

지역별 옹기에서 발효된 한국 전통간장의 항산화 활성

박선영¹ · 이상기¹ · 박수인¹ · 김인용¹ · 정윤화^{1,2} · 유성률³ · 신삼철⁴ · 김미숙^{1,2}

¹단국대학교 식품영양학과, ²단국대학교 글로벌식품산업연구소

³세명대학교 임상병리학과, ⁴단국대학교 병원

Antioxidant Activity of Korean Traditional Soy Sauce Fermented in Korean Earthenware, *Onggi*, from Different Regions

Sunyoung Park¹, Sangki Lee¹, Suin Park¹, Inyong Kim¹, Yoonhwa Jeong^{1,2},
Sungryul Yu³, Sam Cheol Shin⁴, and Misook Kim^{1,2}

¹Department of Food Science and Nutrition and ²Institute of Global Food Industry, Dankook University

³Department of Clinical Laboratory Science, Semyung University

⁴Dankook University Hospital

ABSTRACT The purpose of this study was to compare color, protease, and antioxidant activities of Korean traditional soy sauce fermented for 120 days in *Onggis* obtained from five regions-Gangjin, Jeju, Ulsan, Yeosu, and Yesan in Korea. The brown color of soy sauce was increased during the fermentation period and was the highest in soy sauce fermented in Yesan. The values of total phenol contents, protease activity, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity activities were also increased during the fermentation period of soy sauce. Soy sauce fermented in Gangjin *Onggi* showed the highest protease activity, total phenol contents, DPPH radical scavenging activity, and FRAP ability. The partial least squares regression analysis indicated that the regional *Onggis* affect the quality of soy sauce with in terms of color, protease activity, and antioxidant activity.

Key words: earthenware, soy sauce, antioxidant activity, color, protease

서 론

간장은 콩을 주원료로 하는 한국의 전통 발효 조미료 중 하나이다. 전통간장은 자연 발효시킨 메주를 소금물에 넣어 침출시킨 액을 분리하여 다시 옹기에서 발효·숙성되면서 다양한 아미노산과 유리당, 유기산이 생성되어 짠맛 이외에도 구수한 맛, 단맛, 신맛을 동시에 가지고 있다(1). 간장의 색은 품질을 결정하는 주요한 인자 중에 하나로 메주를 만들기 위하여 콩을 삶는 동안에 Maillard 반응에 의해 생성된 melanoidin이 소금물에 침지하는 동안 폴리페놀 화합물과 함께 용출되어 형성된다(2-4). 간장의 갈변 반응은 메주를 분리한 후 여액을 달이고 옹기에서 발효하는 동안 더욱 진행되며, 이러한 갈변 물질은 항산화와 높은 상관관계가 있다고 여겨져 색과 항산화 활성에 관련된 연구들이 보고되고 있다(3-7).

간장은 식품의 짠맛을 제공하는 조미료로 이용되고 있으

나 메주를 주원료로 한 다른 발효식품과 함께 항산화, 혈전 용해능, 혈당 강하, 항암효과 등 다양한 건강 기능성을 지닌 식품으로 재조명되고 있다(8-10). Lee 등(11)은 간장 발효에 관여하는 미생물에 의해 단백질이 분해되어 여러 종류의 기능성 peptide, tocopherol, isoflavones 및 phenolic acids 등의 항산화 물질들이 생성되어 간장의 기능성을 높여준다고 보고하였다.

간장의 발효 용기는 간장의 원료나 제조 방식과 함께 간장의 품질을 결정짓는 주요한 인자 중 하나이다. 옹기에서 발효 숙성한 간장은 유리, PP, PET, 스테인리스 옹기에 비해 발효 미생물의 증식이 활발하여 protease 활성이 증가되고, 이에 따라 맛에 관여하는 glutamic acid의 함량을 증가시킨다는 연구 결과가 있다(12). Chung 등(13)은 황토와 분쇄토의 배합비를 달리하여 기공을 조절한 옹기에서 간장을 발효한 결과 색과 향기, 맛에서 차이를 나타내었다고 보고한 바 있다. 옹기는 각 지역의 흙을 이용하여 풍토와 환경에 맞게 고유의 방법으로 제조되어 다양한 형태와 크기, 기공 등 독특한 특징을 가지고 있다. 그러므로 본 연구에서는 우리나라의 다섯 지역(강진, 제주, 울산, 여주, 예산)으로부터 제조된 옹기에서 숙성된 간장의 항산화력과 갈색도 및 색도와 protease 활성을 측정하여 발효 기간 및 옹기 특성에 따른 상관

