

간장의 속성제조를 위한 간장국의 고온분해

류병호[†] · 조경자* · 채영주** · 박춘옥***

경성대학교 식품공학과, *가정관리학과

**오복간장 주식회사

***부산여자전문대학 생활교양과

Thermal Koji Hydrolysis for Rapid Fermentation of Soy Sauce

Beung-Ho Ryu[†], Kyung-Ja Cho*, Young-Ju Chae** and Choon-Ok Park***

Dept. of Food Science and Technology, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

*Dept. of Home Economics, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

**Oh Bok Food Co., Pusan 604-070, Korea

***Dept. of Cultural Learning, Pusan Women's Junior College, Pusan 614-050, Korea

Abstract

This study aims to construct the conditions of thermal hydrolysis (40, 45, 50° C) of koji for the purpose of rapid soy sauce fermentation. Koji hydrolysate was stable for fermentation, when koji hydrolyzed at 40° C with 12% NaCl or at 45° C with 8% NaCl. The highest extracted total nitrogen was 1.75%, when the salt level was 9% and at 45° C. The amount of reducing sugar was 7.2% and that of formal nitrogen was 0.9% when NaCl concentration was 12% and at 45° C. The viscosity of koji hydrolyzate was in good condition with 15% NaCl and at 45° C until after 12days. On the other hands, free amino acid extracted from koji hydrolyzates showed the highest levels of 3268mg% at 45° C. Free amino acids consisted of glutamic acid, leucine, arginine, aspartic acid, lysine, valine and phenylalanine which dominated 50% of total amino acids.

Key words : rapid soy sauce fermentation, koji hydrolyzate

서 론

간장은 특유의 조미료로서 우리의 식생활에 없어서는 안될 중요한 식품의 하나이다. 간장은 모든 부식의 근간임에도 불구하고 발효 방법이 복잡하고 숙성기간이 긴 것이 문제가 되고 있다. 간장은 삶은 대두와 밀가루에 *Aspergillus oryzae* 또는 *Aspergillus sojae*의 포자를 접종시켜 배양한 후 고농도의 식염수로 숙성시키면 국균 효소에 의하여 단백질은 저분자의 peptide와 아미노산으로 당질은 단당류로 분해된다. 이때 주발효 효모에 의하여 알코올이 생성된 후 후숙 발효덧의 효모에 의하여 향기 성분의 생성으로 간장의 풍미를 높혀준다¹⁻⁴⁾. 그러나 간장은 발효기간이 6개월내지 1년 정도의 장기간이 소요되므로 이를

해결하기 위한 연구가 요구되고 있다. 간장의 발효에 관한 연구로는 국균인 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae*의 α -amylase의 생산성 변이주에 의한 발효^{5,6)}, *Aspergillus sojae* 및 *Aspergillus oryzae*의 돌연변이주 및 원형질체 융합에 의한 국균의 육종 등⁷⁻¹⁰⁾에 관한 연구가 있다.

이러한 일련의 연구는 육중한 국균에서 분비하는 각종 효소에 의하여 국을 분해하기 때문에 제국 분해 과정이 오랜 기간 걸린다. 그러므로 제국 분해 과정을 단축시키기 위하여 *Aspergillus sojae* 나 *Aspergillus oryzae* 등 국균으로 분해시키지 않고, 국을 단시간내 분해하는 protease, amylase 등 역가가 높은 시판 효소를 사용하면 제국의 분해를 단축시킬 수 있다¹¹⁾. 따라서 간장을 속성으로 발효시킬 목적으로 우선 간장

[†]To whom all correspondence should be addressed

국을 고온으로 분해하여 국 분해과정을 단축시키는 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

간장에 사용된 탈지대두와 소맥분은 부산시 진시창에서 구입하였다.

미생물

*Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae*에는 오복식품(부산)에서 분양받아 Malt agar 배지에 계대한 후 사용하였다.

