

Monascus sp.를 이용한 간장의 제조

이승철 · 김수경 · 이석기 · 황용일*

경남대학교 식품공학과

(1997년 4월 23일 접수, 1997년 5월 26일 수리)

서 론

간장은 콩을 주원료로 한 발효식품으로 쌀을 주식으로 하는 동양인들에게 영양학적으로 중요한 조미료로 사용되어 온 오랜 역사를 가진 식품이다. 간장의 제조원리는 국균이 생산하는 효소에 의해서 단백질이 저분자의 펩티드와 아미노산으로, 탄수화물이 단당류의 가용성 물질로 분해되는 것이다.¹⁾ 전래의 간장제조는 미생물의 역할이 입증되기 이전부터 사용되어 왔지만 원료 및 제조방법이 일정하지 않아 균일한 제품을 얻기가 어려웠다. 그러나 과학의 발달과 더불어 간장의 제조원리를 알게 되고, 우수균주의 분리와 발효조건의 조절, 그리고 식품제조공업의 발전으로 간장제조는 규모면에 있어서도 공업적 규모가 증대되어 황국균계통의 *Aspergillus oryzae*를 이용하여 대량생산되고 있다.²⁾

간장은 우리나라에서 모든 부식의 근간으로, 예전에는 각 가정에서 제조하였으나 최근들어 생활환경의 급속한 변화로 인하여 산업적으로 생산된 개량식 양조간장의 비중이 증가하고 있는 추세이다. 따라서 간장에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 황국균의 돌연변이에 대한 연구,³⁾ 고온에서의 간장 제조법에 대한 연구,⁴⁾ 효소에 대한 연구⁵⁾ 등이 발표되었다. 또한 소비자의 기호에 따라 저염 간장의 제조,⁶⁾ DHA 함유 간장의 제조,⁷⁾ 키토산간장의 제조법⁸⁾ 등도 보고되고 있다. 한편 *Monascus* sp.는 홍국균으로서 황적색 색소를 생산하며,^{9,10)} cholesterol을 감소시키는 물질을 비롯하여 다양한 생리활성물질을 분비한다고 보고되어 있다.¹¹⁾ 본 연구에서는 식문화와 기호도의 다변화에 따른 시대적 부응으로 간장의 다양화를 위하여 홍국균인 *Monascus* sp.와 우수한 향기 성분을 생산하는 효모를 분리하여 간장을 제조한 뒤 성분을 분석하였다.

재료 및 방법

실험재료

코오지 제조용의 탈지대두는 동서사료에서 구입하여 130%의 정수를 첨가한 다음 1.5~2.0 kg/cm² 압력 하에서 30분간 증자하였고, 소맥은 재래식 시장에서 구입하여 코오지 제조를 위한 전처리 과정으로 볶은 후 마쇄하여 미리 증

자한 탈지대두와 혼합하여 코오지 제조에 이용하였다.

간장제조 배합비 및 제조방법

간장제조 방법은 간장제조 공장에서 사용하는 개량식 간장제조법을 이용하였으며,²⁾ 코오지 제조에 사용된 담금원료의 배합 비율¹²⁾은 이하와 같다. 즉, 탈지대두와 소맥을 1:1로 배합하고, 24% 염수를 코오지 양의 1.8배 되도록 첨가하였으며, 중국은 *Monascus* sp. 5개 균주와 *Aspergillus oryzae* 3개 균주를 각각 보리 코오지(보리 100g+정수130%)에 전배양하여 코오지 양에 대해 1%(W/V) 접종하였다.

곰팡이의 분리 및 선정

실험에 사용한 *Monascus anka* (IFO 4471), *Monascus purpureus* (IFO 4513), *Monascus purpureus* (T-1), *Monascus fuliginosus* (IFO 4483) 및 *Monascus vitreus* (IFO 4532)는 제일제당에서 분양받았고, *Aspergillus oryzae*는 *Aspergillus oryzae* 종균을 희석, 도말한 다음 streak plate 방법으로 3개의 균주를 분리한 다음 *Aspergillus oryzae* 1, *Aspergillus oryzae* 2, *Aspergillus oryzae* 3이라고 명명하고, 상기 8개 균주를 간장 제조용 곰팡이 균주로 이용하였다. 분리배지로써 *Monascus* sp.의 경우에는 YMA 배지 (Yeast extract 0.4%, Malt extract 1%, Glucose 0.4%, Tapioka 3%, Agar 2%, pH 7.3)을 이용하였고, *Aspergillus oryzae* sp.의 경우에는 PDA배지 (Diced potatoes 30%, Glucose 2%, Agar 1.5%, pH 7.0)를 이용하였다.

