

# 글루탐산 생산을 위한 *Lactococcus lactis* HY7803 균주의 대두 발효 적용

이정민<sup>1</sup>, 허소정<sup>1</sup>, 최지훈<sup>2</sup>, 표은지<sup>2</sup>, 이명희<sup>2</sup>, 신상익<sup>2</sup>, 이재환<sup>2</sup>, 이정열<sup>2</sup>, 정도원<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>동덕여자대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>(주)hy 중앙연구소

Received: January 18, 2023 / Revised: February 14, 2023 / Accepted: February 15, 2023

## Application of *Lactococcus lactis* HY7803 into Soybean Fermentation for Production of Glutamic Acid

Jungmin Lee<sup>1</sup>, Sojeong Heo<sup>1</sup>, Jihoon Choi<sup>2</sup>, Eunji Pyo<sup>2</sup>, Myounghee Lee<sup>2</sup>, Sangick Shin<sup>2</sup>, Jaehwan Lee<sup>2</sup>, Junglyoul Lee<sup>2</sup>, and Do-Won Jeong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Republic of Korea

<sup>2</sup>R&BD Center, Korea Yakult Co., Ltd., Yongin 17086, Republic of Korea

The glutamic acid producing strain for development savory taste enhancing foods was identified the possibility through application into soybean fermentation. To check the effects on glutamic acid production during soybean fermentation, *Lactococcus lactis* HY7803 was introduced as a starter. The soybean samples were analyzed on days 0, 7, 14 and 21. The numbers of bacteria decreased gradually, while the content of amino-type nitrogen increased during fermentation in the soybean with *L. lactis* HY7803. Glutamic acid content in soybeans with *L. lactis* HY7803 increased from  $114.99 \pm 9.37$  pmol/ul on day 0 to  $138.14 \pm 1.76$  pmol/ul on day 21, showing an overall higher amino acid content than soybeans without *L. lactis* HY7803 and similar content to soybeans with *Aspergillus oryzae* SNU-G. It was clearly distinguished through principal component analysis. Consequently, our results indicate that *L. lactis* HY7803 is available as a fungus replacement and may be a good starter strain for enhancing savory taste in vitro as well as soybean fermentation.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, *Lactococcus lactis*, soybean fermentation, glutamic acid

## 서론

식품의 맛은 단맛, 쓴맛, 신맛, 짠맛, 감칠맛으로 분류되며 이를 식품의 오미(五味)라 한다. 오미 중 단맛, 쓴맛, 신맛, 짠맛과는 구분되는 독특한 맛을 우마미(umami; 감칠맛)라고 한다[1–4]. 감칠맛의 주된 성분은 이노신산염(inosine monophosphate; IMP), 구아닐산염(guanosine monophosphate; GMP)과 같은 핵산 계열과 아미노산 계열인 글루탐산염(monosodium glutamate; MSG)으로 밝혀졌다[5, 6]. 정제된 MSG를 사용하면 국내 조미료 시장은 핵산계 물질을 첨가한 복합적인 화학조미료로 변화하였고, 이후 효모 엑기스, 동식

물 엑기스 등의 천연 조미료로 변화했다[7]. 그러나 천연 조미료는 화학 조미료에 비해 맛의 깊이나 농후감, 지속성이 부족하였고, 이를 보완하기 위해서 효소처리 공정 또는 발효 공정을 통한 발효 조미료를 개발하고 있다[7].

메주는 대두(*Glycine max* (L.) Merrill)를 삶아 성형하여 2달간 자연발효를 통해 제조했으며, 발효된 메주를 소금물에 침지시켜 2–3달간 발효시킨 후 얻어진 고형분은 된장, 액체성분은 간장이다. 메주, 된장, 간장 모두 오랜 기간동안 소비되고 있는 천연 발효 조미료이다. 대두의 단백질 함량은 약 32–42%이다[8–10]. 대두 단백질의 주요 구성 성분 중 하나인 글라이시닌은 대두 단백질 중 약 35%를 차지하는데, 이 중 글루탐산은 약 22%로 가장 높은 함량을 차지하고 있다[11, 12]. 대두 단백질은 발효과정에서 미생물 분비 효소에 의해 생화학 반응을 거쳐 단백질, 지질, 탄수화물과 같은 거