간장국의 제법

삶은 탈지대두와 소맥분을 2 : 1의 비율로 혼합한 후 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae*로 만든 종국을 가하여 잘 혼합한 다음 37°C에서 2일간 배양한 후 국으로 사용하였다.

고온 분해법에 의한 국 분해액의 조제

삶은 콩과 밀가루 1kg과 간장국 100g을 혼합한 후 최종 식염농도가 15%, 18% 및 25%가 되도록 식염수를 붓고 complex enzyme 2,000(태평양 Co.) 5g을 첨가한 후 40°C, 45°C 및 50°C에서 4~5일간 분해하고 압착 여과하여 국 분해액으로 하였다.

일반성분 분석

pH는 pH meter로 환원당은 Somogyi 변법으로, 총질소 및 formol질소는 상법으로, 점도는 점도계(Ricon Co. Ltd)로 측정하였다.

색도 및 색조

시료를 일정하게 희석한 후 460nm, 530nm 및 610nm의 흡광도를 측정하여 각 흡광도의 총 합계를 색력으로 나타내었고, 색조의 측정은 460nm, 530nm 및 610nm에서 측정된 흡광도를 총 흡광도의 합계로 나눈 값을 백분율로 나타내었다¹²⁾.

유리 아미노산 분석

시료를 2~3ml를 취하여 Spackman 등의 방법¹³⁾에 따라 Amberlite CG-120 수지 칼럼을 사용하는 아미노산 자동분석계(JLC-6AH, NO 310)로서 분석하였다.

결과 및 고찰

국(麴)의 고온 분해법의 검토

간장국의 고온 분해법으로 원료를 단시간에 분해하여 유효 성분을 용출시키기 위하여 식염의 농도 및 분해 온도에 따른 조건을 검토한 결과는 Fig. 1과 같다. 일반적으로 사입 식염농도를 9, 12, 15, 18 및 21%로 조절한 다음 조사해 보면 40°C에서는 사입 식염농도가 14% 부근에서, 45°C에서는 사입 식염농도가 11% 부근에서 그리고 50°C는 사입 식염농도가 8% 부근에서 변패가 일어나는 것을 알 수 있었다. 그러나 사입 식염농도가 40°C에서는 15%이상, 45°C에서는 12% 이상 및 50°C에서는 8%이상이 비교적 안정하였다.

총질소 용출량의 변화

국균의 분해과정을 단축하기 위하여 재래식 보다는 온도를 높혀 국의 분해를 시도하였다. 국의 분해 온도를 40°C, 45°C 및 50°C로 구분하고 사입 식염농도는 9, 12, 15, 18 및 21%로 나누어 1~12일간 질소의 용출량을 조사한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 국의 분해온도와 사입 식염수의 농도 별 총질소의 용출량은 분해 12일에서 보면 40°C의 15%일 때 1.7%, 45°C의 12%일 때 1.69% 그리고 50°C의 9%일 때가 17.5%로 가장 높은 수치를 나타내었으며, 이와는 반대로 40°C의 21%일 때 1.62%, 45°C의 18%일 때 1.58% 및 50°C의 15%일 때가 1.67%로 가장 낮은 수치를 보이고 있다.

이와 같은 전반적인 경향은 분해 온도가 높고 사입 식염수의 농도가 낮으면 총질소의 용출은 높았으며, 분해 온도가 낮고 사입 식염수의 농도가 높으면 총질소의 용출은 적었다. 그리고 경과 일수에 따른 총질소의 용출량은 분해일수 1~8일까지는 점차적으로 증가

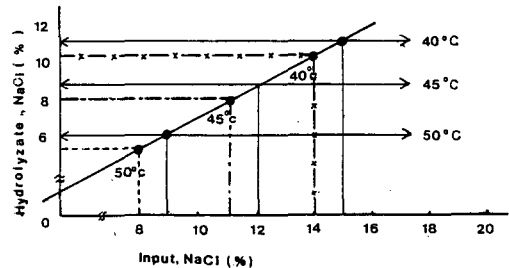


Fig. 1. Correlation of spoilage region and koji hydrolyzate concerned NaCl concentrations. Spoilage region : 50°C ·····, 45°C ---, 40°C ···· x ···· Koji hydrolysis were performed at 40°C, 45°C, 50°C and different NaCl concentrations of 9, 12, 15, 18 and 21%.