효모의 분리 및 첨가

제국을 Lodder¹³⁾ 액체배지(KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05%, Glucose 5%, CaCl₂·2H₂O 0.01%, Yeast extract 1.5%, NaCl 24%, pH 5.0)에 전배양한 후 희석 도말하여 30°C에서 3일간 배양하여 10주의 효모를 분리하였다. 분리된 10주의 효모들을 18%, 20%, 24% 식염함유 ME배지¹³⁾ (Maltose 2%, Glucose 2%, Bacto-peptone 0.1%, Agar 2%, NaCl 24%)에 접종하여 잘 생육하는 1주만을 선정하여 간장제조에 이용하였다.

효모의 증식 및 배양을 위하여 Soy sauce broth (Glucose 12.5%, Yeast extract 1.25%, Bacto beef 1.25%,

찾는말 : 간장, *Monascus* sp., 색소

*연락처자

KH₂PO₄, 1.25%, soy sauce 40 ml)에 전배양 한 후 Soy sauce B broth¹²⁾ (NaCl 0.5%, Glucose 0.5%, H₂O 70 ml, Raw soy sauce 30 ml)에 30°C에서 배양하였다. 효모 접종량은 담금 20일 경과 후 각 간장덧에 1.5%씩 접종하였다.

간장덧의 관리 방법

담금한 간장덧은 상온에서 6개월간 숙성시켰다. 교반을 위해 각 발효상자마다 교반 spoon을 설치하였으며 교반은 5개월까지는 매일 2회씩 정기적으로 교반하였고, 5개월 이후에는 매일 1회만 교반하였다.

성분 분석

6개월간 숙성시킨 간장덧을 삼베천으로 압착하여 고형분을 제거한 후, 압착액을 3,000×g로 원심분리하여 상등액을 모은 다음 분석시료로 이용하였다. 수분은 상압가열건조법으로, 단백질은 Kjeldahl분해법으로, 지방 및 당질은 Soxhlet추출법과 Somogy Nelson법으로 하였으며, pH 및 당도는 pH meter (Fisher Accmet 830)과 hand refractometer (ATAGO)를 이용하여 측정하였다.¹⁴⁾

색소 측정

각 균주에 대해 배양기간별로 색소생산을 측정하였다. 30 ml YMA-broth에 각 균주를 접종 후 3, 6, 9일별로 30°C에서 180 rpm으로 배양하였다. 배양한 배양액은 2배의 60% ethanol을 가하여 30°C에서 3~4시간 진탕시켜 색소를 추출하였다. 색소가 추출된 배양액은 Millipore filter (0.45 µm)로 여과하여 균체를 제거하고 여과액만 모았다. 여과액에 에탄올을 가하여 1시간 동안 색소를 추출한 후, 3,000×g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 분리한 후 Spectrophotometer(Shimadzu)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 색도측정은 적색색소 최대 흡수파장인 500 nm와 황색색소 최대 흡수파장인 400 nm에서 각각 O.D.값을 측정하였다.^{9,10)}

결과 및 고찰

성분 분석

Monascus sp.를 이용한 간장 제조 가능성을 조사하기 위하여, 간장제조 종국에서 분리한 3종류의 *Aspergillus* sp.를 대조군으로 하고 5종류의 *Monascus* sp.로 간장을 제조하여 6개월간 숙성한 후 고형분을 제거하고 성분분석을 시행하였다(Table 1). 상압가열건조법으로 측정된 수분의 경우, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 평균 71.79%이었으며 *Monascus* sp.로 제조한 경우에서는 평균 71.57%로 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 식품성분표¹⁵⁾에 나타난 71.70%와 비슷하였다. 간장의 영양성분과 밀접한 관계가 있는 단백질의 경우, 편차가 비교적 크게 관찰되었으나 비슷한 양상을 보였는데, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 (이하의 수치는 100 g의 간장에 대한 것임) 6.06~7.79 g, *Monascus* sp.로 제조한 간장에서도 6.06~7.79 g으로 측정되었다. 이 수치는 참고문헌^{11,15,16)}에서 보고된 4.3~8.9 g의 범위에 들어가며, 이로써 본 연구에서 제조한 간장의 제조방법이 잘못되지 않음을 확인할 수 있었다.