### \*Corresponding author

Phone: +82-2-940-4463, Fax: +82-2-940-4610

E-mail: jeongdw@dongduk.ac.kr

대분자가 펩타이드, 아미노산, 지방산, 당류 등으로 분해되어 영양학적 및 기능적 특성이 향상된다[13]. 특히, 감칠맛 성분인 글루탐산 함량은 발효하지 않은 대두보다 발효시킨 대두에서 증가하는 것으로 보아 발효 대두는 천연 조미료로써 또는 발효공정을 통해 생산하는 발효 조미료의 원료로써 적합함을 알 수 있다[14, 15]. 본 실험실은 이전 연구에서 비교 유전체 분석을 통해 글루탐산 생성에 적합한 유산균 종(species)으로 *Lactococcus lactis*임을 도출하였고, 보유하고 있던 균주로부터 글루탐산 생성능이 우수한 균주를 선별하였다[16]. 이에, 본 연구에서는 이전 실험을 통해 선별된 *L. lactis* HY7803 균주를 대두 발효에 적용하여 감칠맛 성분인 글루탐산 생성에 미치는 영향을 분석하여 조미료 생산을 위한 균주로서 이용 가능성을 확인해보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배양

MRS (Difco, USA) 액체배지에 전 배양 한 *L. lactis* HY7803를 새로운 MRS 액체배지에 30°C, 24시간 동안 본 배양 진행하였다. 양성대조균으로 *Aspergillus oryzae* SNU-G를 이용하였으며, PDA(Difco) 배지에 25°C, 72시간 배양한 후 0.1% tween80 용액으로 회수한 포자를 대두 발효에 적용하였다. 음성대조균은 균을 접종하지 않은 무첨가균으로 하였다.

### 대두발효물 제조

대두발효물 제조에는 대두(*Glycine max* (L.) Merrill), 천일염, 증류수를 사용하였다. Starter culture로는 대두에 종균을 접종한 대두 발효제를 사용하였다. 대두는 증류수와 1:1(w/w) 비율로 실온에서 24시간 동안 침지시킨 후 오토클레이브를 이용하여 121°C, 15분 증자하고 40°C 이하로 방냉하였다. 배양한 *L. lactis* HY7803을 증자대두에  $10^7$  CFU/g으로 접종하고 25°C, 48시간 반응시켜 유산균 발효제를 제조하였다. *A. oryzae* SNU-G는 증자대두에  $10^4$  spore/g으로 접종하고 25°C, 72시간 반응시켜 곰팡이 발효제를 제조하였다. 이후 새로운 증자대두에 발효제와 천일염을 넣고 완전히 섞어 대두발효물을 제조하였으며, 최종 염 농도는 된장이나 저염간장의 평균 염농도인 12%로 맞추었다. 음성대조균으로는 증자대두에 균을 접종하지 않고 25°C, 48시간 반응시킨 대두를 이용하였다. 발효제를 접종시킨 대두발효물은 25°C 조건의 배양기에서 발효시켰으며, 제조일로부터 0, 7, 14, 21일에 샘플링하여 생균수, 아미노태질소, pH, 산도, 아미노산 분석을 진행하였다.

### 생균수 측정

대두발효물에 무게 대비 4배의 0.1% peptone water를 혼

합하여 균질화하고 멸균한 거즈로 여과하였다. 여과액을 100 ×g, 5분 원심분리하여 얻은 상층액을 생균수 측정에 이용하였다. 상층액을 멸균수로 10배씩 연속희석하여 PCA(Difco) 배지에 도말한 후 집락수를 계수하였다.

