Tofu-residue recycling. Korean Sci Ind, 24, 31-35
17. Hackler LR, Stillings BR, Ploimeni RJ. Jr (1967) Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fraction. Cereal Chem, 44, 638-644
18. Yamaguchi F, Ota Y, Hatanaka C (1996) Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean Okara and enzymatic analysis of their structures. Carbohydr Polym, 30, 265-273
19. Chae SH (2000) Color characteristics and antioxidizing ability of Korean traditional soy sauces prepared from different conditions. Ph D Thesis, Yonsei University, Seoul, Korea, p 1-24
20. Kwon OJ, Kim MA, Kim TW, Kim DG, Son DH, Choi UK, Lee SH (2010) Changes in the quality characteristics of soy sauce made with salts obtained from deep ocean water. Korean J Food Preserv, 17, 820-825
21. Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal Chem, 311, 426-428
22. Dubois M, Gilles KA, Hamilton J, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substance. Anal Chem, 28, 350-352
23. Sarath G, De la Motte RS, Wagner W (1989) In *Proteolytic enzymes*: A Practical Approach (1st ed.) IRL Press, NY, USA
24. Oh HI, Park JM (1997) Changes in microflora and enzyme activities of traditional Kochujang prepared with a Meju of different fermentation period during aging. Korean J Food Sci Technol, 29, 1158-1165
25. Chung CY, Toyomizu M (1968) Studies on discoloration of fish products. V. Mechanism of rusting in amino acid

reducing sugar-lipid system. Bull Japan Soc Fish, 34, 857-862
26. Lee YS, Seiichi H, Ko A (1987) Characterization of melanoidin in soy sauce and fish sauce by electrofocusing and high performance gel permeation chromatography. J Japan Soc Food Sci Technol, 34, 313-319
27. Matsushita S, Iwami N, Nitta Y (1966) Colorimetric estimation of amino acids and peptides with the folin phenol reagent. Anal Biochem, 16, 365-371
28. Kim KO, Lee YC (1989) Sensory Test of Food. Hagyesa, Seoul, Korea, p 241
29. Kim JE, Whang K, Lee SP (2012) Physicochemical properties of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* SM according to concentration of yeast extract and its modulation of rheological properties. Korean J Food Sci Technol, 44, 216-223
30. Lee KH, Kim ND, Yoo JY (1997) Survey on the manufacturing process of traditional *Meju* for and of *Kanjang* (Korean Soy Sauce). J Korean Soc Food Sci Nutr, 26, 390-396
31. Park CK, Nam JH, Song HI, Park HY (1989) Studies on the shelf-life of the grain shape improved *Meju*. Korean J Food Sci Technol, 21, 876-00
32. Chang JH (1965) Chemical changes during the fermentation of Korean soy-sauces and in connection with its fermentative period. J Korean Agric Chem Biotechnol, 6, 8-13
33. Joo MS, Sohn KH, Park HK (1997) Changes in taste characteristics of traditional Korean soy sauce with ripening period(Ⅰ)-analysis of general compounds and sugars. Korean J Dietary Culture, 12, 183-188
34. Kim JK, Kim CS (1980) The taste components of ordinary Korean soy sauce. Agric Chem Biotechnol, 23, 89-105
35. Park SO, Lee TS (1982) Studies on the improvement of flavor components in Korean native soy by the addition of yeast. J Nat Sci Inst Seoul Women's Univ, Seoul, Korea, 11, 315-330
36. Park MJ. Kim MJ. Lee YK. Kim SD (2002) Quality of soy sauce brewed by *Monascus pilosus* soybean *koji*. Korean J Food Preserv, 9, 28-35
37. Son KH, Lee HJ, Park HK, Park OJ (1998) Studies on taste compound content and research on condition of comsumer attitude to traditional Korean soy sauce with varing *Meju* type and fermentation jars. Korean J Soc Food Sci, 14, 463-467
38. Jeon MS, Sohn KH, Chae SH, Park HK, Jeon HJ (2002) Color characteristics of Korean traditional soy sauces prepared under different processing conditions. J Korean Soc Food Sci Nutr, 31, 32-38
39. Chang CH (1965) Chemical changes during the fermentation of Korean soy-sauces and in connection with its fermentative period. Agric Chem Biotechnol, 8, 6-13
40. Schiffman S, Dackis C (1975) Taste of nutrients; amino acids, vitamins, and fatty acids. Perception Psychophysics, 17, 140-146

(접수 2013년 7월 30일 수정 2013년 10월 21일 채택 2013년 10월 31일)