

발효옷 추출물 첨가 된장의 숙성에 따른 변화

최한석* · 강지은 · 정석태 · 김찬우 · 김명곤¹
국립농업과학원 발효식품과, ¹전북대학교 식품공학과

Changes Observed in *Doenjang* (Soybean Paste) Containing Fermented-*Rhus verniciflua* Extract During Aging

Han-Seok Choi*, Ji-Eun Kang, Seok-Tae Jeong, Chan-Woo Kim, and Myung-Kon Kim¹

Fermented Food Science Division, National Institute of Agricultural Science, RDA

¹Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

Abstract Fermented-*Rhus verniciflua* (FRV) extract is increasingly used in fermented soy products, fermented vinegars, and certain alcoholic beverages. In this study, we investigated the effects of FRV extract on the physicochemical properties of *doenjang* (soybean paste). Addition of FRV extract to *doenjang* resulted in a 28.2-45.4% increase in the amino acid content and a 1.3- to 1.5-fold increase in the concentrations of glutamic acid, which imparts a savory flavor to *doenjang*. The concentration of biogenic amine (BA) of the sample containing the extract was 5.3-52.6% lower than that of the control. The major components of BA included tyramine (55.1-74.6%), followed by putrescine, spermidine, tryptamine, and cadaverine, in decreasing concentrations. The organic acid concentration of the sample containing the extract was 1.2-1.3-fold higher than that of the control. The total free sugar concentration was 163.4 mg/100 g in the control and 206.6-276.8 mg/100 g in the supplemented sample, showing a 1.3- to 1.9-fold increase as the addition of the extract.

Keywords: fermented-*Rhus verniciflua*, lacquer tree, *doenjang*, soybean paste, aging

서 론

옷은 우루시올(urushiol)을 함유하고 있어 접촉성 피부염을 유발하는 부작용이 있으나 혈액순환, 위장질환, 심장질환, 부인과 질환 등에 효과가 있어 근대에 이르기까지 널리 이용되어 왔다(1,2). 옷의 효능은 AD 1세기경 중국에서 출간된 「신농본초경」에 최초로 나타나며 우리나라에서는 고려중기 「향약구급방」을 시작으로 조선시대 「동의보감」, 「방약합편」에 이르기까지 식품의약품안전처(식약처) 지정 한약서 6종 가운데 5종에 소개되어 있다(1). 옷의 이용부위는 뿌리, 뿌리껍질, 줄기껍질, 심부, 잎, 종자 등으로 다양하며 한방에서는 생질을 건조한 다음 가루를 내고 다시 볶아낸 건질을 사용하였고(1), 민간에서는 참옷나무 껍질을 우려낸 국물에 닭을 넣어 삶아먹는 옷닭 음식으로 발전시켜왔다(3). 옷닭은 1900년대까지 비교적 쉽게 먹을 수 있는 대중적인 음식이었으나 2000년 옷나무의 건전성과 안전성을 입증하기 어렵다는 이유로 옷의 식품사용이 금지되면서(4) 전통적으로 먹어오던 옷 음식을 먹을 수 없게 되었다. 하지만 웰빙에 대한 소비자들의 요구와 옷 산업종사자들의 지속적인 식품사용 요청으로 2003년 우루시올이 검출되지 않고 안전성 평가를 받은 제

품에 대해서는 식약처장의 승인을 얻어 옷닭, 옷오리 요리에 사용가능 하게 되었다. 옷의 식품사용이 가능하게 되자 옷 산지인 충북 옥천과 강원 원주는 각각 2005년과 2006년에 지식경제부로부터 옷산업 특구로 지정 받고 식품과 더불어 공예, 관광산업 등과 연계시키면서 국민적 관심을 고조시켰고 옷에 대한 수요도 커져갔다. 이에 식약처는 2006년 옷을 제한적 원료로 등록하고 우루시올이 검출되지 않는 제품은 지자체장의 허가를 받아 옷닭, 옷오리 조리용으로 사용가능 하도록 하였으며(5), 2007년 우루시올 시험법을 고시하면서(6) 옷의 식품사용에 대한 법적인 기틀이 마련되었다.

그러나 옷의 용도제한은 새로운 지역특화 상품개발의 걸림돌로 작용하였고 옷의 다량소비를 어렵게 만들었다. 따라서 옷의 식품사용 확대가 필요했으나 제조업체들의 우루시올 제거 방법이 과학적으로 정립되어 있지 않은 문제점과 우루시올 이외의 화합물에 대해 안전성을 확인 할 수 없었기 때문에 과거에 식이근거가 충분치 못한 식품에까지 확대가 곤란하였다. 연구팀은 아카시재목 버섯(*Fomitella fraxinea*)을 옷나무에 배양시키는 방법(발효옷)으로 옷에 함유된 우루시올 제거를 시도하였고(7,8) 안전성 시험을 거쳤다(9). 그 결과 발효옷 추출물은 2012년 장류, 발효식초, 일부 주류까지 식품사용처가 확대되었다(10). 발효옷은 전구 지방세포의 분화를 촉진시키고(9), 폴리페놀과 플라보노이드 등에 의한 산화방지활성을 가지고 있으며(11-13), UV 및 산화물질의 피부자극에 대한 콜라겐 섬유 감소억제(14), 산화질소(nitric oxide) 감소와 IgE, IFN- γ , IL-4 등의 조절에 의한 아토피 개선효과(15) 및 산화 스트레스로부터 뇌세포를 보호하며(16) 뇌신경영양인자(neurotrophic factor)를 생산하는 신경세포와 신경인자를 증가시키고(17) 퇴행성 뇌 질환에 관련된 catecholamine의 생성 촉

*Corresponding author: Han-Seok Choi, Fermented Food Science Division, National Academy of Agricultural Science, Wanju, Jeonbuk 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3618
Fax: 82-63-238-3843
E-mail: coldstone@korea.kr
Received September 7, 2015; revised September 28, 2015; accepted September 29, 2015

진과(18) kainic acid에 의해서 사멸된 뇌세포의 신생(19) 효과 등이 있어 많은 잠재력을 보유한 식품 소재이다. 하지만 발효물 추출물이 식품의 품질변화에 미치는 영향에 대해서는 강정저장 중에 미치는 영향(20,21) 등에 불과하기 때문에 기업에서 신제품 개발 등에 어려움을 느끼고 있다. 연구팀은 전보에서 발효물 추출물이 장류 미생물의 증식(22)과 된장 발효(23)에 미치는 영향에 대해서 살펴보고 이번에는 발효물 된장의 12개월 숙성 중 일반성분, 유리아미노산, biogenic amine 함량변화 등에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

발효물 추출물 제조

발효물 추출물 제조는 Choi 등(23)의 연구에서 보고한 방법과 동일하다. 2011년에 채취한 충북 옥천산 옻나무 껍질에 Choi 등(7)의 방법을 따라 전배양된 장수버섯 균사체를 접종하고 21°C에서 30일간 배양한 후 50°C에서 열풍 건조시켜 발효물을 제조하였다. 추출물은 발효물 1 kg에 10배(w/v) 증류수를 첨가하고 100°C에서 8시간 동안 추출한 것을 원심분리(12,000×g, 4°C, 30분)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 batch에서 생산된 것으로 *Bacillus licheniformis* KCCM 1052P 0.02% (w/v)와 *Aspergillus oryzae* (Chungmu Fermentation Co., Ulsan, Korea) 0.15% (w/w)를 스타터(starter)로 접종하였고 65°C에서 18시간 동안 길 말린 다음 발효온도 30°C, 상대습도 50%에서 10일 동안 발효하여 제조된 것이다.

메주 10개를 골라 무게를 측정 후(대조구 9.2 kg, 추출물 첨가군 각각 9.0, 8.9, 9.1, 9.4 kg) 플라스틱 통에 담고 발효물 추출물이 총 무게의 0.7, 2.0, 5.0, 10.0% (w/v) 함유되도록 조절된 염수(21%)를 메주 무게의 2배 부피로 첨가하였다. 각 처리구를 25°C에서 42일 동안 염수 발효한 다음 부직포를 이용하여 장 가르기를 하였고 초퍼로 분쇄하여 된장을 제조하였다. 이 후 된장을 공기가 통하지 않도록 설계된 플라스틱 통에 담아 상온에서 12개월 동안 숙성 하였다.