### 아미노태 질소 측정

아미노태 질소는 Formol 적정법을 토대로 일부 변형하여 측정하였다[17]. 시료 5 g에 멸균수 95 ml를 첨가하여 균질화하고 No.2 여과지(Whatman, UK)로 여과하였다. 여과액 25 ml에 1% 페놀프탈레인 지시약을 2-3방울 가한 후 0.1 N NaOH로 미홍색이 될 때까지 적정하여 A 용액으로 하였다. 증성 formalin 용액에 1% 페놀프탈레인 지시약을 2-3방울 가하고 0.1 N NaOH로 미홍색이 될 때까지 적정하여 B 용액으로 하였다. A 용액과 B 용액을 25 ml씩 취하여 혼합한 후 0.1 N NaOH로 미홍색이 될 때까지 적정한 적정량으로 아미노태질소 함량을 산출하였다.

### HPLC를 이용한 글루탐산 및 아미노산 분석 조건

대두발효물에 동량의 멸균수를 혼합하여 균질화하고 멸균한 거즈로 여과하였다. 고성능 액체 크로마토그래피(High performance liquid chromatography, HPLC) 분석을 위해 0.2 μm syringe filter(Whatman)를 이용하여 한 차례 더 여과하였다. 여과된 시료는 AccQ-Fluor Reagent Kit (Waters corp., USA)를 이용하여 해당 매뉴얼에 따라 유도체화 진행하였다. 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC)로 형광 유도체화 시킨 샘플 10 μl을 autosampler (JASCO, Japan)를 이용하여 컬럼에 주입하여 글루탐산을 포함한 아미노산을 정량하였다. 아미노산의 함량은 Amino Acid Standard (Waters corp.)를 5개의 농도로 측정된 아미노산 검량선을 통해 계산되었다.

HPLC 분석은 JASCO HPLC system (JASCO)을 이용하였으며, Photodiode Array (PDA) detector로 254 nm에서 측정되었다. 컬럼은 37°C 조건에서 AccQ-Tag reversed-phase column (4 μm, 150 × 3.9 mm, Waters)을 사용하였다. HPLC 분석을 위해 두 가지 용매(이동상 A, Waters 10% AccQ-Tag Eluent A, Concentrate; 이동상 B, 60% acetonitrile)를 사용하였으며 용매의 유속은 1 ml/min이었다. Gradient elution은 용매 A 100%로 시작하여 9분 흘려준 뒤에 34분동안 0:100(v/v) 용매 A:용매 B까지 증가하여, 다음 4분동안 100:0(v/v)로 감소한다.

### 통계분석

실험을 통해 얻어진 평균값 사이의 유의성 검증에는 일원 분산 분석(One-way analysis of variance)을 이용하였다. Duncan's multiple range test를 수행하여 다중 비교하였으

며  $p < 0.05$ 일 때 유의적으로 다르다고 정의하였다. 실험 결과를 시각화하기 위해 주성분 분석(Principal component analysis, PCA)을 진행하였다. 모든 통계적 분석은 SPSS software package (version 22.0; SPSS, USA)를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 발효 기간 중 생균수 변화

글루탐산 생산을 위해 첨가한 *L. lactis* HY7803 균주의 생균수 변화를 확인하기 위해 발효기간동안 측정하였다. 발효가 진행되는 동안 *L. lactis* 발효제를 첨가한 발효대두물에서의 생균수는 0일차  $2.0 \times 10^8$  CFU/g에서 21일차에는  $1.9 \times 10^5$  CFU/g으로 점차 감소하였다(Table 1). 이와 달리 균주를 첨가하지 않은 음성 대조군과 *A. oryzae*를 첨가한 군에서는 세균이 검출되지 않았다. 이는 대두 발효를 위해 준비한 콩의 살균 조건은 원료에서 유래하는 균이 자라지 않는 조건으로 적합함을 알 수 있다.

균수의 감소는 고염(12% NaCl(w/v)) 조건으로 인한 영향으로 판단되었다. 12%의 염농도는 된장 및 저염간장 평균 농도로 시즈닝으로써는 염을 포함하는 글루탐산이 효과적인 것으로 판단하여 해당 농도로 설정하였다. 또한 *L. lactis* HY7803 균주가 염내성 균주가 아니므로 해당 조건에서 균수가 감소할 것으로 예상하였다. 다만, 발효제를 준비하는 과정에서 *L. lactis* HY7803가 생산한 효소가 글루탐산을 생산하는데 영향을 미칠 것으로 추정하였다.