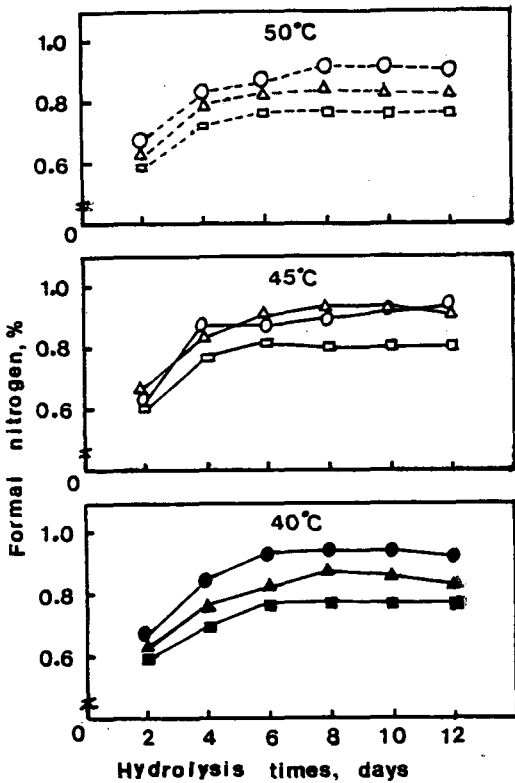


Fig. 4. Changes of formol nitrogen by hydrolysis temperatures and NaCl concentration of koji hydrolyzates.

9% (7)····○···· 12% (9)····△···· 15%(11)····□····
 12% (9)····○···· 15%(11)····△···· 18%(13)····□····
 15%(11)····●···· 18%(13)····▲···· 21%(15)····■····
 () : NaCl concentration in dip for koji hydrolysis

나타내었다.

pH의 변화

국 분해액의 pH의 경시적 변화는 Fig. 5에 표시하였다. 국을 12일간 분해했을 때의 pH의 변화는 국 분해 온도가 50°C에서는 사입 식염농도 9%, 12% 및 15% 일 때 pH는 5.2, 5.18 및 5.1로 급격히 저하되었고 45°C에서는 사입 식염농도가 12%, 15% 및 18%일 때 pH는 5.4, 5.45 및 5.5였고, 40°C에서는 사입 식염농도가 15%, 18% 및 21% 일때 pH는 5.25, 5.38 및 5.43 이었다. 이와 같이 고온 분해액의 pH는 경시적으로는 낮아지는 경향이였다. 이러한 경향은 온도가 높을 수록 pH가 급격히 떨어지는 것으로 볼 수 있다. 국 분해액의 pH는 유기산의 생성, 원료 단백질의 용출, 아미노산의 생성 특히 글루타민산의 생성에 영향을 받는 것으로 생각된다^{14,15)}. 국 분해액의 pH의 감소는 산패의 지표로서 국의 분해 종료시의 pH는 분해액에 유산 발