일반성분

pH, 수분, 염 농도, 적정산도, 조단백질, 조지방, 조회분은 식품공전(24)에 준하여 실시하였다. 아미노 질소는 Formol법으로 측정하였다. 즉, 시료 2g에 증류수 100 mL를 가하고 10분 동안 교반하여 충분히 용해한 다음 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 되도록 하였다. 여기에 중성 formalin 20 mL를 가하고 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 되도록 적정하여 0.1 N NaOH의 소비량을 아미노질소함량으로 환산하여 사용하였다.

유리아미노산

유리아미노산은 아미노산 분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하였다. 시료 2g에 물 30 mL를 가한 다음 100°C에서 10분간 가열 한 후 물을 첨가하여 50 mL로 맞추었다. 원심분리(5,000×g, 4°C, 10분)하여 상층액 1 mL를 취하고 여기에 5% trichloroacetic acid 1 mL를 첨가한 다음 재차 원심분리(12,000×g, 4°C, 10분)하였다. 상층액을 회수하고 0.02 N HCl로 2배(v/v) 희

석한 후 여과(0.2 µm, Millipore Co., Cork, Ireland)하여 사용하였다. 분석에는 PF #2622 (4.6×60 mm, Hitachi Co.) 컬럼(column)을 사용하였으며 컬럼오븐의 온도는 57°C, 반응기의 온도는 136°C로 설정하였고 발색에는 ninhydrine 용액을 사용하였다(25).

유기산

유기산 분석을 위해서 HPLC (LC-20A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하였으며 post column방법으로 분석하였다. 유기산 분석용 컬럼은 Shodex Rspack KC-G (6.0 mm×50.0 mm) 가드 컬럼에 RSpak KC-811 (8.0 mm×300 mm, Showa Denko, Tokyo, Japan) 2개를 연결하여 사용하였다. 이동상은 3 mM perchloric acid를 이용하였으며, 유속은 0.8 mL/분, 컬럼 오븐의 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 유속은 1.0 mL/분, 반응온도는 30°C로 하였다. 시료는 된장 1g에 증류수 20 mL를 첨가하고 균질화(WiseTis HG-15D, Wlteg Co., Wertheim, Germany)한 다음 원심분리(12,000×g, 4°C, 10분)한 후 여과(0.2 µm, Millipore Co., Cork, Ireland)하여 사용하였다.

Biogenic amine

된장에 포함된 biogenic amine의 함량은 Hernandez-Jover 등(26)의 방법을 변형하여 분석하였다. 된장 5g에 0.6 N perchloric acid 10 mL를 붓고 3분 동안 균질화한 다음 원심분리(3,000×g, 4°C, 10분)하였다. 상층액을 회수하고 잔사를 동일한 방법으로 2회 더 추출한 다음 25 mL로 정용하고 여과(0.2 µm, Millipore Co.) 후 HPLC (HP 1100 Series, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였다. 분리는 C18 컬럼(Nava-Pak™, 3.9×150 mm, 4 µm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며 컬럼 오븐의 온도는 30°C, 이동상의 유속은 0.8 mL/분, gradient 조건으로 하였다. 분리된 성분은 post column 방법으로 유도체화 시킨 후 형광검출기(Ex. 340, Em. 445 nm)로 검출하였다. 이때 반응코일의 길이는 6.0 m (stainless steel tubing, i.d. 0.03 mm), 반응용액의 유속은 0.5 mL/분으로 하였다.

Eluent A: 10 mM sodium heptanesulfonate (SHS)가 포함되도록 제조된 0.1 M sodium acetate용액을 진한 acetic acid로 pH 5.2가 되도록 조절하였다.

Eluent B: solution B+acetonitrile (6.6:3.4, v/v). Solution B는 10 mM SHS가 포함되도록 제조된 0.2 M sodium acetate용액에 진한 acetic acid로 pH 4.5가 되도록 조절하였다.

Gradient program: 0-10분(A:B=90:10, isocratic); 10-15분(80:20, holding 5분); 20-30분(20:80, holding 5분); 35-40분(90:10, holding 10분).

Post column 유도체화 용액: boric acid 15.5 g과 potassium hydroxide 13.0 g을 증류수 500 mL에 녹인 후 30% Brij-35 1.5 g 및 2-mercaptoethanol 1.5 mL를 순서대로 넣어 녹였다. 그런 다음 o-phthalaldehyde 0.2 g을 methanol 2.5 mL에 녹인 용액을 첨가 후 증류수로 1000 mL되게 정용하였다.

유리당

된장 5g에 증류수 15 mL를 넣고 30분 동안 진탕한 후 원심분리(3,000×g, 4°C, 10분)하여 상층액을 회수하였다. 이를 3회 반복 추출하여 모든 상층액에 증류수를 부어 총량이 50 mL되게 한 후 일부를 여과(0.2 µm, Millipore Co.)하여 유리당 분석시료로 사용하였다. 분석은 HPLC (HP 1100 Series, Hewlett-Packard)를 사용

하였으며 Suzuki 등(27)의 방법에 따라 post column방법으로 분석하였다. 분리는 Hitachi LaChrom NH2 컬럼(4.6×250 mm, 5 μm)을 사용하였으며 컬럼 오븐의 온도는 45°C, 이동상의 유속은 1 mL/min로 하였다. 반응조건은 반응조의 온도 150°C, 반응코일의 길이 9.0 m (stainless steel tubing, i.d. 0.3 mm), 반응용액의 유속 0.4 mL/분으로 하였으며 반응된 액은 형광검출기(Ex. 330, Em. 470 nm)로 검출하였다. 분리용매는 A (H₂O), B (acetonitrile), C (8.5% H₃PO₄)를 사용하였으며 gradient 조건은 0분(A:B:C=5:90:5); 0-35분(20:75:5, holding 10 min); 45-50분(5:90:5, holding 15분)으로 하였다. 반응용액은 phenylhydrazine 6 mL, acetic acid 180 mL, phosphoric acid 110 mL, water 110 mL를 순서대로 넣어 제조하였다.

통계

숙성 전후 된장의 성분변화 비교는 주성분 분석(XLSTAT, version 2014, Addinsoft, Paris, France)을 통해 하였으며 각 처리구들 사이의 성분변화는 유의수준 5% (p<0.05)로 일원분산분석(Minitab 16, Minitab Inc., State College, PA, USA)을 하였다.

결과 및 고찰

일반성분

발효옷 된장의 숙성 전(23)후의 일반성분 변화를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1의 주성분 분석은 전체 변동에 대하여 78.87%의 설명력을 가지고 있으므로 숙성 전(23)후의 변화를 비교적 잘 보여준다고 할 수 있다. 이 중 제1 주성분(F1)은 전체분산의 47.13%, 제2 주성분(F2)은 31.74%의 설명력을 가지고 있으며 첫 번째 주 성분에는 염도, 수분, pH가, 두번째 주 성분에는 아미노질소, 적정산도의 기여도가 큰 것으로 나타났다. 숙성에 의해서 염도, 수분, pH는 감소하는 방향으로 아미노 질소, 적정산도, 조지방은 증가하는 방향으로 움직이면서 오른쪽 하단에 있던 숙성 전 그룹(non-aging)이 왼쪽상단(aging)으로 이동하였다. 정량적으로는 염도, 수분, pH가 각각 13.95-16.60%, 56.37-59.28%, 5.17-6.06에서(23) 13.53-14.97%, 56.85-58.96%, 4.70-5.24로(Table 1) 감소하였고 아미노질소, 적정산도는 각각 315.42-611.10 mg/100 g, 8.73-10.75에서 609.37-885.87 mg/100 g, 12.75-13.78로 증가하였다.

