

한국된장의 酸酵過程에 따른
N-Compounds의 消長에 關한 研究

尹鎰燮 · 金顯五 · 尹世億 · 李甲湘*

慶熙大學校 產業大學 食品加工學科 · 圓光大學校 農科大學 農化學科*
(1977년 3월 24일 수리)

Studies on the Changes of N-Compounds during
the Fermentation Process of the Korean Daenjang

by

Il-Sup Yoon, Hyun-Oh Kim, Se-Eok Youn and Kap-Sang Lee*

Department of Food Technology, College of Industry, Kyung-Hee University

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Won-Kwang University.*

Abstract

This study was conducted to examine the changes of pH, proteolytic enzymic activity, and every kind of nitrogen compounds during their fermentation of the three groups of meju for 90days.

Among the three groups, the first group was conventional Korean meju which was proved to be good quality (sample J), the second group was prepared with soybean paste using *B. subtilis* (sample K), and the third group was an improved meju which was fermented with the soybean and wheat (7 : 3) mixture paste with *Asp. sojae* (sample L).

These groups were analyzed at an interval of 10 day and the results are summarized as follows:

- 1) The pH of the all three groups was lowered from 6.45~6.75 to 4.85~5.20 in just the 30 days and maintained the weak acidity during this fermentation.
- 2) The proteolytic enzymic activity was increased as soon as the three groups of meju were fermented and marked the maximum value in 30 days. The maximum value of the three groups of meju J.K. and L was 147, 112, and 52 respectively. The proteolytic enzymic activity of sample J and K was decreased to 23.5 and 20.5 in 20 days, while that of sample L was decreased to 18.0 in 40 days, and maintained the values to the end of fermentation for 90 days.

The conventional meju J and the improved meju K showed sparkling activity at the pH 7, while the activity of improved meju L was strong at the pH 10.

- 3) The PAA-N content of sample J and K was increased and reached to the peak point with 1.55% and 1.49% respectively in 60 days. But the sample L marked the maximum value with 1.28% after 80 days.

** 本研究는 1976年度 文教部 學術研究 助成費로 遂行하였음.

- 4) The amino-N content of sample J was increased and reached to 0.36% after 60 days, and that of sample K and L was increased and reached to 0.29% and 0.21% respectively after 40 days. After reaching to the peak point, the contents were decreased.
- 5) The content of ammonia-N was most abundant in sample K which was fermented with soybean paste using *B. subtilis*.
- 6) The peptide-N content of sample K and L was increased after decreasing in the middle of fermentation period, while that of sample J was increased gradually during fermentation.
- 7) The changes of nitrogen compounds were seemed to complete in 60 days of fermentation.

시료로 하였다.

I. 緒論

醬類의 맛은 그 식품이 함유하고 있는 각종의 低級 펩타이드와 遊離아미노 酸의 종류 및 함량에 따라 크게 달라지는 것이 報告되어^{1,2)} 있으나, 이 것들의 대부분은 아미노산과 펩타이드의 함량을 조사한 정도이다. 특히 된장에 관여하는 된장숙성증의 질소성분의 消長에 관한 竹內^{3,4,5,6,7)}, 望月^{8,9,10)}의 연구보고나 朴¹¹⁾의 청국장메주 발효과정증의 질소화합물의 消長에 관한 연구, 金¹²⁾의 한국醬類의 菌學的研究 및 *Bacillus natto*가 된장에 미치는 영향에 관한 李等¹³⁾의 연구보고가 있을 뿐이다.

따라서 筆者는 在來의 各種 메주의 性狀을 調査하여¹⁴⁾ 가장 良質이라고 인정되는 재래식메주와 개량식메주로써 된장을 담가 발효시키면서 經時的으로 採取한 시료에 대하여 pH와 蛋白質分解酵素力 및 각종 질소화합물의 動態를 조사하여 그 결과를 보고한다.

II. 實驗재료 및 實驗방법

1. 재료

우량한 것으로 인정되는¹⁴⁾ 재래식메주 J群과 개량식메주 K群 및 大豆와 小麥을 7:3의 비율로 혼합하여 *Aspergillus sojae*로 발효시킨 개량식메주 L群을 시료로 하였다. 菌株로는 慶熙大學校 食品加工學科에 보존되어 있는 *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus sojae* sp.를 사용하였다.