Received 12 February 2015; Accepted 1 May 2015

Corresponding author: Misook Kim, Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Yongin, Gyeonggi 448-701, Korea

E-mail: mkim5@dankook.ac.kr, Phone: +82-31-8005-3986

성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

옹기 및 간장

옹기는 우리나라에서 대표적으로 생산하는 다섯 지역(강진, 제주, 여주, 울산, 예산)의 완제품을 한국세라믹기술원(Icheon, Korea)으로부터 공급받아 사용하였다. 사용한 옹기는 60 L를 기준으로 선정하였고, 옹기의 모양은 지역별로 차이가 있었다. 옹기의 배 둘레는 강진 143.10 cm, 제주 140.85 cm, 여주 128.25 cm, 울산 124.90 cm, 예산 135.70 cm, 전체 높이는 강진 45.60 cm, 제주 61.65 cm, 여주 51.20 cm, 울산 44.20 cm, 예산 46.10 cm이며, 입구 두께는 23.47 mm, 제주 21.46 mm, 여주 19.65 mm, 울산 14.86 mm, 예산 16.03 mm였다. 옹기의 기공률은 강진이 12.11%, 제주 0.53%, 울산 1.92%, 여주 8.85%, 예산 0.67%였다. 간장은 전통 방식으로 제조한 것을 경북 상주시 소재 두레식품으로부터 구입하여 다섯 개의 지역별로 두 개의 옹기에 각각 38 kg씩 옮겨 담아 120일(2013년 7~11월) 동안 단국대학교 자연과학관 옥상에서 자연 상태에서 저장 발효시켰다. 간장 발효 기간 동안 옹기의 평균 온도는 20.0°C(최고 42.6°C, 최저 -4.4°C)였다.

색도와 갈색도 측정

간장을 분체원형 석영셀에 담아 색도계(Color JC 801, Color Techno System Corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)와 전체적인 색 변화(ΔE, color difference)를 측정하였다. 갈색도는 간장을 200배 희석하여 UV-visible spectrophotometer(Ultrospec 2100 pro, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 290 nm에서 흡광도를 측정하였다(5,14).

Protease 활성 측정

1% casein 용액 1 mL를 37°C 항온수조에서 10분간 예열한 다음 25배 희석한 간장 1 mL를 넣고 10분간 반응시켰다. 그 후 0.4 M TCA 용액 2 mL를 넣어 반응을 정지시키고, 5분간 1,000 rpm에서 원심분리 하였다. 상등액 1 mL를 채취하여 0.4 M sodium carbonate 5 mL와 Folin 용액 1 mL를 넣어 37°C 항온수조에서 20분간 반응시켜 spectrophotometer로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. Protease 활성(unit/mL)은 pH 7.0과 37°C의 조건에서 1% casein 용액 1 mL를 가수분해하여 tyrosine 1 μg을 생성하는 양으로 정의하였다.

총 페놀 함량 분석

총 페놀 함량은 Ahn 등(7)의 방법에 따라 측정하였다. 증류수로 10배 희석한 간장시료 100 μL에 50% Folin-

Ciocalteu's 용액 1 mL를 가하여 교반시킨 후, 1 N Na₂CO₃ 300 μL를 넣고 실온에서 방치하였다. 90분 후 반응액의 흡광도를 750 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid를 사용하였으며, 총 페놀 함량은 시료 1 mL 중의 mg gallic acid로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성 분석

DPPH 라디칼 소거 활성은 Ahn 등(7)의 방법으로 측정하였다. 증류수로 50배 희석한 간장시료 300 μL에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 1.2 mL를 가하였다. 실온에서 30분 동안 방치한 반응액의 흡광도를 517 nm에서 측정하여 다음과 같은 계산식에 의해 나타내었다.

$$\text{Scavenging effect (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbance of sample}}{\text{absorbance of control}}\right) \times 100$$

FRAP(ferric reducing antioxidant power) 측정

FRAP는 Benzie와 Strain(14)의 방법에 따라 측정하였다. 증류수로 50배 희석한 간장시료 50 μL에 FRAP 용액 1.5 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 방치하였다. 반응액의 흡광도는 593 nm에서 측정하였으며, 표준곡선은 ascorbic acid를 이용하여 표준 곡선을 작성하고 시료의 FRAP를 시료 1 mL 중의 mg ascorbic acid로 나타내었다.

통계처리

실험 결과는 Minitab 16(Minitab Inc., 3081 Enterprise Drive State College, PA, USA)을 이용하여 통계 처리하였으며, 옹기별 또는 발효 기간별 유의성은 $P < 0.05$ 수준에서 일반선형모형의 Tukey's test로 확인하였다. 지역별 옹기에서 120일 발효된 간장의 항산화 활성과 색도, 갈색도, protease 활성 간의 상관성은 XLSTAT(XLSTAT, Paris, France)으로 PLS(partial least square) regression을 실시하여 분석하였다.