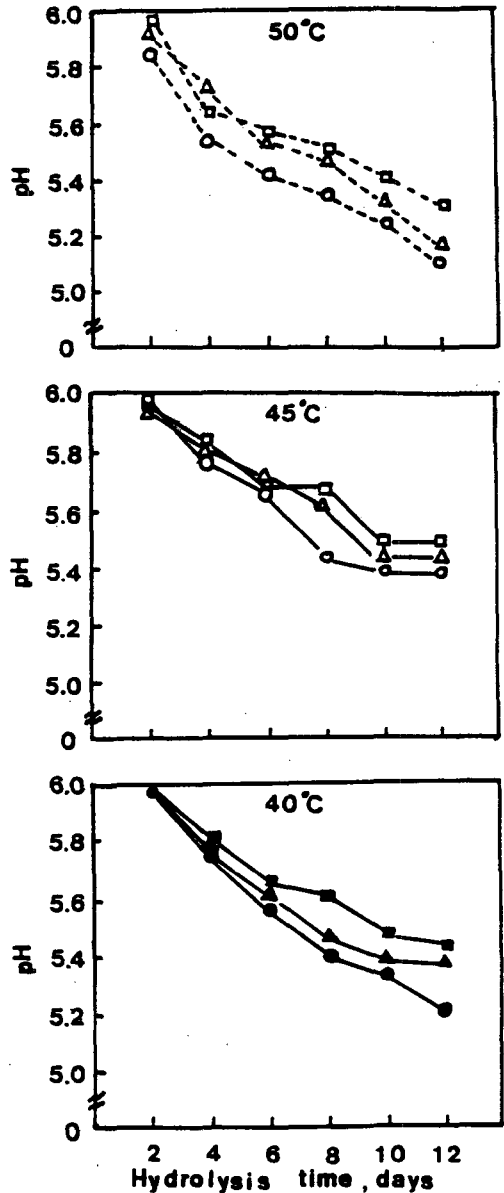


Fig. 5. Changes of pH ranges during hydrolysis times of different temperature and NaCl concentration.

9% (7)····○···· 12% (9)····△···· 15%(11)····□····
 12% (9)····○···· 15%(11)····△···· 18%(13)····□····
 15%(11)····●···· 18%(13)····▲···· 21%(15)····■····
 () : NaCl concentration in dip for koji hydrolysis

효의 영향을 받게 된다¹¹⁾.

이상의 결과로 보아 분해온도와 사입 식염농도에 따라서 formol 질소의 용출량은 다소 차이가 있으나 큰 차이는 없었다. 따라서 본 실험에서는 국 분해 온도 45°C에서 사입 식염농도가 12%일 때가 formol질소가 0.9%로 가장 적당하다고 판단된다.

Table 1. Viscosity¹ of koji hydrolyzates

Days	40°C			45°C			50°C		
	15%	18%	21%	12%	15%	18%	9%	12%	15%
2	2.00	1.90	2.00	2.10	2.00	2.10	1.80	1.80	1.80
4	1.90	1.90	2.00	1.90	1.80	1.90	2.00	1.90	1.90
6	2.00	2.00	2.10	2.10	1.80	2.00	2.00	2.00	1.90
8	1.70	1.60	1.60	1.60	1.50	1.70	1.70	2.00	1.50
12	1.40	1.70	1.60	1.50	1.30	1.60	1.60	1.60	1.80

¹Sample was diluted 20 folds with 10% saline solution and viscosity measured with No. 3 Rotor (12rpm) using by Visco tester VT-03 (Rion Co. Ltd) and compared with control koji hydrolyzate

국 분해액의 점도 및 여과성

고온으로 국을 분해할 때 2~12일까지의 분해액의 점도를 측정된 결과를 Table 1에 표시하였다. 국을 분해할 때의 점도는 분해온도인 40°C, 45°C 및 50°C와 각종 사입 식염의 농도인 9, 12, 15, 18 및 21%에는 큰 차이는 없었으나, 국 분해 시간이 길어짐에 따라 점차적으로 점도가 낮아지는 경향이였다. 분해 온도가 45°C의 사입 식염수 15%에서 12일 경과시에 점도가 제일 양호하였다.

분해액의 분해 정도에 따라 분해액의 여과에 영향을 주므로 압착조건을 정하는데 주요한 요인이 된다. 본 실험에서는 국 분해액을 12일간 분해시킨 후 Toyo filter paper No. 2를 이용하여 20분과 40분동안 여과하였을 때 여과속도는 Table 2와 같다. 국 분해액의 12일 경과후의 분해 속도는 분해 온도와 사입 식염수의 농도에 따라 큰 차이를 찾아볼 수 없었다. 본 실험은 재래식 국 분해액을 대조군으로 비교하기 위하여 동시에 측정하였던 바 큰 차이를 찾아 볼 수 없었으므로 양호한 결과라고 생각된다.