**Table 1. Viable cell count, amino-type nitrogen, pH, and titratable acidity change during soybean fermentation.**

Sample	Day	Viable cell count (log CFU/g)	Amino-type nitrogen (mg%)
Control	0	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND
<i>L. lactis</i> HY7803	0	8.29 ± 0.09	2.80 ± 0.00
	7	7.15 ± 0.06	2.80 ± 0.00
	14	6.18 ± 0.06	2.80 ± 0.00
	21	5.26 ± 0.11	3.74 ± 1.45
<i>A. oryzae</i> SNU-G	0	ND	ND
	7	ND	3.74 ± 1.45
	14	ND	6.54 ± 1.45
	21	ND	6.07 ± 1.14

ND, non-detection.

### 발효 기간 중 아미노태질소 변화

아미노태질소의 함량은 대두의 단백질이 protease에 의해 아미노산의 형태로 분해되는 정도를 나타내는 것으로, 장류 발효식품의 숙성도 및 구수한 맛의 지표로 사용되고 있다[18]. 발효제를 첨가하지 않은 대조군에서 아미노태질소 함량은 측정되지 않았으나 *L. lactis* 및 *A. oryzae* 발효제 첨가군에서는 발효가 진행됨에 따라 증가하였다(Table 1). *L. lactis* 발효제 첨가군은 0일차 2.80 mg%에서 21일차 3.74 mg%로 증가하였고, *A. oryzae* 발효제 첨가군은 0일차 3.74 mg%에서 21일차 6.07 mg%로 증가하였다(Table 1). 발효 중 아미노태질소는 단백질 분해효소에 의해서 생성되는 질소화합물의 농도로 *A. oryzae* 발효제 첨가군에서 단백질 분해능이 *L. lactis* 발효제 첨가군에 비해 높음을 유추할 수 있다.

### 대두발효물의 글루탐산 및 아미노산 생성량 분석

대두 발효에 적용한 *L. lactis* HY7803의 아미노산 생성 및 글루탐산 생성능을 정량적으로 평가하기 위해서 HPLC를 이용한 아미노산 분석을 진행하였다(Table 2).

*L. lactis* HY7803 첨가 발효대두물의 아미노산은 대조군에 비해 전반적으로 높았다(Table 2). 본 실험에서 분석된 14개의 아미노산 중 글루탐산을 포함하여 12개의 아미노산 함량이 대조군에 비해 높았다. 또한 분석된 14개의 유리 아미노산 함량 중 아르기닌을 제외한 13개의 아미노산은 발효 기간에 따라 그 함량이 증가하였다. *A. oryzae* 발효제 첨가군과 비교시 7일차 까지 *L. lactis* HY7803 발효제 첨가군이 낮은 아미노산 함량을 보이거나 발효가 진행됨에 따라 *A. oryzae* 발효제 첨가군과 유사한 패턴을 보였다.

감칠맛에 관여하는 주요 성분인 글루탐산의 함량은 발효제를 첨가하지 않은 대두발효물의 경우 0일차  $65.06 \pm 0.45$  pmol/ul에서 21일차  $73.49 \pm 7.34$  pmol/ul로 함량이 증가하였다. 이에 비해 *L. lactis* HY7803 발효제 첨가군의 경우 0일차  $114.99 \pm 9.37$  pmol/ul에서 21일차  $138.14 \pm 1.76$  pmol/ul로 증가한 것을 확인하였다. *A. oryzae* 발효제 첨가군의 경우 0일차  $114.10 \pm 7.90$  pmol/ul에서 21일차  $135.54 \pm 2.75$  pmol/ul로 증가하였다. *L. lactis* HY7803 발효제 첨가군의 경우 글루탐산 함량은 발효기간에 관계없이 대조군보다 높았으며, *A. oryzae* 발효제 첨가군과는 비슷한 수준으로 측정되었다. 또한 0일차와 21일차 샘플 사이의 증가량이 가장 컸다. 균을 접종하지 않은 대조군에서도 발효기간에 따라 아미노산 조성의 변화가 나타났으나, 이는 증자 및 수분의 영향으로 인해 대두 자체적으로 성분 변화가 일어난 것으로 예측된다.