결과 및 고찰

색도 및 갈색도

모든 지역 옹기의 간장의 L, a, b 값은 발효 기간에 따라 유의적으로 차이를 보이지 않았으나 ΔE는 발효 120일째 가장 높았다(Table 1). 발효 120일째에는 a를 제외한 다른 모든 색도는 지역별 옹기에서 발효된 간장 사이에서 유의적인 차이가 없었다.

갈색도(갈변 물질 함량)는 증류수로 200배 희석한 간장을 290 nm에서 흡광도를 측정하였으며 모든 시료는 발효가 진행될수록 증가하였다. Chung 등(4)은 갈변 물질들이 발효 기간이 길어짐에 따라 계속적으로 용출되어 간장의 색이 진해진다고 보고하였다. 발효 120일째 간장의 갈색도는 예산 옹기의 간장이 290 nm에서 1.92로 가장 높았다.

Table 1. Color parameters and absorbance at 290 nm of Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis*

Days	L*	a*	b*	ΔE	290 nm
Gangjin					
0	9.89±0.23 ^{Aa1)2)}	-1.39±0.87 ^{Aa}	0.41±0.36 ^{Aa}	14.2±0.26 ^{Ab}	0.66
40	9.68±0.00 ^{Aa}	-1.66±0.59 ^{Aa}	0.32±0.11 ^{Aa}	12.9±0.07 ^{Ac}	0.91
80	9.86±0.18 ^{Aa}	-1.52±1.00 ^{Aa}	0.11±0.49 ^{Aa}	12.3±0.38 ^{Ad}	1.07
120	9.93±0.35 ^{Aa}	-2.05±0.76 ^{Ba}	0.29±0.26 ^{Aa}	15.4±0.27 ^{Aa}	1.23
Jeju					
0	9.68±0.00 ^{Aa}	-0.73±0.60 ^{Aa}	0.18±0.00 ^{Aa}	14.3±0.07 ^{Ab}	1.08
40	9.68±0.00 ^{Aa}	-1.49±0.59 ^{Aa}	0.45±0.17 ^{Aa}	12.9±0.09 ^{Ac}	0.91
80	9.87±0.20 ^{Aa}	-1.35±1.45 ^{Aa}	0.49±0.31 ^{Aa}	12.3±0.40 ^{Ad}	1.18
120	9.72±0.16 ^{Aa}	-1.57±0.55 ^{Aa}	0.00±0.29 ^{Aa}	15.4±0.20 ^{Aa}	1.12
Ulsan					
0	9.72±0.05 ^{Aa}	-0.40±0.41 ^{Aa}	0.25±0.08 ^{Aa}	14.2±0.05 ^{Ab}	1.11
40	9.68±0.00 ^{Aa}	-1.24±0.59 ^{Ab}	0.39±0.08 ^{Aa}	12.9±0.08 ^{Ac}	0.94
80	9.89±0.32 ^{Aa}	-1.68±1.17 ^{Ac}	0.10±0.22 ^{Aa}	12.3±0.48 ^{Ad}	1.01
120	10.01±0.27 ^{Aa}	-1.22±0.52 ^{Abc}	0.36±0.39 ^{Aa}	15.1±0.26 ^{Aa}	1.13
Yeoju					
0	9.68±0.00 ^{Aa}	-0.65±0.73 ^{Aa}	0.25±0.17 ^{Aa}	14.3±0.09 ^{Ab}	0.82
40	9.68±0.00 ^{Aa}	-1.74±0.41 ^{Ab}	0.39±0.13 ^{Aa}	13.0±0.06 ^{Ac}	1.00
80	10.19±0.52 ^{Aa}	-1.25±1.25 ^{Aab}	0.10±0.25 ^{Aa}	11.9±0.54 ^{Ad}	1.09
120	9.91±0.27 ^{Aa}	-0.99±0.37 ^{Aab}	0.26±0.17 ^{Aa}	15.1±0.32 ^{Aa}	1.06
Yesan					
0	9.77±0.18 ^{Aa}	-0.64±0.79 ^{Aa}	0.34±0.31 ^{Aa}	14.2±0.06 ^{Ab}	0.94
40	9.68±0.00 ^{Aa}	-1.16±0.74 ^{Aa}	0.32±0.11 ^{Aa}	12.9±0.09 ^{Ac}	0.89
80	10.02±0.39 ^{Aa}	-1.34±1.42 ^{Aa}	0.20±0.19 ^{Aa}	12.1±0.49 ^{Ad}	1.27
120	9.78±0.00 ^{Aa}	-1.82±0.62 ^{ABa}	0.23±0.10 ^{Aa}	15.5±0.17 ^{Aa}	1.92

¹⁾Values with different capital letters among ganjang fermented in regional *Onggis* indicate significant differences by Tukey's test ($P<0.05$).