색도 및 색조

간장의 색도 및 색조는 제품의 품질에 미치는 영향이 크다. 국분해액의 색조 생성은 고온분해 중 용출된 질소 성분과 당이 마이알 반응에 의하여 생성된다¹⁶⁻¹⁸⁾. Table 3은 12일 동안 국 분해시 생성되는 색도와 색조를 나타내었다. 국 분해시 생성된 색소는 분해온도가 높을수록 색도가 강하였으나 사입 식염농도는 높을수록 색도는 약하였다. 이러한 결과는 마이알 반응시 온도는 반응을 촉진하여 갈변이 일어나 색도를 높이지만, 식염은 반응을 억제시키기 때문이다^{19,20)}.

한편 재래식 국 분해액과 비교해 보면 전반적으로 색도는 약하고 색조의 비율도 약간의 차이를 보이고 있는데 이는 단기간에 만들어지는 고온 국 분해액과 장기간의 재래식 국 분해액에 소요되는 시간 때문이라

Table 2. Filtration ability of koji hydrolyzates

Temperature (°C)	NaCl (%)	Filtration ability ¹	
		20min	40min
40	15	13.5	17.5
	18	15.0	19.0
	21	14.5	18.0
45	12	18.0	22.0
	15	19.0	22.5
	18	17.5	20.5
50	9	14.0	16.0
	12	13.3	16.0
	15	16.0	19.0

¹Velocity of filtration determined to divide into filtration by total volume (%) by using Toyo filter paper No. 2

고 생각된다.

유리 아미노산의 변화

이상의 실험 결과에 따라 45°C에서 사입 식염수의 농도가 15%일때가 국 분해액으로 가장 이상적으로 생각된다. 따라서 유리 아미노산의 함량은 분해온도 40°C, 45°C 및 50°C에서 사입 식염수의 농도는 15%에만 한정하여서 분석하여 보았다. Table 4에서 보는 바와 같이 각 분해 온도에 따라 유리 아미노산의 함량은 다소 차이가 있으나, 유리 아미노산의 조성비율은 거의 비슷한 경향이었고 온도별 전체 유리 아미노산의 함량은 40°C일 때 3443mg%로 가장 높았고, 45°C일 때 3268mg% 및 50°C일 때 3139mg%의 순으로 용출되었다. 전반적으로 유리 아미노산의 조성비율은 온도에 관계없이 glutamic acid, leucine, arginine, aspartic acid, lysine, valine 및 phenylalanine이 전체 아미노산의 약 절반을 차지하고 있으며 histidine, methionine 및 tyrosine의 함량은 아주 낮았다.

野田 등¹¹⁾은 고온 국분해로 용출된 유리아미노산 중 glutamic acid, leucine 및 aspartic acid가 가장 많이 용출되었고 histidine 및 tyrosine의 용출이 가장 낮았다고

Table 3. Color intensity and color hue of koji hydrolyzates

Temperature (°C)	NaCl (%)	Color intensity	Color hue (nm)		
			460	570	610
40	15	0.538	0.307 (57.1) ¹	0.153 (28.5)	0.077 (14.4)
	18	0.517	0.300 (58.0)	0.145 (28.0)	0.072 (14.0)
	21	0.459	0.268 (58.5)	0.126 (27.6)	0.063 (13.9)
45	12	0.594	0.332 (56.0)	0.171 (28.9)	0.089 (15.1)
	15	0.507	0.301 (59.5)	0.139 (27.5)	0.065 (13.0)
	18	0.540	0.314 (58.2)	0.152 (28.2)	0.073 (13.6)
50	9	0.626	0.345 (55.2)	0.198 (31.6)	0.082 (13.2)
	12	0.564	0.332 (58.9)	0.164 (29.1)	0.068 (12.0)
	15	0.535	0.345 (45.5)	0.296 (39.0)	0.117 (15.5)