아스파르트산도 감칠맛에 영향을 미치는 아미노산으로 알려져 있으나, 본 실험에서는 *L. lactis* HY7803 발효제 첨가군보다 대조군에서 더 높게 측정되었다. 이는 전장 유전체가

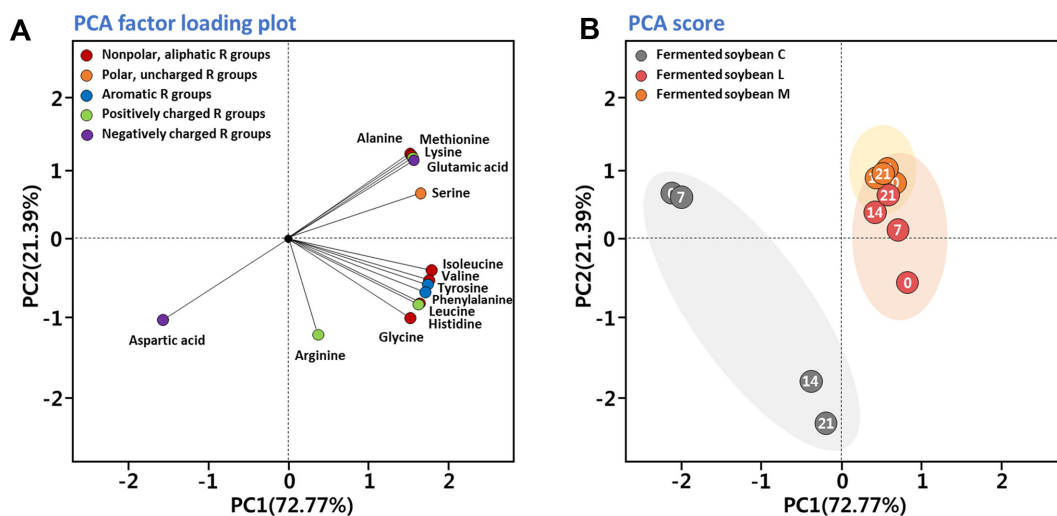
**Table 2. Free amino acids produced during soybean fermentation by *L. lactis* HY7803.**