지방의 경우, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 평균 0.82 g이었으며 *Monascus* sp.로 제조한 경우 0.61 g으로 전체적으로는 대조군보다 낮았으나 *Monascus purpureus*로 제조한 경우에는 0.97 g으로 높게 나타났다. 식품성분표에서는 0.4~0.6 g으로 보고되어 있어, 본 연구의 간장에서는 전체적으로 이보다 높게 관찰되었다. 당질의 경우, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 평균 2.68 g이었으며 *Monascus* sp.로 제조한 경우에는 2.50 g으로 낮게 관찰되었다. 식품성분표에는 2.2 g으로 보고되어 있다. 섬유질의 경우에는 어느 쪽에서도 관찰되지 않았다. 비중은 1.13으로 모두 동일하였다. pH는 일반적으로 4.0~5.5 사이라고 보고되어 있으나, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 평균 4.97이었으며 *Monascus* sp.로 제조한 경우에는 4.76으로 낮게 관찰되었다. 당도의 경우, *Aspergillus* sp.로 제조한 간장에서는 평균 30.0 Brix이었으며 *Monascus* sp.로 제조한 경우에는 29.4로 비슷하게 관찰되었다.

이상의 결과에서, *Monascus* sp.로 제조한 간장의 성분은 일반적으로 이용되는 *Aspergillus* sp.를 이용하여 제조한 간장과 비교하였을 때, 큰 차이를 보이지 않아 간장의 제조에 이용될 수 있음을 알 수 있었다.

Table 1. Chemical characteristics of several soy sauces.

Soy sauce	per 100 g soy sauce						S.G. (g/ml) ¹⁾	pH	Brix
	Moisture (%)	Protein (g)	Fat (g)	Carbohydrate					
				Sugar (g)	Fiber (g)				
M1 ²⁾	70.48	6.06	0.70	2.20	0	1.13	4.80	26.6	
M2	71.50	6.92	0.35	2.94	0	1.13	4.75	31.2	
M3	71.58	6.92	0.97	2.26	0	1.13	4.75	28.0	
M4	71.62	7.79	0.70	2.43	0	1.13	4.70	31.0	
M5	72.68	6.92	0.35	2.66	0	1.13	4.80	30.0	
A1	71.62	6.06	0.88	2.09	0	1.13	5.20	29.0	
A2	71.45	7.79	0.88	3.00	0	1.13	4.85	30.0	
A3	72.30	7.79	0.70	2.94	0	1.13	4.85	31.0	

¹⁾Specific gravity; ²⁾M1, *Monascus anka*; M2, *Monascus purpureus* IFO-4513; M3, *Monascus purpureus* T-1; M4, *Monascus fuliginosus*; M5, *Monascus vitreus*; A1, *Aspergillus oryzae* 1; A2, *Aspergillus oryzae* 2; A3, *Aspergillus oryzae* 3.

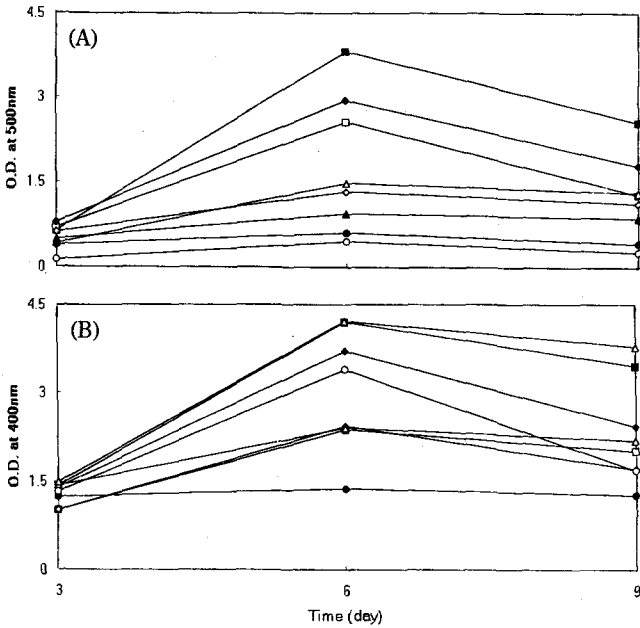


Fig. 1. Chromaticity of the culture supernatant. (A) O.D. assay at red color zone (500 nm), (B) O.D. assay at yellow color zone (400 nm). ■—■, *Monascus anka*; □—□, *Monascus purpureus* IFO-4513; ◆—◆, *Monascus purpureus* T-1; ◇—◇, *Monascus fuliginosus*; ▲—▲, *Monascus vitreus*; △—△, *Aspergillus oryzae* 1; ●—●, *Aspergillus oryzae* 2; ○—○, *Aspergillus oryzae* 3.