²⁾Values with different small letters among the fermentation period indicate significant differences by Tukey's test ($P<0.05$).

간장의 색은 주로 비효소적 갈변 반응에 영향을 받으며 대부분이 Maillard 반응의 생성 산물인 melanoidin이 산소를 소비하여 산화형이 되고 중합하여 착색도가 증가한다(5, 16). 이는 Maillard 반응의 중간 생성물인 hydroxymethyl furfural(HMF)이 상온에서 공기와 접촉하여 흑색 착색물질을 형성하기 때문인 것으로 생각된다(2,17).

Protease 활성

콩 발효 식품에서 주로 발견되는 *Bacillus*속이 생산한 protease는 간장 내 단백질을 분해하여 펩타이드와 유리 아미노산 함량을 증가시켜 풍미를 증진시킬 뿐 아니라 혈압 강하 작용, 혈청 콜레스테롤 저하 및 산화 방지 등의 작용에 기여한다(18-20). 모든 간장은 120일 발효하는 동안 protease 활성이 증가하였으며(Fig. 1), 이는 Chung 등(13)의 연구 결과와 유사하였다. 강진 용기에서 발효된 간장의 protease 활성이 가장 높았으며, 여주 용기에서 발효된 간장의 활성이 가장 낮았다.

Protease 활성은 간장에 있는 다양한 미생물의 생장과 높은 상관성이 있으며(13), 지역별 용기의 기공률과 형태학적 차이들이 간장 내 미생물 생장에 영향을 주어 protease 활성의 차이를 나타낸 것으로 판단된다.

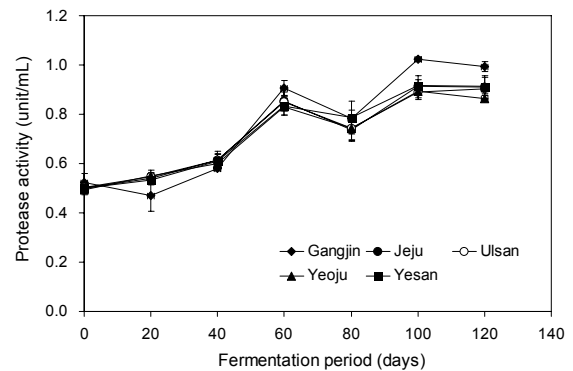


Fig. 1. Changes in protease activity in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis*.

총 페놀 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포하는 대사산물로 flavonoids, catechins, phenolic acids 등이 있으며, 이들은 높은 항산화 및 항균 활성을 가지고 있다(21). Gramza 등(22)은 발효된 콩의 대사산물로 생성된 phenolic hydroxyl기가 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 각 지역별 용기에서 120일 동안 발효된 간장의 총 페놀 함량의 변화는 Table 2와 같다. 간장의 발효가 진행될수록 총 페놀 함량

Table 2. The change of total phenolic contents in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis* (mg gallic acid equivalent/g)

Days	Gangjin	Jeju	Ulsan	Yeoju	Yesan
0	11.1±0.27 ^{Ae1)2)}	10.9±0.65 ^{Ac}	10.3±0.67 ^{Ad}	10.6±0.44 ^{Ad}	9.6±1.41 ^{Ab}
20	10.8±0.20 ^{Ae}	10.9±0.79 ^{Ac}	9.9±0.12 ^{Ad}	11.3±0.63 ^{Ac}	10.4±1.28 ^{Aab}
40	12.5±0.67 ^{Ac}	12.1±0.38 ^{Abc}	12.3±0.57 ^{Ac}	12.4±0.98 ^{Abc}	11.2±1.03 ^{Aab}
60	12.2±0.23 ^{Ad}	13.7±0.57 ^{Aab}	14.0±0.49 ^{Aab}	13.7±0.38 ^{Aab}	12.5±1.44 ^{Aab}
80	13.4±0.17 ^{Ac}	13.2±1.28 ^{Aabc}	14.3±0.24 ^{Aa}	12.5±0.22 ^{Abc}	12.5±1.51 ^{Aab}
100	14.5±0.21 ^{ABb}	15.4±1.31 ^{Aa}	12.8±0.86 ^{Bbc}	13.4±0.38 ^{ABab}	12.4±1.32 ^{Bab}
120	16.6±0.45 ^{Aa}	13.7±0.29 ^{Cab}	15.4±0.27 ^{Ba}	14.6±0.41 ^{BCa}	13.5±0.59 ^{Ca}

¹⁾Values with different capital letters in the same row for each sample are significantly different by Tukey's test ($P<0.05$).