발효옷 추출물 함량에 따른 일반성분 변화를 살펴보면(Fig. 1), 숙성과 관련이 없이 발효옷 추출물 첨가농도에 의존적으로 조회분, 수분, 염도, pH, 아미노질소, 적정산도는 증가하고 조지방 함량은 낮아지면서 발효옷 추출물이 된장의 품질에 상당한 영향을 미치고 있는 것으로 분석되었다. 실질적으로 숙성 발효옷 된장 (Table 1)의 아미노질소 함량은 각각 781.11 (0.7%), 795.76

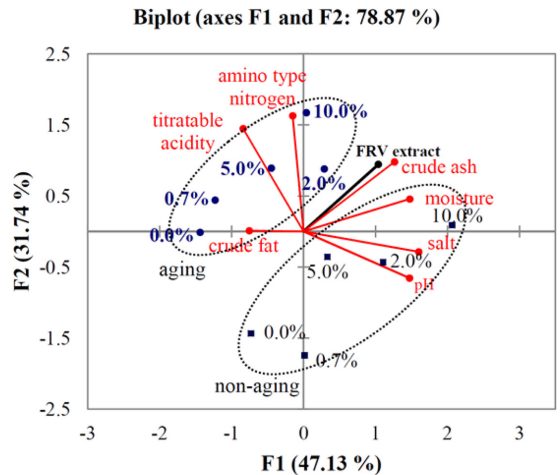


Fig. 1. Principal component analysis of changes in the general constituents of doenjang (soybean paste) containing fermented-*Rhus verniciflua* (FRV) extract added before and after aging.

(2.0%), 866.71 (5.0%), 885.87 (10.0%) mg/100 g으로 무첨가구 609.37 mg/100 g보다 28.2, 30.6, 42.2, 45.4% 높게 나타났다. 다만 그 증가폭은 2.0%까지는 급격히 증가하다가 이후 농도에서는 완만해지면서 추출물 농도에 따라 일대일로 증가하지 않고, 지수적으로(r=0.87, data not shown) 증가하였다. 적정산도 역시 각각 13.49, 12.93, 13.62, 13.78%로 무첨가구 12.75에 비하여 5.8, 1.5, 6.9, 8.1% 증가하였다. 증가폭은 2.0% 첨가구가 다소 특이적으로 나타났으나 이를 제외하면 추출물 농도에 따라 지수적(r=0.94)으로 증가하는 경향이었다. 조단백질 함량은 0.13-0.14%로 추출물 첨가에 영향을 받지 않는 것으로 조사되었다. 조지방 함량은 대조구가 8.28%이었던 반면 첨가구는 각각 7.40, 7.21, 5.98, 8.40%로 특이치인 10.0% 첨가구를 제외하고 추출물의 농도에 비례적으로(r=0.90) 감소하였다. 조회분 함량은 각각 12.86, 13.85, 13.00, 14.01%로 대조구 12.73% 대비 1.0, 8.8, 2.1, 10.1% 증가하였으나 통계적 유의성은 관찰되지 않았다.

메주의 스타터로 사용된 *Bacillus licheniformis* KCCM 11052P 균주는 소금이 포함되지 않는 배지환경에서 발효옷 추출물 3.0% 첨가 시 3.3배, 5.0% 첨가 시 4.3배 생육이 증가되고 amylase의 활성은 각각 1.2, 2.5배, protease활성은 각각 1.3, 1.4배 증가시키는 것으로 확인된 바 있다(22). 또한, 숙성 전 발효옷 추출물 첨가된장의 amylase 활성이 무첨가 된장에 비하여 16.1-35.1%, protease 활성은 13.8-26.0% 높은 것으로 나타나기도 했다(23). 따라서 발효옷 추출물이 *B. licheniformis* KCCM 11052P 생육과 효소

Table 1. Physicochemical properties of the doenjang (soybean paste) containing fermented-*Rhus verniciflua* (FRV) extract after 12 months of aging

FRVE Conc. (%)	Moisture (%)	Salt (%)	pH	TA	AN (mg/100 g)	Crude		
						protein (%)	fat (%)	ash (%)
0.0	56.85±1.35 ^b	13.53±0.21 ^c	4.70±0.03 ^c	12.75±0.27 ^c	609.37±15.60 ^c	0.13±0.01 ^a	8.28±0.37 ^a	12.73±0.16 ^a
0.7	56.49±0.39 ^b	13.70±0.35 ^c	4.90±0.17 ^{bc}	13.49±0.45 ^{ab}	781.11±52.59 ^b	0.13±0.02 ^a	7.40±0.19 ^{ab}	12.86±0.67 ^a
2.0	58.96±0.48 ^a	14.97±0.32 ^a	5.24±0.18 ^a	12.93±0.13 ^{bc}	795.76±5.45 ^{ab}	0.13±0.00 ^a	7.21±0.29 ^{ab}	13.85±0.42 ^a
5.0	57.03±0.22 ^{ab}	14.00±0.26 ^{bc}	5.15±0.03 ^{ab}	13.62±0.10 ^{ab}	866.71±56.36 ^{ab}	0.14±0.00 ^a	5.98±0.06 ^b	13.00±0.88 ^a
10.0	57.70±0.67 ^{ab}	14.57±0.12 ^{ab}	5.21±0.02 ^a	13.78±0.21 ^a	885.87±4.05 ^a	0.13±0.00 ^a	8.40±0.63 ^a	14.01±1.12 ^a

FRVE means fermented-*Rhus verniciflua* extract

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

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05.

Table 2. Free amino acids content of the 12 months aged *doenjang* containing FRV extract

No.	Compounds	Free amino acid content (mg/100 g)				
		0.0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
1	Alanine	116.2 (1.0)	151.3 (1.3)	165.7 (1.4)	266.2 (2.3)	210.8 (1.8)
2	Anserine	nd ¹⁾ (-)	nd (-)	6.1 (-)	nd (-)	nd (-)
3	Arginine	9.2 (1.0)	5.8 (0.6)	7.8 (0.8)	10.5 (1.1)	5.4 (0.6)
4	Aspartic acid	25.9 (1.0)	28.8 (1.1)	173.4 (6.7)	75.7 (2.9)	195.0 (7.5)
5	α -Aminoadipic acid	23.7 (1.0)	28.5 (1.2)	9.3 (0.4)	16.2 (0.7)	11.3 (0.5)
6	α -Aminobutyric acid	14.0 (1.0)	14.9 (1.1)	9.8 (0.7)	9.8 (0.7)	12.6 (0.9)
7	β -Alanine	10.5 (1.0)	11.8 (1.1)	9.6 (0.9)	10.3 (1.0)	3.5 (0.3)
8	β -Aminoisobutyric acid	18.8 (1.0)	19.8 (1.1)	11.1 (0.6)	16.1 (0.9)	6.7 (0.4)
9	γ -Aminobutyric acid	5.6 (1.0)	6.9 (1.2)	9.1 (1.6)	6.6 (1.2)	7.7 (1.4)
10	Carnosine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
11	Citrulline	78.7 (1.0)	87.1 (1.1)	157.3 (2.0)	92.5 (1.2)	132.4 (1.7)
12	Cystathionine	16.8 (1.0)	20.5 (1.2)	8.6 (0.5)	0.9 (0.1)	nd (-)
13	Cysteine	10.2 (1.0)	9.9 (1.0)	21.8 (2.1)	7.7 (0.8)	20.2 (2.0)
14	Ethanolamine	4.0 (1.0)	4.1 (1.0)	3.4 (0.8)	3.0 (0.7)	2.9 (0.7)
15	Glutamic acid	321.4 (1.0)	404.2 (1.3)	458.6 (1.4)	470.3 (1.5)	452.1 (1.4)
16	Glycine	37.1 (1.0)	49.1 (1.3)	98.1 (2.6)	88.0 (2.4)	98.6 (2.7)
17	Histidine	22.8 (1.0)	33.8 (1.5)	52.9 (2.3)	46.5 (2.0)	36.0 (1.6)
18	Hydroxylysine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
19	Hydroxyproline	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
20	Isoleucine	97.6 (1.0)	126.5 (1.3)	165.6 (1.7)	155.3 (1.6)	161.6 (1.7)
21	Leucine	181.9 (1.0)	224.7 (1.2)	237.4 (1.3)	233.0 (1.3)	232.0 (1.3)
22	Lysine	150.0 (1.0)	176.7 (1.2)	196.1 (1.3)	188.6 (1.3)	185.3 (1.2)
23	Methionine	36.3 (1.0)	45.0 (1.2)	45.1 (1.2)	37.7 (1.0)	47.3 (1.3)
24	1-Methylhistidine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
25	3-Methylhistidine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
26	Ornithine	80.8 (1.0)	86.4 (1.1)	31.0 (0.4)	76.0 (0.9)	45.0 (0.6)
27	Phenylalanine	130.2 (1.0)	160.2 (1.2)	156.3 (1.2)	155.5 (1.2)	147.8 (1.1)
28	Phosphoethanolamine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
29	Phosphoserine	nd (-)	nd (-)	3.9 (-)	4.0 (-)	nd (-)
30	Proline	74.6 (1.0)	95.2 (1.3)	125.7 (1.7)	117.6 (1.6)	114.2 (1.5)
31	Sarcosine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
32	Serine	86.8 (1.0)	109.6 (1.3)	164.2 (1.9)	156.3 (1.8)	159.7 (1.8)
33	Taurine	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
34	Threonine	64.0 (1.0)	81.8 (1.3)	126.7 (2.0)	118.5 (1.9)	122.5 (1.9)
35	Tyrosine	27.8 (1.0)	19.0 (0.7)	89.1 (3.2)	23.3 (0.8)	83.6 (3.0)
36	Tryptophan	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)	nd (-)
37	Valine	104.5 (1.0)	134.8 (1.3)	167.0 (1.6)	153.5 (1.5)	163.4 (1.6)
Total		1749.5 (1.0)	2136.7 (1.2)	2710.8 (1.5)	2539.6 (1.5)	2657.6 (1.5)