2. 원장담금

메주시료 (J群 및 L群) 각 6kg씩을 20mesh정도로 분쇄하여 수분함량이 55%, 식염농도가 14%가 되도록 加水加鹽한 후에 오지향아리에 담근다. 실온에서 90일간 발효시키면서 經時的 成分變化의 조사를 위한 된장

3. 分析시료의 채취 및 조제

된장담금중의 경시적 성분변화를 조사하기 위하여 된장을 담근 직후와 그 후부터 10일간격으로 된장시료 50g씩을 採取하여 mess flask에서 중류수로 회석하여 定容으로 한다. 이 것을 약 60분간 방치하였다가 遠心分離機(6000r.p.m)로 분리하여 殘渣를 버리고 上澄液으로써 蛋白質分解酵素力 및 pH測定用供試料로 하였다. 다음一部의 上澄液에는 20% TCA용액을 2:1의 비율로 첨가하여 250ml容 mess flask에 定容하여 12시간 방치한 다음, 생성된 침전물을 원심분리하여 버리고 上澄液의 일정량을 分取하여 TCA可溶-N (PAA-N), 아미노態-N ($\text{NH}_2\text{-N}$), 암모니아態-N ($\text{NH}_3\text{-N}$), 및 펩타이드-N의 分析用試料로 하였다.

4. 成分分析 및 蛋白質分解酵素力의 測定

pH: Beckmann Zeromatic pH meter를 사용하여 측정하였다.

蛋白質分解酵素力^{16,17,18)}

i) 中性 蛋白質分解酵素의 경우

0.6% casein溶液 2ml

Mcllvain buffer 溶液(pH7) 2ml

酵素試料溶液 0.5ml

ii) 鹽基性 蛋白質分解酵素의 경우

0.6% casein溶液 2ml

Atkinspantion buffer 溶液(pH10) 2ml

酵素試料溶液 0.5ml

위와 같은 반응액을 30°C에서 30분간 작용시킨 다음 즉시로 제단백제인 0.11M- $\text{CCl}_3\text{-COOH}$, 0.22M- CH_3COONa , 및 0.33M- CH_3COOH 의 等量混合液 5ml씩을 가하여 효소를 불활성화시킨다. 각 반응액을 여과하여 그 여액 2ml와 0.55M- Na_2CO_3 5ml 및 folin시약 1ml씩을 각각 가하여 30°C에서 30분간 빌색시킨 다음 Beckmann spectrophotometer Model B로 波長 660 μm 에서

optical density를 표준 Tyrosine의 standard curve와 비교하여 Tyrosine 10_r를 1單位로 하여 表示하였다.

PAA-N : micro-kjeldahl法¹⁵⁾에 준하였다.

Amino-N : Sörensen formol titration法¹⁶⁾에 준하였다

Ammonia-N : 직접 중류법²⁰⁾에 의하여 定量하였다.

Peptide-N : PAA-N량에서 amino-N과 ammonia-N량을 뺀 값으로 表示하였다.

III. 實驗結果 및 고찰

1. 된장발효과정중의 pH와 蛋白質分解酵素力의 變化

pH의 變化는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 시료 J, K, 및 L 모두 동일한 경향을 보였으며, 시초에 pH 6.45~6.75를 갖던 시료들은 20일이 경과되기까지는漸減現狀을 보여 6.00~6.35의 pH값을 유지하다가 30일 후에는 pH 4.8~5.2로 急降下되었으며 그 후부터는 완만한 감소가 있었다. 또한 시료 J, K는 서로 비슷한 pH값을 보인 데에 反하여 시료 L은 J, K보다 3.0差의 산성을 나타냈다. 이 차이는 L시료가 中性내지 산성의 단백질분해효소를 생성하는 *Aspergillus sojae*에 의해서 발효되었고 또한 소맥을 혼용하므로써 탄소원이 많이 함유된 것에 기인되는 것으로 생각된다.

이상의 결과들은 望月 등⁸⁾이 美國產大豆와 *Aspergillus oryzae*麴 및 食鹽등을 배합(8kg : 2.5kg : 1.5kg)하여 90일간 溫護하면서 측정한 pH의 消長曲線과 비슷한 경향을 보였다.