²⁾Values with different small letters in the same column for each fermentation period are significantly different by Tukey's test ($P<0.05$).

은 전반적으로 증가하는 경향을 보였다. 발효 120일 동안 총 페놀 함량은 평균적으로 4.12 mg gallic acid equivalent (GAE)/mL 증가하였다. 총 페놀 함량은 강진 용기에서 발효된 간장이 16.6 mg GAE/mL로 가장 많았고, 예산 용기는 13.5 mg GAE/mL로 가장 적었다. 용기 내 산소의 유입은 간장의 주 발효균인 호기성 *Bacillus*속의 성장과 protease 등의 효소 분비에 영향을 주어 간장의 다양한 분해산물들을 증가시킨다. 콩을 원료로 한 우리나라 전통 발효식품인 간장, 된장, 청국장 등은 발효가 진행되면서 항산화력을 보유한 tocopherol, isoflavones 및 phenolic acids 등 페놀성 화합물의 용출이 증가된다고 보고되었다(6,23,24).

FRAP

FRAP는 페놀성 화합물이 Fe^{3+} 를 Fe^{2+} 로 환원시켜 주는 능력이다. FRAP는 혈장에 함유되어 있는 항산화제들에 비례하여 증가하는 것으로 항산화 능력을 직접적으로 측정할 수 있는 방법 중의 하나이다(15). 간장의 발효 기간과 지역별 용기에 따라 FRAP는 유의적으로 차이를 보였다(Table 3). 강진 용기 간장은 80일 동안 다른 간장에 비해 빠른 속도로 FRAP가 증가하였다. 모든 간장은 발효가 진행되는 동안 FRAP가 증가하여 발효 120일째 강진 용기 간장에서 54.3 mg ascorbic acid equivalent(AAE)/mL로 가장 높았고, 여주(48.9 mg AAE/mL), 울산(45.7 mg AAE/mL), 예산(44.2 mg AAE/mL), 제주(41.6 mg AAE/mL) 순이었다. Park 등(23)은 콩 발효 식품의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 물질

들이 ferric 환원력을 나타내는 항산화 활성과 높은 상관관계가 있다고 보고하였다.

DPPH 라디칼 소거 활성

유리 라디칼은 체내에서 생리학적 및 생화학적 반응에 의해 다양하게 생성되지만 이에 의한 산화적 손상은 항산화 물질에 의해 활성산소를 감소시킴으로써 방지될 수 있다. DPPH 라디칼 소거 활성은 유리 라디칼에 의한 산화적 손상이 항산화 물질에 의해 방지되는 것을 측정하는 척도로 이용되고 있다(25).

각 지역별 용기에서 발효된 간장은 시간이 경과할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하였다(Table 4). Kim 등(26)은 전통간장이 30일 동안 발효하면서 DPPH 라디칼 소거 활성이 꾸준히 증가하였다고 한다.

발효 120일째 DPPH 라디칼 소거 활성은 강진 용기의 간장이 43.6%, 예산 42.7%, 제주 38.2%, 울산 36.7% 그리고 여주 34.1% 순이었다. Shin 등(5)은 90일 동안 발효한 간장의 DPPH 라디칼 소거 활성이 20% 미만이었다고 보고하였다. 본 연구에서는 DPPH 라디칼 소거 활성과 총 페놀량이 유의적인 상관관계를 나타내었으며, Ahn 등(27)은 페놀이 유리 라디칼에 수소를 제공하여 안정화시킨다고 보고하였다.

Cheigh 등(28)은 일반적인 간장의 갈변물질의 항산화 요인으로 알려진 Maillard 반응으로부터 생성된 melanoidin 물질과 상관관계가 높다고 보고하였다. Park 등(8)은 공기

Table 3. The change of FRAP ability in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis* (mg ascorbic acid equivalent/g)