Numbers in the parentheses are the amounts of each compound as a proportion of the control, calculated by dividing the amount of each compound by the amount of in the control group.

¹⁾nd: not detected.

활성을 증가시키면서 콩 단백질과 지방질 분해가 더욱 활발하게 일어나게 되었고 그 결과 단백질 분해산물인 아미노산 함량과 적정산도가 증가되었으며, 지방질 분해로 조지방 함량은 감소하는 것으로 이해된다. 그러나 10.0% 첨가구의 조지방 함량증가 이유는 명확하지 않다.

유리아미노산

숙성 전과 후(Table 2)의 유리아미노산 변화는 Fig. 2와 같다. 숙성 전 발효된 된장의 유리아미노산 총량은 대조구 627.1, 첨가구 886.0, 1899.0, 1675.0, 1733.1 mg/100 g이었으나 숙성 후에는 각각 1749.5, 2316.7, 2710.8, 2539.6, 2657.6 mg/100 g으로 증가하

였다. 숙성기간 동안 대조구는 2.8배 증가한 반면 추출물 첨가구는 2.6, 1.4, 1.5, 1.5배 증가에 그쳐 무첨가구의 증가폭이 더욱 큰 것으로 나타났다. 숙성기간 동안 phosphoserine, tryptophan, arginine 성분은 감소하였으나 나머지 성분은 모두 증가하면서 왼쪽 하단에 위치했던 그룹이 오른쪽으로 이동하였다. 숙성기간 동안 가장 크게 증가한 성분은 제 1주성분(F1)에 위치한 성분들로 valine, isoleucine, lysine, proline, leucine, glutamic acid, threonine, serine, phenylalanine, methionine 순이며 각 성분의 상관계수는 0.99, 0.98, 0.97, 0.97, 0.97, 0.95, 0.95, 0.95이었다(data not shown). 추출물 2.0% 이상 첨가구에서는 제 1주성분의 변화가 컸던 반면 대조구를 포함한 추출물 함량이 가장 낮은 0.7% 처리구

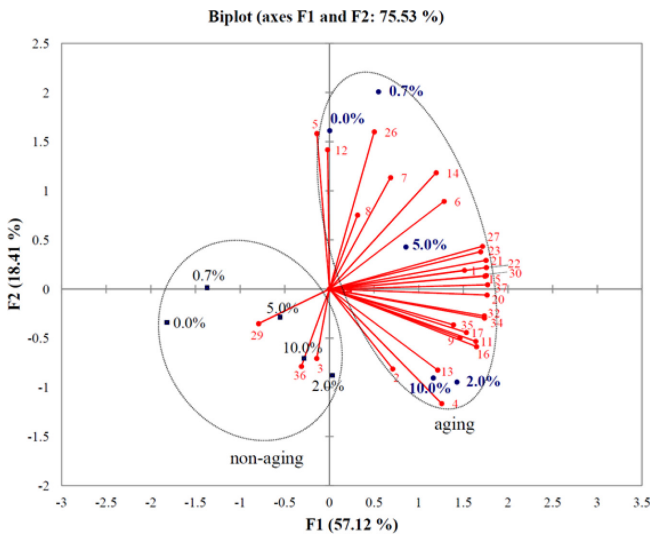


Fig. 2. Principal component analysis of changes in free amino acids before and after aging of doenjang containing FRV extract. The figure shows amino acids as numbers, and these numbers are shown with the corresponding amino acids in Table 2.

에서는 ornithine, α -aminoadipic acid, cystathionine, β -alanine의 함량증가가 두드러지게 나면서 제 2주성분(F2)의 변화를 이끌었다.

숙성 발효옷 된장에 다량으로 함유된 유리아미노산은(Table 2) glutamic acid, leucine, lysine, phenylalanine, alanine, valine, isoleucine, serine으로 각 성분은 유리아미노산 총량의 5.0-18.9%를 차지하고 있었다. 강한 감칠맛이 있고 우리나라 전통된장에 가장 많이 함유(28)되어 있는 glutamic acid는 대조구 321.4, 첨가구 404.2, 458.6, 470.3, 452.1 mg/100 g으로 숙성 전 함량(23) 117.2-314.4 mg/100 g에 비하여 1.5-2.7배 증가하였으며 숙성 후에도 첨가구가 무첨가구에 비하여 각각 1.3, 1.4, 1.5, 1.4배 높은 함량을 보였다. 미세한 쓴맛을 가지고 있는 leucine, isoleucine, valine (29)은 숙성기간 동안 각각 1.4-2.7, 1.6-2.8, 1.7-2.9배 증가하여 숙성된장의 함량은 181.9-237.4, 97.6-165.6, 104.5-167.0 mg/100 g이었으며 추출물 첨가구가 무첨가구에 비하여 각각 1.2-1.3, 1.3-1.7, 1.3-1.6배 높은 함량을 보였다. 약한 단맛을 가지고 있는 lysine, phenylalanine, serine은 숙성에 의해 각각 1.3-2.8, 1.3-2.5, 1.6-2.9배 증가하였고 숙성된장 중 함량은 150.0-191.1, 130.2-160.2, 86.8-164.2 mg/100 g으로 첨가구가 각각 1.2-1.3, 1.1-1.2, 1.3-1.9배 높은 것으로 나타났다. 강한 단맛을 가지고 있는 alanine (29)의 함량은 숙성에 의해서 1.7-2.8배 증가하였으며 대조구 116.2, 첨가구 151.3, 165.7, 266.2, 210.8 mg/100 g으로 5.0%와 10.0% 첨가구가 대조구 대비 각각 2.3배와 1.8배 높은 것으로 확인되었다.