색소생성능

간장의 색소 생성은 대두 단백질의 분해 중 용출된 질소 성분과 소맥에서 유래된 당의 마이알 반응에 의하여 생성된다. 일반적인 간장은 암갈색을 띠고 있으나, 이로 인하여 많은 식품에서 소금이 간장보다 선호되어 이용되고 있다. *Monascus* sp.는 황적색 색소를 분비한다고 보고되어 있으며,^{9,10} 상기의 성분분석 결과에서 *Monascus* sp.를 간장제조에 이용하였을 때 기존의 *Aspergillus* sp.와 비교하여 뚜렷한 차이가 보이지 않으므로 *Monascus* sp.를 간장 제조에 이용하여 암갈색의 색소가 적으며, 이를 응용하여 황적색소를 함유한 다양한 빛깔의 간장을 제조할 수 있다면 간장의 이용 확대에 기여할 수 있으리라 판단된다. 이를 위하여 간장 제조에 이용한 균주들의 색소 생성능을 조사하였다.

각 균주를 YMA-broth에서 배양한 후, 색소를 추출하여 적색색소와 황색색소를 Spectrophotometer로 측정하였다 (Fig. 1). 황색, 적색 모두 색도가 가장 높은 것은 *Monascus anka*였으며 *Monascus purpureus*(T-1) 또한 높은 색소 생성능을 보였으며, 이는 김 등의 보고^{9,10}와 일치하였다. 일반적으로 간장의 숙성에는 국균과 효모에서 생성된

protease, amylase, nuclease 등의 여러 효소가 관여한다. 본 연구의 결과로부터 *Monascus* sp.에 의해 제조된 간장도 기존의 *Aspergillus* sp.에 의한 간장과 성분 차이가 거의 없었으며, 황적색 색소가 보다 많이 생성됨을 알 수 있었다. 또한 *Monascus* sp.는 *Aspergillus* sp.에 비하여 다양한 생리 활성물질을 분비한다고 보고되어 있어 향후 기능성 간장의 제조 가능성을 시사한다.

참고 문헌

1. 조재선 (1989) 한국의 발효식품 연구동향에 관한 조사분석. 한국음식문화연구원논문집 제2집 p. 81-140.
2. 정건섭 (1995) 장류산업의 현황과 연구개발방향. 생물과 산업 8, 13-16.
3. Furuya, T., K. Noguchi and K. Uchida (1985) Derivation of mutants with low α-amylase activity from *Aspergillus oryzae*. *Nippon Ngeikagaku Kaishi*, 59, 605-611.
4. 류병호, 조경자, 채영주, 박춘옥 (1993) 간장의 숙성제조를 위한 간장국의 고온분해. 한국영양식량학회지 22, 215-221.
5. 이승철, 우강룡, 황용일 (1996) 간장의 숙성발효를 위한 코오지곰팡이의 탐색과 효소의 이용. 미생물과 산업 22, 316-321.
6. 久壽米木一裕 (1994) 底食鹽醬油の製造法. 日本特許公報 平6-22459.
7. 矢澤一良, 近藤聖, 兒島孝行 (1994) ドコサヘキエン酸を含む醬油. 日本特許公報 平6-70711.
8. 安東二郎, 福本竹雄 (1994) キトサン醬油の製造法. 日本特許公報 平6-265160.
9. 김현수, 김두현, 양호석, 변유량, 유주현 (1979) 액침진탕 배양에 의한 *Monascus* sp.가 생산하는 적색색소에 관한 연구. 한국산업미생물학회지 7, 23-30
10. 김현수, 장 옥, 손충홍, 배종찬, 유주현 (1981) *Monascus* sp. CS-2가 생산하는 황색 색소에 관한 연구. 한국산업미생물학회지 9, 117-121
11. Endo, A. (1979) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *J. Antibiot.* 32(8), 852-854.
12. 이택수, 이석건, 주영하, 신보규 (1971) 간장발효에 관여하는 효모에 관한 연구. 한국농화학회지 14, 121-129.
13. Lodder, N. J. W. and Kregervan, R. (1967) 'The yeast, a taxonomic study,' North Holland Publishing Co.
14. AACC (1983) Approved methods of the american association of cereal chemists, 8th ed., American Association of Cereal Chemists, Inc. Minnesota, USA.
15. 농촌진흥청 (1986) '식품성분표' 상록사 p. 84-85.
16. 김재욱 (1990) '신제 농산식품가공' 문운당 p. 258.

Production of Soy Sauce with *Monascus* sp.

Seung-Cheol Lee, Su-Kyoung Kim, Suk-Gi Lee and Yong-Ill Hwang* (Department of Food Engineering, College of Engineering, Kyungnam University., Masan, 631-701 Korea)

Key words : soy sauce, *Monascus* sp., pigment

*Corresponding author