Days	Gangjin	Jeju	Ulsan	Yeoju	Yesan
0	32.6±0.97 ^{Ae}	32.6±0.97 ^{Ac}	32.6±0.97 ^{Ad}	32.6±0.97 ^{Ac}	32.6±0.97 ^{Ad}
20	39.7±1.49 ^{Ad}	32.5±1.53 ^{Bc}	33.4±0.58 ^{Bd}	40.7±0.68 ^{Ab}	31.4±0.12 ^{Bd}
40	45.5±1.51 ^{Ac}	37.9±1.03 ^{Bb}	37.8±2.42 ^{Bcd}	40.8±1.92 ^{Bb}	38.1±1.57 ^{Bc}
60	49.0±0.62 ^{Ab}	38.2±0.76 ^{Cb}	40.5±1.57 ^{BCbc}	40.4±1.19 ^{BCb}	42.1±1.28 ^{Bab}
80	53.8±1.22 ^{Aa}	42.5±2.03 ^{BCab}	44.7±0.91 ^{Bab}	42.2±0.68 ^{BCb}	40.0±0.60 ^{Cbc}
100	54.6±0.87 ^{Aa}	44.1±2.51 ^{Ca}	42.4±1.15 ^{Cab}	49.8±0.98 ^{Ba}	40.6±0.92 ^{Cbc}
120	54.3±0.92 ^{Aa}	41.6±2.05 ^{Dab}	45.7±1.46 ^{BCa}	48.9±0.55 ^{Ba}	44.2±0.60 ^{CDa}

¹⁾Values with different capital letters in the same row for each sample are significantly different by Tukey's test ($P<0.05$).

²⁾Values with different small letters in the same column for each fermentation period are significantly different by Tukey's test ($P<0.05$).

Table 4. The change of DPPH radical scavenging activity in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis* (%)

Days	Gangjin	Jeju	Ulsan	Yeoju	Yesan
0	28.8±1.22 ^{Ac1)2)}	28.8±0.72 ^{Ad}	28.8±1.95 ^{Ac}	24.9±0.65 ^{Ac}	30.2±1.45 ^{Ad}
20	32.0±1.49 ^{Ac}	32.4±1.12 ^{Ac}	33.3±1.26 ^{Abc}	28.1±1.25 ^{Ad}	36.8±1.87 ^{Ac}
40	38.9±0.63 ^{Ab}	35.2±0.61 ^{Bbc}	38.7±1.63 ^{Aa}	30.4±0.59 ^{Ccd}	40.2±0.91 ^{Aabc}
60	41.5±0.73 ^{Aab}	36.0±0.49 ^{Ab}	38.7±1.25 ^{Aa}	31.3±0.29 ^{Abc}	39.7±2.04 ^{Abc}
80	44.0±0.86 ^{Aa}	37.5±1.39 ^{Bb}	38.4±1.68 ^{Ba}	30.3±0.52 ^{Ccd}	41.5±0.82 ^{Aab}
100	44.6±1.86 ^{Aa}	41.4±1.20 ^{Aa}	36.3±1.14 ^{Bab}	33.6±1.64 ^{Bab}	43.9±1.47 ^{Aa}
120	43.6±2.04 ^{Aa}	38.2±1.30 ^{Bab}	36.7±0.92 ^{BCab}	34.1±0.47 ^{Ca}	42.7±1.59 ^{Aab}

¹⁾Means with different capital letters in the same row for each sample are significantly different ($\alpha=0.05$).

²⁾Means with different small letters in the same column for each fermentation period are significantly different ($\alpha=0.05$).

와 접촉하는 면이 많을수록 갈변 물질의 생성이 증가하여 항산화 활성을 증가시킨다고 하였다.

지역별 용기와 항산화 활성 간의 상관관계

갈색도와 색도, 항산화 활성 및 protease 활성과의 상관성은 Table 5와 같다. 갈색도와 항산화 활성은 전체적으로 상관성이 낮았다. 콩을 고온에서 가열하여 메주를 제조하는 과정 중 Maillard 반응으로 인하여 생성된 갈변 물질이 소금물에 용출되어 간장에 존재하나 갈색도와 항산화의 상관성이 낮은 것으로 보아 갈변 물질이 영향을 적게 미치는 것으로 판단된다. 반면 protease 활성이 총 페놀과 높은 상관성 ($R=0.85$)을 보였고, DPPH 라디칼 소거 활성, FRAP와도 상관성이 높은 것으로 나타나 간장을 발효시키는 미생물에 의해 생성된 protease와 기능성 펩타이드, 페놀과 같은 물질들이 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 총 페놀 함량은 FRAP와 0.79의 상관성을 나타냈다. Choi와 Kim(1)은 간장의 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거 활성과 상관관계가 높아 항산화 활성에 영향을 준다고 보고하였다.

부분최소제곱 회귀분석 PLS regression은 주성분 분석

과 다중회귀 분석을 결합한 형태로써 반응변수에 영향을 미치는 설명변수가 여러 가지일 때 벡터 값의 크기로 설명변수의 영향력을 해석한다(29). 지역별 용기와 항산화 활성과의 상관성을 PLSR을 이용하여 도표화한 결과는 Fig. 2와 같다.