소량성분에 있어서도 arginine, glycine, proline, hydroproline, threonine은 단맛을 가지고 있고 anserine, methionine, histidine, tyrosine, tryptophan은 약한 쓴맛을 가지고 있어(29) 된장의 품질에 영향을 미친다. Arginine의 함량은 대조구 9.2, 첨가구 5.4-10.5 mg/100 g으로 숙성 전 함량 대비 대조구는 1.9배 증가한 반면 첨가구는 1.3-8.1배까지 감소되었다. Glycine의 함량은 37.1-98.6 mg/100 g로 유리아미노산 총량의 2.1-3.7% 차지하고 있었으며 추출물 첨가구가 무첨가구에 비하여 1.3-2.7배 많이 포함되어 있었다. Proline은 74.6-125.7 mg/100 g으로 전체 함량의 4.3-4.6%를 차지하고 있었고 숙성에 따라 대조구는 8.9배, 첨가구는 각각 4.7, 2.0, 2.0, 2.1배 증가되면서 대조구의 증가폭이 매우 높은 것으로 확인되었다. 한편 hydroproline은 모든 처리구에서 검출되지 않았으며

threonine은 64.0-126.7 mg/100 g으로 대조구는 총량의 3.7-4.7%에 상당하는 양으로 분포하고 있었다. 약한 쓴맛을 가지고 있는 anserine은 2.0% 첨가구에서만 6.1 mg/100 g 함유되어 있었고 methionine은 36.3-47.3 mg/100 g 범위로 대조구와 처리구의 차이가 비교적 적었으며 histidine은 22.8-52.9 mg/100 g으로 첨가구의 함량이 대조구에 비해 1.5-2.3배 높았다. Tryptophan은 모든 시료에서 검출되지 않았으며 tyrosine은 대조구 27.8, 첨가구 19.0, 89.1, 23.3, 83.6 mg/100 g으로 0.7%, 5.0% 첨가구는 대조구보다 낮았으나 2.0%, 10.0% 첨가구에는 대조구보다 3.0배 이상 높은 것으로 나타났다. 한편, aspartic acid는 0.03-1 mg/mL 미만 농도에서는 약한 신맛을 나타내고 1 mg/mL 이상 농도에서는 감칠맛을 나타내는데(30) 대조구의 함량은 25.9 mg/100 g인 반면, 첨가구는 각각 28.8, 173.4, 75.7, 195.0 mg/100 g으로 2.0, 10.0% 첨가구에서 특히 높게 함유되어 있다.

추출물 농도에 따른 성분의 분포를 살펴보면, 2.0, 10.0% 첨가구가 aspartic acid 이외에 cysteine, glycine의 함량이 특이적으로 높게 나타나 주성분 분석(Fig. 2)에서 오른쪽 하단에 위치하게 되었고 그 외의 첨가구들(0.0, 0.7, 5.0%)과 구별되는 특징성분으로 작용하고 있었다. 또한, 대조구와 0.7% 첨가구는 α -aminoadipic acid, α -aminobutyric acid, β -alanine, β -aminoisobutyric acid, γ -aminobutyric acid (GABA), cystathionine, ethanolamine, ornithine의 함량이 높게 나타나면서 오른쪽 상단에 위치하게 되었다. GABA는 고혈압 및 심혈관 조절 기능이 있는 것으로 잘 알려져 있는 성분으로(31) 대조구, 0.7% 첨가구에서 숙성 동안 1.7배 증가하였다. GABA와 구조가 유사하며 중추신경계에서 신경전달물질로 작용하는 β -alanine (32)도 숙성기간 동안 1.8배와 2.1배 증가하는 것으로 나타났다.

Biogenic amine

숙성 전 발효옷 된장의 biogenic amine (BA)의 총량은(Table 3) 대조구 54.2, 첨가구가 각각 46.4, 37.9, 29.8, 33.2 mg/100 g으로 첨가구가 각각 14.4, 30.1, 45.0, 38.7% 낮았다. 숙성 후의 총량은 대조구 172.3, 첨가구 81.7-163.2 mg/100 g으로 숙성 전과 유사하게 첨가구의 함량이 대조구보다 5.3-52.6% 낮게 나타났다. 숙성 발효옷 된장의 주요 BA성분은 tyramine으로 총량의 55.1-74.6%를 차지하고 있었고 putrescine, histamine, spermidine, tryptamine, agmatine, cadaverine 등이 뒤를 이었으며 dopamine은 검출되지 않았다. 숙성기간 동안 가장 많은 증가율을 보인 것은 putrescine으로 대조구가 1.8에서 32.9 mg/100 g으로 18.3배 증가하였고 첨가구는 1.4-1.9 mg/100 g에서 3.5-32.0 mg/100 g으로 1.8-21.3배 증가되었다. 다음은 spermidine으로 대조구는 0.7에서 3.2 mg/100 g으로 4.6배, 첨가구는 0.3-0.6에서 1.1-2.8 mg/100 g으로 2.8-7.0배 증가되었다. Tyramine은 대조구가 46.7에서 111.1 mg/100 g으로 2.4배, 첨가구에서 23.3-35.4에서 51.3-121.8 mg/100 g으로 1.7-3.4배 증가하였다. 숙성 전에 검출되지 않았던 cadaverine은 숙성 후 대조구 0.7, 첨가구에서 0.2-0.4 mg/100 g 농도로 생성되었다. Tryptamine 역시 숙성 전에는 모든 시료에서 검출되지 않았으나 숙성 후 대조구에서 2.4 mg/100 g 생성되었고 첨가구에서는 검출되지 않았다. 한편, agmatine의 함량은 5.0% 첨가구가 숙성기간 동안 4.6에서 12.4 mg/100 g으로 2.1배 증가한 것에 반해 다른 처리구는 4.3-8.9 mg/100 g에서 0.8-3.1 mg/100 g으로 1.5-7.4배 감소하였다.

BA는 인체의 필수적인 대사물질로 putrescine, spermidine, spermine, cadaverine은 세포성장, 단백질 합성, 핵산기능 조절 및 면역작용 등에 필수적인 성분이고 histamine과 dopamine은 신경계와 혈압조절 등에 관여하며 인체에서 합성된다(33). 그러나 과다

Table 3. Comparative analysis of biogenic amine concentrations (mg/100 g) before and after aging of the doenjang containing FRV extract

Compounds	Non-aging					Aging				
	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
Agmatine	5.0 ^c	8.9 ^a	6.0 ^b	4.6 ^d	4.3 ^e	1.1 ^c	1.2 ^c	12.4 ^A	3.1 ^B	0.8 ^D
Cadaverine	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd	0.7 ^A	0.4 ^B	0.3 ^C	0.2 ^D	0.2 ^D
Dopamine	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Histamine	nd	nd	nd	nd	nd	20.9 ^B	5.8 ^D	13.1 ^C	30.1 ^A	8.1 ^D
Putrescine	1.8 ^{ab}	1.5 ^c	1.9 ^a	1.6 ^{bc}	1.4 ^c	32.9 ^A	32.0 ^A	3.5 ^D	8.8 ^C	22.7 ^B
Spermidine	0.7 ^a	0.6 ^b	0.4 ^c	0.3 ^d	0.4 ^c	3.2 ^A	2.0 ^C	1.1 ^E	1.4 ^D	2.8 ^B
Tryptamine	nd	nd	nd	nd	nd	2.4	nd	nd	nd	nd
Tyramine	46.7 ^a	35.4 ^b	29.6 ^{bc}	23.3 ^c	27.1 ^c	111.1 ^A	121.8 ^A	51.3 ^C	53.4 ^C	74.2 ^B
Total	54.2 ^a	46.4 ^b	37.9 ^c	29.8 ^d	33.2 ^{cd}	172.3 ^A	163.2 ^A	81.7 ^C	97.0 ^{BC}	108.8 ^B

Values represent means and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

¹⁾nd: not detected.