Amino acids	Control				<i>L. lactis</i> HY7803				<i>A. oryzae</i> SNU-G			
	Day0	Day7	Day14	Day21	Day0	Day7	Day14	Day21	Day0	Day7	Day14	Day21
Nonpolar, aliphatic R groups												
Alanine	55.06 <sup>a</sup>	59.43 <sup>a</sup>	60.72 <sup>a</sup>	61.64 <sup>a</sup>	91.61 <sup>b</sup>	91.75 <sup>b</sup>	101.19 <sup>bc</sup>	108.51 <sup>c</sup>	98.62 <sup>bc</sup>	103.64 <sup>bc</sup>	103.49 <sup>bc</sup>	105.71 <sup>bc</sup>
Glycine	11.53 <sup>a</sup>	13.04 <sup>ab</sup>	15.79 <sup>bc</sup>	15.12 <sup>ab</sup>	16.02 <sup>bc</sup>	19.19 <sup>cd</sup>	19.68 <sup>cd</sup>	19.34 <sup>cd</sup>	21.62 <sup>d</sup>	21.18 <sup>d</sup>	21.61 <sup>d</sup>	22.49 <sup>d</sup>
Isoleucine	2.31 <sup>a</sup>	2.52 <sup>a</sup>	7.79 <sup>cd</sup>	8.78 <sup>d</sup>	5.85 <sup>bc</sup>	5.24 <sup>b</sup>	12.08 <sup>e</sup>	12.84 <sup>e</sup>	6.82 <sup>bcd</sup>	8.05 <sup>cd</sup>	12.90 <sup>e</sup>	13.02 <sup>e</sup>
Leucine	2.01 <sup>a</sup>	3.41 <sup>a</sup>	7.69 <sup>b</sup>	8.98 <sup>b</sup>	8.91 <sup>b</sup>	9.02 <sup>b</sup>	13.99 <sup>cd</sup>	16.89 <sup>de</sup>	12.57 <sup>c</sup>	15.26 <sup>cde</sup>	16.87 <sup>de</sup>	18.34 <sup>e</sup>
Methionine	6.08 <sup>b</sup>	6.17 <sup>b</sup>	5.24 <sup>a</sup>	5.53 <sup>ab</sup>	7.60 <sup>c</sup>	7.64 <sup>c</sup>	7.20 <sup>c</sup>	7.63 <sup>c</sup>	8.89 <sup>d</sup>	9.08 <sup>d</sup>	9.11 <sup>d</sup>	9.01 <sup>d</sup>
Valine	7.19 <sup>a</sup>	8.74 <sup>a</sup>	12.39 <sup>b</sup>	14.85 <sup>cd</sup>	12.17 <sup>b</sup>	12.37 <sup>b</sup>	15.44 <sup>cd</sup>	20.49 <sup>e</sup>	13.73 <sup>bc</sup>	15.94 <sup>cd</sup>	17.09 <sup>d</sup>	21.30 <sup>e</sup>
Polar, uncharged R groups												
Serine	69.71 <sup>a</sup>	69.14 <sup>a</sup>	68.24 <sup>a</sup>	77.45 <sup>ab</sup>	79.26 <sup>bc</sup>	79.52 <sup>bcd</sup>	77.53 <sup>ab</sup>	85.19 <sup>bcd</sup>	86.88 <sup>bcd</sup>	87.10 <sup>cd</sup>	88.95 <sup>d</sup>	87.78 <sup>cd</sup>
Aromatic R groups												
Phenylalanine	5.55 <sup>a</sup>	5.81 <sup>a</sup>	9.76 <sup>b</sup>	10.94 <sup>bc</sup>	11.13 <sup>bc</sup>	11.32 <sup>bc</sup>	12.99 <sup>c</sup>	13.12 <sup>c</sup>	12.23 <sup>c</sup>	15.86 <sup>d</sup>	16.28 <sup>de</sup>	18.35 <sup>e</sup>
Tyrosine	5.26 <sup>a</sup>	5.42 <sup>a</sup>	9.15 <sup>cd</sup>	10.22 <sup>de</sup>	8.17 <sup>bc</sup>	7.13 <sup>b</sup>	11.17 <sup>ef</sup>	11.31 <sup>ef</sup>	10.09 <sup>de</sup>	11.40 <sup>ef</sup>	11.62 <sup>ef</sup>	12.76 <sup>f</sup>
Positively charged R groups												
Arginine	213.06 <sup>d</sup>	204.98 <sup>bcd</sup>	208.75 <sup>cd</sup>	188.33 <sup>b</sup>	192.09 <sup>bc</sup>	121.35 <sup>a</sup>	121.35 <sup>a</sup>	121.88 <sup>a</sup>	212.73 <sup>d</sup>	210.89 <sup>d</sup>	197.98 <sup>bcd</sup>	196.76 <sup>bcd</sup>
Histidine	14.01 <sup>a</sup>	13.37 <sup>a</sup>	16.10 <sup>b</sup>	17.58 <sup>bc</sup>	16.96 <sup>b</sup>	17.27 <sup>bc</sup>	19.47 <sup>cd</sup>	20.73 <sup>de</sup>	19.29 <sup>cd</sup>	22.26 <sup>e</sup>	22.15 <sup>e</sup>	22.74 <sup>e</sup>
Lysine	6.26 <sup>a</sup>	6.73 <sup>ab</sup>	9.97 <sup>bc</sup>	12.71 <sup>cd</sup>	14.14 <sup>de</sup>	15.81 <sup>de</sup>	19.57 <sup>fg</sup>	21.42 <sup>gh</sup>	16.33 <sup>ef</sup>	17.55 <sup>ef</sup>	22.01 <sup>gh</sup>	23.72 <sup>h</sup>
Negatively charged R groups												
Aspartic acid	31.09 <sup>e</sup>	31.11 <sup>e</sup>	30.03 <sup>e</sup>	31.91 <sup>e</sup>	9.95 <sup>a</sup>	10.29 <sup>a</sup>	13.69 <sup>ab</sup>	15.31 <sup>abc</sup>	18.50 <sup>bcd</sup>	20.13 <sup>cd</sup>	21.30 <sup>d</sup>	21.30 <sup>d</sup>
Glutamic acid	65.06 <sup>a</sup>	68.15 <sup>a</sup>	68.94 <sup>a</sup>	73.49 <sup>a</sup>	114.99 <sup>b</sup>	127.28 <sup>bcd</sup>	126.05 <sup>bcd</sup>	138.14 <sup>d</sup>	114.10 <sup>b</sup>	122.60 <sup>bc</sup>	128.39 <sup>bcd</sup>	135.54 <sup>cd</sup>