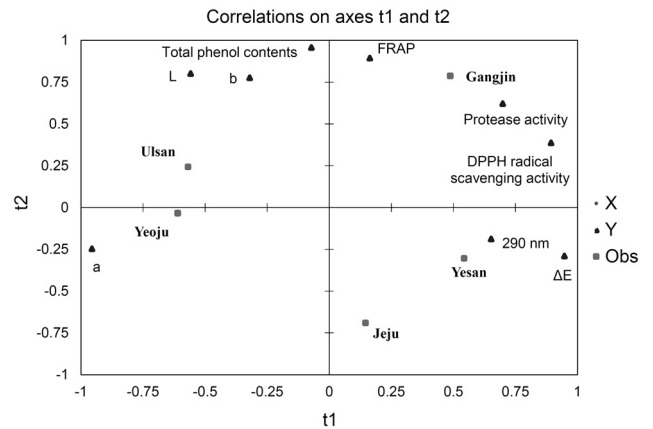


Fig. 2. PLS regression of color, protease and antioxidant activity in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis*.

Table 5. Correlation matrix of color and antioxidant activity in Korean traditional soy sauce fermented in different regional *Onggis*

	290 nm	L	a	b	ΔE	DPPH scavenging activity	FRAP ability	Total phenol contents	Protease activity
290 nm	1								
L	-0.036 ¹⁾ (0.836) ²⁾	1							
a	0.061 (0.726)	-0.990 (0.000)	1						
b	-0.099 (0.571)	0.984 (0.000)	-0.997 (0.000)	1					
ΔE	-0.006 (0.972)	0.950 (0.000)	-0.965 (0.000)	0.966 (0.000)	1				
DPPH scavenging activity	0.484 (0.003)	-0.303 (0.076)	0.330 (0.053)	-0.363 (0.032)	-0.324 (0.058)	1			
FRAP ability	0.334 (0.050)	-0.252 (0.144)	0.297 (0.083)	-0.326 (0.056)	-0.278 (0.106)	0.763 (0.000)	1		
Total phenol contents	0.302 (0.078)	-0.423 (0.011)	0.467 (0.005)	-0.485 (0.003)	-0.399 (0.018)	0.666 (0.000)	0.790 (0.000)	1	
Protease activity	0.496 (0.002)	-0.423 (0.011)	0.470 (0.004)	-0.493 (0.003)	-0.351 (0.039)	0.780 (0.000)	0.765 (0.000)	0.847 (0.000)	1

¹⁾Pearson correlation coefficient. ²⁾P-value.

강진 용기의 간장은 총 페놀 함량과 FRAP, DPPH 라디칼 소거 활성 및 protease 활성 사이에 양의 상관성이 높았으며, 예산 용기의 간장은 ΔE , 갈색도와 양의 상관관계를 보였다. 반면 울산과 여주 지역의 용기에서 숙성된 간장은 a값과 양의 상관관계를 보였다.