섭취할 경우 알레르기(histamine), 혈압이상(histamine, tyramine), 두통(tyramine) 등을 유발시킬 수 있으며 발암물질로 알려진 nitrosoamine (agmatine, spermine, spermidine)으로 변할 수 있기 때문에 주의가 필요하다(33). 발효식품에서 *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* 등의 세균류와 *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* 등의 젖산세균에 의해서 histidine, tyrosine, tryptophan, lysine, ornithine, arginine이 decarboxylase의 작용으로 탈 탄산 되면서 각각 histamine, tyramine, tryptamine, cadaverine, putrescine, spermidine으로 된다(33). 발효된 된장에 함유된 BA전구물질 함량을 살펴보면(Table 2) histidine, tyrosine, lysine은 첨가구가 무첨가구에 비하여 최대 3.0배 높고 ornithine과 arginine은 무첨가구보다 최대 2.5배 낮았으며 tryptophan은 모든 시료에서 검출되지 않았다. Histidine, tyrosine, lysine의 함량이 무첨가구보다 높았음에도 불구하고 이와 관련된 BA의 함량이 낮게 나타났다. 이와 같은 현상은 Table 2의 유리아미노산 함량 변화에서도 관찰된다. β -Alanine은 aspartic acid가 aspartate decarboxylase의 작용으로 생성된다(32). 발효된 추출물 첨가 된장의 aspartic acid 함량은 첨가구가 최대 7.5배 높음에도 불구하고 β -alanine 함량은 최대 3.3배 낮게 나타났다. 따라서 발효된 추출물이 amino acid decarboxylase활성에 영향을 미쳐 BA의 함량이 낮아졌을 것으로 추정된다.

유기산

숙성 발효된 된장의 유기산 총량(Table 4)은 대조구 661.6 mg/100 g, 첨가구가 각각 846.7, 891.7, 868.3, 785.7 mg/100 g으로 첨가구의 함량이 대조구보다 1.2-1.3배 높았다. 숙성 전 유기산 총량(23)이 대조구 782.6, 첨가구 854.1, 877.9, 874.3, 734.7 mg/100 g이었으므로 대조구는 1.2배 감소한 반면 첨가구는 거의 변화가 없는 것으로 나타났다. 숙성 발효된 된장의 주요 유기산은 젖산(lactic), 초산(acetic), pyroglutamic acid로 유기산 총량의 96.8-100.0%를 차지하고 있었다. 이 중 젖산의 함량은 대조구 548.3, 첨가구 619.0, 512.5, 664.6, 552.9 mg/100 g으로 총량의 57.5-82.9%를 차지하면서 가장 많이 함유되어 있었다. 숙성 전 젖산의 함량이 대조구 611.9, 첨가구 668.3, 681.3, 698.8, 512.9 mg/100 g이었으므로(23) 숙성기간 동안 대조구와 2.0% 첨가구만 각각 11.6, 32.9% 감소하였고 이외의 처리구에서는 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 초산의 함량은 대조구 79.1 mg/100 g, 첨가구 104.2-182.9 mg/100 g으로 대조구와 첨가구의 함량 차이가 1.3-

2.3배 나타나면서 비교적 큰 차이를 보였다. 숙성 전 함량이 대조구 75.7, 첨가구 44.6-86.7 mg/100 g로 서로 유사하였으나(23) 숙성기간 동안 대조구는 증가하지 않은 반면 첨가구는 1.5-4.1배 증가하면서 차이가 커졌다. Pyroglutamic acids는 2.0% 첨가구만 숙성 전 130.0 mg/100 g에서(23) 숙성 후 196.3 mg/100 g으로 증가하였고 그 이외의 처리구는 숙성 전 95.0-106.3 mg/100 g에서 숙성 후 34.2-89.2 mg/100 g로 1.1-2.8배 감소되었다.

일반적으로 콩 발효식품의 유기산은 젖산과 초산이 다량 성분으로 원료의 분해, 생화학적 대사과정, 미생물의 작용 등에 의해서 생성되며 우리나라 전통된장뿐 아니라(34,35) 일본의 miso 및 natto, 중국의 sufu, 대만의 thua nao 등에서도(36,37) 유사한 것으로 알려져 있다. 젖산의 생성은 젖산세균이 homo발효과정을 거치면서 glucose로부터 젖산을 생성시키는 경로(38)와, *B. subtilis*가 다양한 경로를 통하여 lactate를 생성(39,40)하는 반응계가 알려져 있다. 우리나라 전통 장류의 젖산 함량은 0-51.73 mg/100 g 범위이고(41) *A. oryzae*, *B. subtilis* 또는 *B. natto*를 각각 접종시켜 제조된 개량 된장의 함량은 288-405 mg/100 g (35) 정도 이기 때문에 젖산세균보다는 *Bacillus*에 의해 생성되는 젖산의 양이 많을 것으로 생각되나 명확하지 않다. 본 시험에서는 *A. oryzae*와 *B. licheniformis*를 스타터로 사용하였기 때문에 전통된장보다 젖산의 함량이 높았던 것으로 이해된다. 또한, 발효된 추출물 첨가에 의해서 함량이 증가한 것은 추출물에 의한 *B. licheniformis*의 생육 촉진과(22) 효소활성의 증가로(23) 원료 유래 젖산이 증가되었기 때문으로 추정된다. 초산은 콩에도 일부 존재하고 있으나 발효과정 중 homo형 젖산세균이나 *Bacillus*균의 작용으로 발생하는 것으로 알려져 있고(42) 전통 된장(61.3 mg/100 g)과 스타터가 접종된 개량 된장(50.1-76.5 mg/100 g)의 함량차이가 크지 않기에(35) *Bacillus*에 의한 생성은 많지 않을 것으로 생각된다. 따라서 발효된 된장의 숙성에 따른 초산 함량 증가는 효모(29) 및 초산균의 작용에 의한 가능성이 있으나 추가적인 접근이 필요하다. Pyroglutamic acid는 glutamic acid의 일부가 비효소적으로 변한 것으로 특이적인 맛은 없으나(43) 퇴행성 기억력 감퇴에 개선 효과가 있는 것으로 나타났다(44).

한편, malic acid는 숙성 전(23)에 추출물 첨가구에서 4.1-28.8 mg/100 g 농도로 발견되었으나 숙성 동안에 소실되어 모든 처리구에서 발견되지 않았다. Succinic acid는 숙성 전에 0.7%와 2.0% 처리구에서만 소량(4.1-5.5 mg/100 g) 검출되었던 것이 5.0%와 10.0% 첨가구에서 21.8-27.4 mg/100 g 농도로 새로이 생성되었다. 그러나 oxalic, citric, tartaric, fumaric, formic acid는 숙성 전후

Table 4. Analysis of organic acids content in 12 months aged *doenjang* containing FRV extract

Compounds	Organic acid concentration (mg/100 g)				
	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
Acetic	79.1±4.6 ^d	138.5±8.5 ^b	182.9±11.7 ^a	104.2±6.6 ^c	137.1±9.6 ^b
Citric	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd
Formic	nd	nd	nd	nd	nd
Fumaric	nd	nd	nd	nd	nd
Lactic	548.3±34.5 ^{ab}	619.0±46.8 ^{ab}	512.5±39.4 ^b	664.6±49.8 ^a	552.9±45.6 ^{ab}
Malic	nd	nd	nd	nd	nd
Oxalic	nd	nd	nd	nd	nd
Pyroglutamic	34.2±1.8 ^d	89.2±4.9 ^b	196.3±10.5 ^a	72.2±3.9 ^c	73.9±4.3 ^{bc}
Succinic	nd	nd	nd	27.4±1.6 ^a	21.8±1.2 ^b
Tartaric	nd	nd	nd	nd	nd
Total	661.6±40.9 ^b	846.7±60.2 ^a	891.7±61.6 ^a	868.3±61.9 ^a	785.7±60.8 ^{ab}

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
¹⁾nd: not detected.

Table 5. Analysis of free sugars content in 12 months aged *doenjang* containing FRV extract

Compounds	Free sugar concentration (mg/100 g)				
	0%	0.7%	2.0%	5.0%	10.0%
Cellobiose	nd ¹⁾	nd	nd	nd	nd
Fructose	nd	nd	nd	nd	nd
Glucose	98.4±6.2 ^c	131.7±10.0 ^b	131.0±10.1 ^b	192.8±14.5 ^a	194.7±16.1 ^a
Isomaltose	nd	nd	nd	nd	nd
Maltose	nd	nd	nd	nd	nd
Mannose	65.0±3.4 ^b	86.1±4.9 ^a	75.5±3.8 ^{ab}	84.0±4.8 ^a	79.8±4.4 ^a
Sucrose	nd	nd	nd	nd	nd
Total	163.4±9.6 ^c	217.8±14.9 ^b	206.6±13.9 ^{bc}	276.8±19.3 ^a	274.5±20.5 ^a

Values represent means±standard deviations and values with different superscripts in the same row are significantly different at $p<0.05$.
¹⁾nd: not detected.