Different superscripts within a row denote a significant difference between mean values ( $p < 0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

밝혀져 있는 *L. lactis* IL1403 균주의 유전체를 분석한 결과, phosphoenolpyruvate로부터 oxaloacetate를 통해 아스파르트산으로 전환을 가능하게 하는 *ppc*(phosphoenolpyruvate carboxylase, EC 4.1.1.31) 유전자가 존재하지 않았던 결과와 관련이 있을 것으로 추측된다. 균주 특이적 특성을 파악하기 위해 추후 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

측정한 아미노산 함량을 이용하여 SPSS 통계 프로그램을 통해 PCA 분석을 진행하였다(Fig. 1). PCA factor loading plot에서 아스파르트산은 PC1을 기준으로 양의 방향에 위치하고 있었으며, 글루탐산을 포함한 13개의 아미노산은 음의 방향에 위치하고 있었다(Fig. 1A). PCA score에서는 균을 적용하지 않은 대조군과 발효제를 적용한 발효대두물은 구분



**Fig. 1. Principal component analysis loadings for soybean samples for (A) amino acids identified (represented according to their classifications), and (B) factor scores (numbers in circles indicate fermentation days).**

되어졌다(Fig. 1B). *L. lactis* HY7803 발효제와 *A. oryzae* 발효제 첨가한 발효대두물은 모두 PC1을 기준으로 양의 방향에 위치해 있었으며, 대조군에 비해 아미노산의 함량이 높음을 시각적으로 확인할 수 있었다. 대조군은 발효 0일차에는 PC1을 기준으로 가장 좌측에 위치했다가 발효기간에 따라 점차 아미노산들이 분포하고 있는 우측으로 향하는 것을 볼 수 있었다.

이러한 결과들을 통해서, 우리는 *L. lactis* HY7803의 단백질 분해능 및 글루탐산 생성능을 입증하였다. 균을 접종하지 않은 대조군에 비해 발효가 진행된 것은 분명하며, 글루탐산과 같은 맛 성분의 생성에 기여하였으나, 곰팡이인 *A. oryzae*에 비해 아주 높은 효과를 냈다고 보기는 어려웠다. 하지만 기존에 종균으로 널리 이용되는 *A. oryzae* 만큼의 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다. 발효 식품에 있어서 글루탐산 생산성이 높은 유산균과 곰팡이를 각각 선별하여 함께 적용한다면, 맛 성분 향상에 더 큰 상승작용이 나타날 것으로 기대된다. 추후 연구를 통하여 균주의 개별 특성에 따른 식염농도 및 발효기간 등을 조절하여 실험을 진행한다면 균주의 발효산물과 효과의 차이를 더 뚜렷하게 확인할 수 있을 것으로 예측된다.

발효 대두를 이용한 조미료 생산에 단백질 분해능과 같은 효소활성이 높은 곰팡이와 효모를 사용하는 경우가 우세하나, 본 연구를 통해 유산균인 *L. lactis* HY7803 균주의 활성이 아미노산 생성, 특히 글루탐산에 있어서 *A. oryzae*와 유사한 결과를 보여 발효 조미료 생산에 곰팡이 균주 대체재로써 사용 가능성을 확인하였다.