¹The values in parenthesis is relative % of total color hue

Table 4. Free amino acid composition and ratio of koji hydrolyzates

	Amino acids (mg%)		
	40°C	45°C	50°C
Lys	253 (7.34) ¹	236 (7.22)	228 (7.26)
His	87 (2.52)	76 (2.33)	72 (2.29)
Arg	310 (9.00)	294 (9.00)	271 (8.63)
Asp	270 (7.84)	267 (8.17)	260 (8.28)
Thr	231 (6.70)	221 (6.76)	186 (5.93)
Ser	228 (6.62)	214 (6.55)	201 (6.40)
Glu	427 (12.39)	412 (12.60)	392 (12.49)
Pro	113 (3.27)	122 (3.73)	103 (3.29)
Gly	127 (3.68)	105 (3.21)	117 (3.73)
Ala	198 (5.74)	183 (5.60)	185 (5.89)
Val	246 (7.13)	239 (7.31)	231 (7.36)
Met	77 (2.33)	68 (2.09)	60 (1.91)
Ile	218 (6.32)	194 (5.94)	186 (5.93)
Leu	358 (10.39)	346 (10.59)	339 (10.80)
Tyr	69 (2.03)	67 (2.05)	107 (3.41)
Phe	231 (6.70)	224 (6.85)	201 (6.40)
Total	3443 (100)	3268 (100)	3139 (100)

¹The values in parenthesis is relative % of total amino acids

하였으므로 본 연구 결과와 비슷한 경향이였다.

국 분해액의 생균수

Table 5은 국의 분해온도 및 사입 식염수의 농도별 일반세균, 젖산균 및 효모의 생균수를 표시하였다. 40°C 일 때 일반세균 10⁴/g 젖산균 10³~10⁴/g 효모 10/g이하였고 45°C일 때 일반세균 10³/g 및 효모 10~20/g이었다. 50°C일 때는 일반세균 10²~10³/g 젖산균 10²~10³/g 및 효모 10²/g정도였다. 재래식 국 분해액과 비교해보면 낮은 수치였다. 전반적으로 고온에서 사입 식염수 농도가 높을수록 미생물의 생육은 낮았으나, 온도가 낮고 사입 식염수가 낮을수록 미생물

Table 5. Viable cell counts of koji hydrolyzates

Temperature (°C)	NaCl (%)	Bacteria (g)	Lactic acid bacteria (g)	Yeast (g)
40	15	2.7 × 10 ⁴	1.8 × 10 ⁴	10
	18	1.8 × 10 ⁴	2.2 × 10 ³	10
	21	2.4 × 10 ⁴	2.0 × 10 ³	10
45	12	5.0 × 10 ³	4.0 × 10 ³	20
	15	3.0 × 10 ³	1.0 × 10 ³	20
	18	4.0 × 10 ³	1.6 × 10 ³	1.2 × 10 ²
50	9	1.6 × 10 ²	2.8 × 10 ²	1.0 × 10 ²
	12	1.8 × 10 ⁴	1.6 × 10 ²	2.8 × 10 ²
	15	1.5 × 10 ⁴	3.8 × 10 ²	4.0 × 10 ²
Control koji hydrolyzate		3.0 × 10 ⁴	1.8 × 10 ³	1.2 × 10 ²

의 생육은 높았다. 평균적으로, 일반세균 및 젖산균은 10³/g정도, 효모는 10²/g정도라고 생각되는데 본 실험 결과로는 고온분해시에 미생물의 영향을 받지 않은 것으로 생각된다.