모든 시료에서 검출되지 않았다. 된장은 젖산세균(*Leuconostoc mesenterioide*, *Tetragenococcus halophilus*, *Enterococcus faecium*), 세균(*B. subtilis*, *B. licheniformis*), 곰팡이(*Mucor plumbeus*, *Aspergillus oryzae*, *Debaryomyces hansenii*) (45) 및 효모(*Candida rugosa*, *C. zeylanoides*, *Pichia farinosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*) (46) 등의 혼합미생물계로 숙성과정에서 일어나는 성분변화를 예측하는데 상당한 어려움이 있다.

유리당

숙성 발효옷 된장에 함유된 유리당은(Table 5) mannose와 glucose만 검출되고 sucrose, cellobiose, maltose, fructose, isomaltose는 검출되지 않았다. 유리당 총량은 대조구가 163.4 mg/100 g이었던 반면 첨가구는 각각 217.8, 206.6, 276.8, 274.5 mg/100 g으로 대조구에 비해 1.3-1.9배 높게 함유되어 있었다. 이 중 mannose 함량은 대조구 65.0, 첨가구 75.5-86.1 mg/100 g이고 glucose의 함량은 대조구 98.4, 첨가구 131.0-194.7 mg/100 g인 것으로 분석되었다. 우리나라 된장의 유리당 조성 및 함량 분포는 상당히 넓은 것으로 확인되고 있다. 자연 발효한 전통된장에 있어 70일간 발효한 된장에는 fructose 640-860, glucose 670-960, galactose 0-230, sucrose 90-250, maltose 120-220 mg/100 g (47), 1-9년 동안 숙성한 된장에는 glucose, sucrose, maltose는 검출되지 않고 fructose만 1600-2200 mg/100 g 범위(48) 조사되고 있다. 반면 스타터를 접종한 개량된장의 경우 *A. oryzae*, *B. subtilis*, *B. natto*를

접종하여 90일간 발효시킨 된장은 rhamnose 150-220, fructose 50-310, glucose 460-2660, sucrose 90-310, maltose 90-330 mg/100 g (35), *A. oryzae*를 접종하여 180일간 숙성한 된장은 sucrose 28, glucose 76, xylose 41, galactose 14, arabinose 18 mg/100 g (49) 이 함유되어 있는 것으로 보고하고 있어 제조방법 등에 의해 크게 차이를 보였다.

콩의 탄수화물 함량은 23.7% 정도이나(29) 이중 전분은 성숙 과정에서 대부분 소실되기 때문에(50) 완숙한 국내산 콩에는 1.6% 미만(51)으로 분포되어 있고 다당류인 cellulose, arabinogalactan, pectin, galactomannan (29)이 주요 구성성분으로 판단된다. 증자 대두의 다당류는 rhamnose 1.6%, arabinose 15.0%, xylose 7.1%, mannose 3.9%, galactose 26.1%, glucose 36.3%, galacturonic acid 10.0%로 구성되어 있는 것으로 알려져 있다(29). 따라서 발효옷 된장의 유리당 함량에는 이들 세포벽 성분을 분해할 수 있는 cellulase, glycanase, pectinase, mannanase 등의 활성과 관련이 있을 것으로 보이며, 발효옷 된장에서 다량 검출된 mannose는 non-cellulosic polysaccharide이기 때문에(52) cellulose보다는 pectin 등의 분해가 유리당 함량에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 또한, 추출물에 의존적으로 mannose 및 glucose 함량이 증가되는 것으로 미루어 추출물이 다당류 분해 효소활성에도 영향을 미쳤을 것으로 생각되나 구체적으로 밝히기 위해서는 후속 연구가 필요하다.

이상의 결과들로부터 발효옷 추출물은 숙성 전 된장뿐 아니라

12개월 숙성 된장의 유리아미노산 함량을 높은 양으로 유지시켜 줬고 biogenic amine의 함량을 감소시키며, 유리당 함량은 증가시켜 줌으로서 된장의 품질에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각된다.

요 약

발효옷 추출물이 장류, 발효식초, 일부 주류에 사용 가능하게 됨에 따라 추출물이 된장의 숙성 중 일반성분, 유리아미노산, biogenic amine (BA), 유기산, 유리당 함량에 미치는 영향에 대해 살펴보았다. 아미노질소 함량은 무침가구 609.37 mg/100 g이었던 반면 첨가구는 781.11-885.87 mg/100 g으로 무침가구보다 28.2-45.4% 높았다. 추출물 첨가에 의해서 감칠맛을 가지고 있는 glutamic acid는 1.3-1.5배, 단맛을 가지고 있는 alanine, lysine, phenylalanine, serine은 각각 1.3-2.3, 1.2-1.3, 1.1-1.2, 1.3-1.9배, 약한 쓴맛을 가지고 있는 leucine, isoleucine, valine은 1.2-1.3, 1.3-1.7, 1.3-1.6배 증가하였다. BA의 총량은 대조구 172.3, 첨가구 81.7-163.2 mg/100 g으로 대조구보다 5.3-52.6% 낮았다. 주요 BA 성분은 tyramine으로 총량의 55.1-74.6%를 차지하고 있었고 putrescine, spermidine, tryptamine, cadaverine 순이었으며 추출물 첨가에 의해서 각각 1.7-3.4, 1.0-9.4, 1.1-2.9, 0.9-2.2, 1.8-3.5배 낮아졌다. 유기산 총량은 대조구 661.6, 첨가구 785.7-891.7 mg/100 g으로 첨가구가 대조구보다 1.2-1.3배 높았다. 추출물 첨가에 의해서 젓산은 큰 변화가 없었던 반면 초산은 대조구 79.1, 첨가구 104.2-182.9 mg/100 g으로 1.3-2.3배 증가하였다. 유리당 총량은 대조구 163.4, 첨가구 206.6-276.8 mg/100 g으로 1.3-1.9배 증가되었으며, 주요 유리당은 mannose와 glucose이었고 sucrose, cellobiose, maltose, fructose, isomaltose는 검출되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ009859)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