## 요 약

*Lactococcus lactis* HY7803 균주를 대두 발효에 적용하여 맛 성분을 향상시키는 조미료 제조에 대한 이용 가능성을 확인하고자 대두 발효를 진행하였다. 대두발효물의 이화학적 분석 결과에 따르면, *L. lactis* HY7803 균주를 접종한 대두 발효물은 발효가 진행되면서 아미노태질소 함량, 아미노산 함량이 증가한 반면, 생균수가 감소하였다. 또한 맛성분에 기여하는 아미노산인 글루탐산의 함량을 보면, 발효가 진행됨에 따라  $114.99 \pm 9.37$  pmol/ul에서  $138.14 \pm 1.76$  pmol/ul로 함량이 증가하였고, 글루탐산을 포함한 12개의 아미노산 함량이 음성대조군인 균을 첨가하지 않은 대두발효물에 비해 높았고, *Aspergillus oryzae* SNU-G를 첨가한 대두발효물과 유사한 함량으로 측정되었다. 따라서 본 연구의 결과는 *L. lactis* HY7803가 *A. oryzae* SNU-G의 대체종균으로써 이용 가능하며, 대두 발효를 통해 감칠맛 성분을 생산하는데 기여하는 종균으로써 효과적일 것으로 판단하였다.

## Acknowledgments

This research was supported by the Korea Yakult Co., Ltd.

## Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

## References

- Bellisle F. 1999. Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **23**: 423-438.
- Ikeda K. 2002. New seasonings. *Chem. Senses.* **27**: 847-849.
- Kurihara K. 2015. Umami the fifth basic taste: history of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor. *BioMed Res. Int.* **2015**: 189402.
- Yoshida Y. 1998. Umami taste and traditional seasonings. *Food Rev. Int.* **14**: 213-246.
- Populin T, Moret S, Truant S, Conte LS. 2007. A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate. *Food Chem.* **104**: 1712-1717.
- Stanska K, Krzeski A. 2016. The umami taste: from discovery to clinical use. *Otolaryngol. Pol.* **70**: 10-15.
- Lim BS. 2019. History of fermented condiments industry in Korea. *Food Sci. Ind.* **52**: 68-83.
- Garcia M, Torre M, Marina M, Laborda F, Rodriquez AR. 1997. Composition and characterization of soybean and related products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **37**: 361-391.
- Kwon DY, Oh SW, Lee JS, Yang HJ, Lee SH, Lee JH, et al. 2002. Amino acid substitution of hypocholesterolemic peptide originated from glycinin hydrolyzate. *Food Sci. Biotechnol.* **11**: 55-61.
- Kwon DY, Kim S, Kim HYL, Kim KS. 2003. Changes in physicochemical properties of glycinin due to maleylation. *Food Sci. Biotechnol.* **12**: 122-127.
- Catsimpoilas N, Kenney J, Meyer E, Suzhaj B. 1971. Molecular weight and amino acid composition of glycinin subunits. *J. Sci. Food Agric.* **22**: 448-450.
- Yagasaki K, Takagi T, Sakai M, Kitamura K. 1997. Biochemical characterization of soybean protein consisting of different subunits of glycinin. *J. Agric. Food Chem.* **45**: 656-660.
- Liu L, Chen X, Hao L, Zhang G, Jin Z, Li C, et al. 2020. Traditional fermented soybean products: processing, flavor formation, nutritional and biological activities. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **62**: 1971-1989.
- Frias J, Song YS, Martínez VC, González ME, Vidal VC. 2008. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. *J. Agric. Food Chem.* **56**: 99-105.
- Seo JS, Man EM, Lee TS. 1986. Effect of meju shapes and strains on the chemical composition of soybean paste. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **15**: 1-9.

16. Lee J, Heo S, Choi J, Kim M, Pyo E, Lee M, *et al.* 2021. Selection of *Lactococcus lactis* HY7803 for glutamic acid production based on comparative genomic analysis. *J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 298-303.
17. AOAC. 1990. Official methods of analysis 15th ed. AOAC, Washington, DC.
18. Park JS, Lee MY, Kim JS, Lee TS. 1994. Compositions of nitrogen compound and amino acid in soybean paste (Doenjang) prepared with different microbial sources. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 609-615.