요 약

간장을 속성으로 제조할 목적으로 간장국을 고온 (40, 45, 50°C) 으로 속성분해 하는 조건을 검토 하였다. 국의 고온분해시 40°C에서 식염 농도가 15%이상, 45°C에서는 12%이상, 50°C에서는 8%이상에서 국 분해액이 안전하였다. 총질소의 용출은 50°C, 식염농도가 9%일 때 1.75%로 가장 높은 수치를 나타내었다. 환원당은 45°C에서 식염농도가 12%일 때 7.2%이었고, formol질소는 45°C에서 식염농도가 12%일 때 0.9%이었다. 점도는 45°C에서 식염농도가 15%일 때 12 일 경과시 점도가 제일 양호하였다. 한편 국 분해액에

서 추출된 유리 아미노산은 45°C일 때 3268mg%로서 가장 높았다. 유리 아미노산 중 glutamic acid, leucine, arginine, aspartic acid, lysine, valine 및 phenylalanine 이 전체 아미노산의 절반 이상을 차지 하였다.

문 헌

1. 森治彦：醬油の酵母(その動態と育種). 日本醸造協會誌, **69**, 303(1971)
2. 이택수：간장 발효덧 중에서 생육하는 유용 효모의 역할. 대한미생물학회지, **10**, 87(1972)
3. Zhu, L. : *Technology of fermented flavor*. Publishing office of Light Industry, China, Vol. 2, p.26(1979)
4. 横塚保, 佐佐木正興, 布村伸竹, 浅尾保夫；醬類の香り(1). 日本醸造協會誌, **75**, 516(1980)
5. 古屋武, 野口勝美, 官内謙吉, 内田一生：麴菌の育種に関する研究(第3報). 日本醬研, **11**(5), 58(1985)
6. 古屋武：醬油麴菌の育種. 日本醸造協會誌, **79**(10), 739(1984)
7. 杉并孝二, 今安聰：Asp. awamoriとAsp. oryzaeの細胞融合と應用. 日本醸造協會誌, **79**(10), 725(1984)
8. 杉并孝二, 安岡章夫, 市川英治, 水津哲義：今安聰バロトバラスト融合による醸造用麴菌の育種. 日本農藝化學會 昭和58年度大會講演要旨集, p.336(1983)
9. 古屋武, 石毛雅夫, 内田一生, 吉野 廣：プロトプラスト融合による醬油麴菌の育種. 日本醬研, **57**(1) 11(1983)
10. 古屋武, 野口勝義, 客内謙吉, 内田一生：アマラーゼ低生産性麴菌の造成と醬油醸造への應用. 日本農藝化學會誌, **59**(6), 605(1985)
11. 野田義治, 大場和徳, 楠田秀喜, 中野正路：ペイオリクタを利用したしょうゆの研究, 日本醬油研究. **15**(5), 177(1989)
12. 森田好太郎：食用着色料カラメルの製造法. 特公, 昭和 43-4432(1969)
13. Spackman, D. H., Stein, W. H. and Moore, S. : Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**, 1190(1958)
14. 中台忠信：醬油麴菌の生産する各種酵素の役割. 日本醬研, **11**(2), 67(1985)
15. 四方日出男：醬類麴のグルタシメイゼについて. 日本醬研, **11**(1), 226(1985)
16. Kamata, H. and Sakurai, Y. : Color formation of soy-sauce. *Seasoning Science*(Japan), **11**, 21(1964)
17. Kato, M. and Sakurai, Y. : Studies on the mechanism of browning of soybean products, part III, The role of 3-deoxyosones, hexose, and pentose in the color increase of pasteurized soy sauce. *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, **36**, 131(1962)
18. Motai, H., Inove, S. and Hanaoka, Y. : The contribution of soybean and wheat on the color formation of soysauce. *Nippon Sokunihin Kogyo Gakkaishi*, **22**, 494(1972)
19. Hashiba, H. : Studies on melanoidin from soy sauce. *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, **47**, 727(1973)
20. Hashiba, H. : Isolation and Identification of Amadori compounds from soy sauce. *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 763(1978)

(1992년 12월 21일 접수)