요 약

본 연구는 한국 전통간장을 각기 다른 지역별 용기에서 숙성시키면서 변화하는 색도, protease 활성과 항산화 활성을 비교하였다. 120일간 지역별 용기에서 발효한 간장의 색도는 적색도에서만 유의적인 차이를 나타내었다. 간장의 갈색도는 발효가 진행될수록 증가하였으며 발효 120일째 예산 용기 간장의 갈색도가 가장 높았다. 간장의 protease 활성은 발효하는 동안 지속적으로 증가하였으며 강진 용기의 간장에서 가장 높았다. 모든 지역 용기에서 발효된 간장은 발효될수록 총 페놀 함량과 항산화 활성이 증가하였다. 강진 용기의 간장은 총 페놀 함량(16.6 mg GAE/mL), FRAP(54.3 mg AAE/mL), DPPH 라디칼 소거 활성(43.6%)이 지역별 용기 중에서 가장 높았다. 갈색도와 항산화 활성과의 상관성은 낮으나 protease 활성과 총 페놀 함량의 상관은 높았다($R=0.85$). 120일 동안 발효된 간장의 항산화 활성, protease 활성, 갈색도, 총 페놀 함량은 지역별 용기에 따라 차이가 있었다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 한국세라믹기술원의 분원정책연구사업의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- 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.
- Kim DH. 1995. *Food chemistry, Maillard reaction*. Tamgudang, Seoul, Korea. p 403-416.
- 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.
- Chung KM, Cho SW, Kim ZU. 1981. A study on the color change of soy sauce. *J Korean Agric Chem Soc* 24: 200-205.
- Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities of Korean traditional *kanjang* and garlic added *kanjang*. *J Agric Life Sci* 44: 39-48.
- Moon GS, Cheigh HS. 1987. Antioxidant characteristics of soybean sauce in lipid oxidation process. *Korean J Food Sci Technol* 19: 537-542.
- Ahn JB, Park JA, Jo H, Woo I, Lee SH, Jang KI. 2012. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial *Doenjang* and traditional *Doenjang* in Korea. *Korean J Food & Nutr* 25: 142-148.
- Park KY, Moon SH, Baik HS, Cheigh HS. 1990. Antimutagenic effect of doenjang (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 156-162.
- Kwon HJ, Kim HS, Choi YH, Choi JH, Choi HS, Song J, Park SY. 2014. Antioxidant activity and quality characteristics on the maturation period of the soy sauce with *Gastrodia elata* and oak mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Preserv* 21: 231-238.
- Shin YJ, Lee CK, Kim HJ, Kim HS, Seo HG, Lee SC. 2014. Preparation and characteristics of low-salt soy sauce with anti-hypertensive activity by addition of miduduk tunic, mulberry, and onion extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 854-858.
- Lee JJ, Cho CH, Kim JY, Kee DS, Kim HB. 2001. Antioxidant activity of substances extracted by alcohol from *Chungkookjang* powder. *Korean J Microbiol* 37: 177-181.
- Chung SK, Lee KS, Cho SH. 2004. Effect of fermentation vessel on quality of anchovy soy sauce. *Korean J Food Preserv* 11: 233-239.
- Chung SK, Lee KS, Lee DS. 2006. Fermentation of *kanjang*, Korean soy sauce, in porosity-controlled earthenwares with changing the mixing ratio of raw soils. *Korean J Food Sci Technol* 38: 215-221.
- NREL. Standard Procedures for Biomass Compositional Analysis. http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html (accessed Jul 2013).
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
- Hashiba H. 1981. Oxidative browning of soy sauce (Part 4). Oxidative browning of amadori compounds. *J Jpn Soy Sauce Res Inst* 7: 116-120.
- Motai H. 1976. Browning of shoyu. *Nippon Shokubin Kogyo Gakkaishi* 23: 372-384.
- 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.
- Lee SK, Bae DH, Kwon TJ, Lee SB, Lee HH, Park JH, Heo S, Johnson MG. 2001. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KDO-13 isolated from soybean paste. *J Microbiol Biotechnol* 11: 845-852.
- Kim SS, Lee JH, Ahn YS, Kim JH, Kang DK. 2003. A fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* D4-7 isolated from Chungkook-Jang; its characterization and influence of additives on thermostability. *Kor J Microbiol Biotech* 31: 271-276.
- Ferreres F, Gomes D, Valentao P, Goncalves R, Pio R, Chagas EA, Seabra RM, Andrade PB. 2009. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem* 114: 1109-1027.
- Gramza A, Khokhar S, Yoko S, Swiglo AG, Hes M, Korczak J. 2006. Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 351-362.
- Park JW, Lee YJ, Yoon S. 2007. Total flavonoids and phenolics in fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays. *Korean J Food Culture* 22: 353-358.
- Kim MH, Im SS, Yoo YB, Kim GE, Lee JH. 1994. Antioxidative materials in domestic Meju and Doenjang: 4. Separation of phenolic compounds and their antioxidative activity.

- J Korean Soc Food Nutr* 23: 792-798.
25. Won SB, Song HS. 2013. Antioxidant activity and sensory evaluation in soy sauce with fruit, stem, or twig of *Hovenia dulcis* thunb. *Korean J Food & Nutr* 26: 258-265.
 26. Kim HS, Lim JM, Kwon HJ, Yoo JY, Park PS, Choi YH, Choi JH, Park SY. 2013. Antioxidant activity and quality characteristics on the maturation period of the soy sauce containing *Astragalus membranaceus* and oak mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J Food Preserv* 20: 467-474.
 27. Ahn SI, Bok JH, Son JY. 2007. Antioxidative activities and nitrite-scavenging abilities of some phenolic compounds. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 19-24.
 28. Cheigh HS, Lee JS, Moon GS, Park KY. 1990. Antioxidative characteristics of fermented soybean sauce on the oxidation of fatty acid mixture. *Korean J Food Sci Technol* 22: 332-336.
 29. Brückner R, Shoseyov O, Doi RH. 1990. Multiple active forms of a novel serine protease from *Bacillus subtilis*. *Mol Gen Genet* 221: 486-490.