References

- Eom SK, Kim KS. On estimation of indication, property and processing of *Rhus verniciflua* Stokes. J. Korean Medical Classics 21: 29-37 (2008)
- Namba T. Coloured illustrations of Wakan-Yaku. Hoikusha Publishing Co. Ltd., Osaka, Japan. p. 215 (1980)
- Kim JD. These are conclusions from the documentary research. Korea Agric. Hist. Assoc. 11: 91-134 (2012)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korea food and drug administration notice. Authentic Interpretation No. 65433-1490 (2000)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korea food and drug administration notice. Notice No. 2006-55 (2006)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korea food and drug administration notice. Notice No. 2007-48 (2007)
- Choi HS, Kim MK, Park HS, Yun SE, Mun SP, Kim JS, Sapkota K, Kim S, Kim TY, Kim SJ. Biological detoxification of lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) stem bark by mushroom species. Food Sci. Biotechnol. 16: 935-942 (2007)
- Choi HS, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Park HS, Kim MK. Preparation and characterization of urushiol free fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 173-178 (2012)
- Shin SH, Koo KH, Bae JS, Cha SB, Kang IS, Kang MS, Kim HS, Heo HS, Pakr MS, Gil GH, Lee JY, Kim KH, Li Y, Lee HK, Song SW, Choi HS, Kang BH, Kim JC. Single and 90-day repeated oral dose toxicity studies of fermented *Rhus verniciflua* stem bark extract in sprague-dawley rats. Food Chem. Toxicol. 55: 617-626 (2013)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korea food and drug administration notice. Notice No. 2012-128 (2012)
- Choi HS, Kim BH, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Park HS, Kim MK. Physicochemical properties and physiological activities of *Rhus verniciflua* stem bark cultured with *Fomitella fraxinea*. Korean J. Mycol. 38: 172-178 (2010)
- Kim MO, Kim JS, Sa YJ, Jeong HJ, Chun WJ, Kwon YS, Kim TY, Choi HS, Yu CY, Kim MJ. Screening of extraction solvent condition of fermented *Rhus verniciflua* stem bark by antioxidant activities. Korean J. Medicinal Crop Sci. 18: 217-223 (2010)
- Rha YA, Choi MS, Park SJ. Antioxidant and anti-adipogenic effects of fermented *Rhus verniciflua*. Korean J. Culin. Res. 20: 137-147 (2014)
- Liu CS, Nam TG, Han MW, Ahn SM, Choi HS, Kim TY, Chun OK, Koo SI, Kim DO. Protective effect of detoxified *Rhus verniciflua* Stokes on human keratinocytes and dermal fibroblasts against oxidative stress and identification of the bioactive phenolics. Biosci. Biotechnol. Bioch. 77: 1682-1688 (2103)
- Yang JE, Lee JM, Shin HS, Park SY, Lee DG, Mavlonov GT, Lee WC, Cho SK, Yi TH. Effect of extract from lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes) on DNCB-induced atopic dermatitis in NC/Nga mouse. Food Sci. Biotechnol. 21: 1321-1327 (2012)
- Sapkota K, Kim S, Park SE, Kim SJ. Detoxified extract of *Rhus verniciflua* stokes inhibits rotenone-induced apoptosis in human dopaminergic cells, SH-SY5Y. Cell. Mol. Neurobiol. 31: 213-223 (2011)
- Sapkota K, Kim S, Kim MK, Kim SJ. 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. Bioch. 74: 1997-2004 (2010)
- Sapkota K, Kim S, Kim JS, Kim MK, Chun HS, Kim SJ. Effects of the detoxified extract of *rhus verniciflua* on regulation of catecholamine biosynthesis J. Korean Soc. Appl. Bi. 52: 590-599 (2009)
- Byun JS, Han YH, Hong SJ, Hwang SM, Kwon YS, Lee HJ, Kim SS, Kim MJ, Chun WJ. Bark constituents from mushroom-detoxified *Rhus verniciflua* suppress kainic acid-induced neuronal cell death in mouse hippocampus. Korean J. Physiol. Pharmacol. 14: 279-283 (2010)
- Kim KM, Kim TY, Kim MK, Kim HR. Quality properties of *gangjung* added with detoxified stem bark of *Rhus verniciflua* (RVSB) extract during acceleration storage. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 425-431 (2007)
- Kim KM, Kim TY, Kim MK, Kim HR. The quality of *gangjung* added with detoxified stem bark of *Rhus verniciflua* extract during room temperature storage. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 927-933 (2008)
- Choi HS, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Kang JE, Kim MK. 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. 40: 235-243 (2012)
- Choi HS, Jeong ST, Choi JH, Kang JE, Kim EG, Noh JM, Kim MK. Effect of urushiol-free extracts from fermented-*Rhus verniciflua* stem bark with *Fomitella fraxinea* on the fermentation characteristics of *doenjang* (soybean paste). Korean J. Mycol. 40: 244-253 (2012)
- MFDS. Korean Food Standards Codex. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongwon, Korea (2010)
- Hitachi High-Technologies Corporation. Amino acid analysis of beer. Available from: <http://hitachi-hita.com/sites/default/files/app-notes/lc56.pdf>. Accessed Jul. 29, 2015.
- Hermdez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogués MT, Vidal-Carou MC. Ion-pair high-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. J. Agr. Food Chem. 44: 2710-2715 (1996)
- Suzuki H, Kato E, Matsuzaki A, Ishikawa M, Harada Y, Tanikawa K, Nakagawa H. Analysis of saccharides possessing post-translational protein modifications by phenylhydrazine labeling using high-performance liquid chromatography. Anal. Sci. 25: 1039-1042 (2009)

28. Kim JG. 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 (2004)
29. Brewing Society of Japan. Component of the alcoholic beverages. Shin Nippon Printing Co. Ltd., Tokyo, Japan. pp. 50-79, 409-418 (1999)
30. Kato H, Rhue MR, Nishimura T. Role of free amino acids and peptides in food tasted. ACS Symposium series-American Chemical Society, Washington D.C., USA. pp. 158-174 (1989)
31. Mody I, de Koninck Y, Otis TS, Soltesz I. Bridging the cleft at GABA synapses in the brain. Trends Neurosci. 17: 517-525 (1994)
32. Tiedje KE, Stevens K, Barnes S, Weaver DF. β -alanine as a small molecule neurotransmitter. Neurochem. Int. 57: 177-188 (2010)
33. Silla Santos MH. Biogenic amines: Their importance in foods. Int. J. Food Microbiol. 29: 213-231 (1996)
34. Oh GS, Kang KJ, Hong YP, An YS, Lee HM. Distribution of organic acids in traditional and modified fermented foods. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 1177-1185 (2003)
35. An HS, Bae JS, Lee TS. Comparison of free amino acids, sugars, and organic acids in soy bean paste prepared with various organisms. J. Korean Soc. Appl. Bi. 30: 345-350 (1987)
36. Chung HY, Fung PK, Kim JS. Aroma impact components in commercial plain *sofu*. J. Agr. Food Chem. 53: 1684-1691 (2005)
37. Leejeerajumnean A, Duckham SC, Owens JD, Ames JM. Volatile compounds in *Bacillus*-fermented soybeans. J. Sci. Food Agr. 81: 525-529 (2001)
38. Hofvendahl K, Hahn-Hagerda B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. Enzyme Microb. Tech. 26: 87-107 (2000)
39. Kim JK. Modification of traditional fermented soy products by modern technology. Ministry of Science and Technology. Sejong, Korea. pp. 235-375 (1998)
40. Kim, JK. Mass Production of traditional fermented soy products by biotechnological technique. Ministry of Science and Technology. Sejong, Korea. pp. 265-421 (2000)
41. Shukla S, Park HK, Kim JK, Kim MH. Determination of biogenic amines in Korean traditional fermented soybean paste (*doenjang*). Food Chem. Toxicol. 48: 1191-1195 (2010)
42. Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim DK, Lim MS. Studies on the physicochemical characteristics of traditional *Kochujang*. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 157-161 (1996)
43. Yoshizawa Y, Ishikawa TA, Tadenuma M, Nagasawa M, Nagami K. Encyclopedia of brewing and fermentation food. brewing. Asakura Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japan. pp. 410-417 (2004)
44. Grioli S, Lomeo C, Quattropiani MC, Spignoli G, Villardita C. Pyroglutamic acid improves the age associated memory impairment. Fundam. Clin. Pharm. 4: 169-173 (1990)
45. Kim TW, Lee JH, Kim SE, Park MH, Chang HC, Kim HY. Analysis of microbial communities in *doenjang*, a Korean fermented soybean paste, using nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. Int. J. Food Microbiol. 131: 265-271 (2009)
46. Lee NS, Oh NS. Characteristics of yeast flora and gas generation during fermentation of *doenjang*. J. Korean Soc. Appl. Bi. 39: 255-259 (1996)
47. Lee KS, Lee JC, Lee JK, Hwang ES, Lee SS, Oh MJ. Quality of 4-recommended soybean cultivars for *meju* and *doenjang*. Korean J. Food Preserv. 9: 205-211 (2002)
48. Ku KH, Park KM, Kim HJ, Kim YS, Koo MS. Quality characteristics of *doenjang* by aging period. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 43: 720-728 (2014)
49. Kim MJ, Rhee HS. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation (II). Korean J. Food Cook. Sci. 9: 261-265 (1993)
50. Wilson LA, Birmingham VA, Moon DP, Snyder HE. Isolation and characterization of starch from mature soybeans. Cereal Chem. 55: 661-670 (1978)
51. Lee YT, Kim SS, Chae EM. Physicochemical properties of selected cereals and legumes for the production of extruded multi-grain. J. Korean Soc. Appl. Bi. 44: 30-34 (2001)
52. Karr-Lilienthal LK, Kadzere CT, Grieshop CM, Fahey Jr GC. Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: A review. Livest. Prod. Sci. 97: 1-12 (2005)