한편 단백질분해효소의 변화는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 시료 J, K 및 L은 모두 30일간의 발효로써 pH7이나 pH 10에서 각각 頂點의 酵素力を 이루었으며 70일

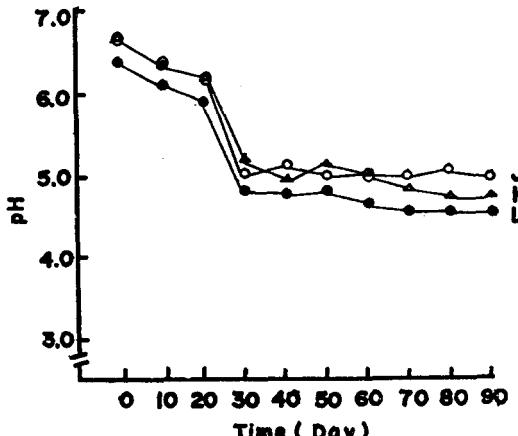


Fig. 1. Changes of pH during the Fermentation of Daenjang.

이후로부터는 별 변화가 없었다. 즉 30일 발효로써 시료 J, K는 pH 7.0에서 각각 Folin法 單位로 147과 112로 最高에 달하였다. 그리고 pH 10에서는 J, K는 10내외이고 L이 52로 최고이었으나 作用力은 거의 없는 것으로 생각된다. 上의 結果에서 特히 試料 J의 酵素는 *Bacillus*菌에 의한 것으로 보이는데 朴²¹⁾이 *B. subtilis* sp.를 種菌으로 하여 알메주를 만들고 이 것의 추출액을 粗酵素로 하여 Folin법에 의한 단백질분해효소력을 측정하였더니 약알카리성에서 대단히 높은 力價를 얻었다는 보고나 金²²⁾이 우리나라의 재래식메주를 제조, 分解하여 10% NaCl용액에 沈澱하여 실온에서 30일과 60일의 경과후의 세균수를 측정한 결과, 30일 경과후의 세균수가 76×10^2 이던 것이 60일 후에는 85×10^4 으로 增加하였다는 보고 및 福山²³⁾ 및 那須²⁴⁾의 日本醬類에 대한 연구에서 장류덧 속에 *B. subtilis*수가 암도적으로 많았으며 이들 세균은 식염농도 14.5%의 배지에서도 보통으로 생육하고 16%의 농도에서도 양성하지는 않지만 생육을 지속하였다는 보고들을 참작하면 시료 J도 *B. subtilis*에 의하여 발효된 것으로 생각된다.

2. PAA-N의 消長

된장試料 J, K 및 L의 90일간의 酵素過程中에 調査한 PAA-N의 消長은 Fig. 3와 같다.

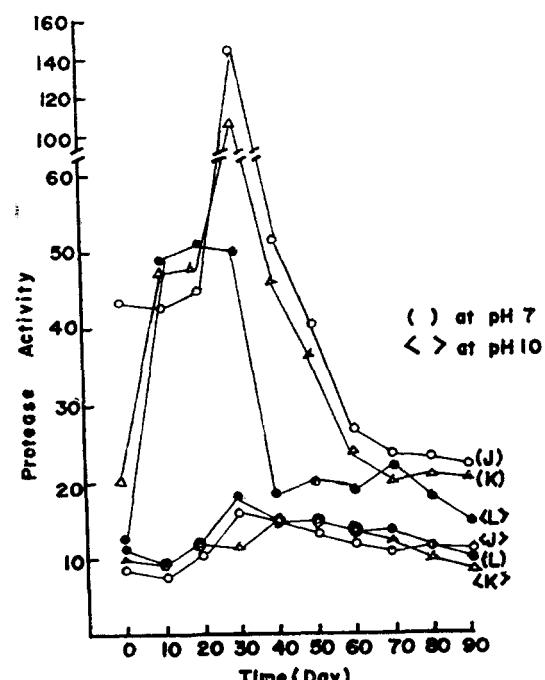


Fig. 2. Changes of Protease Activity during the Fermentation of Daenjang

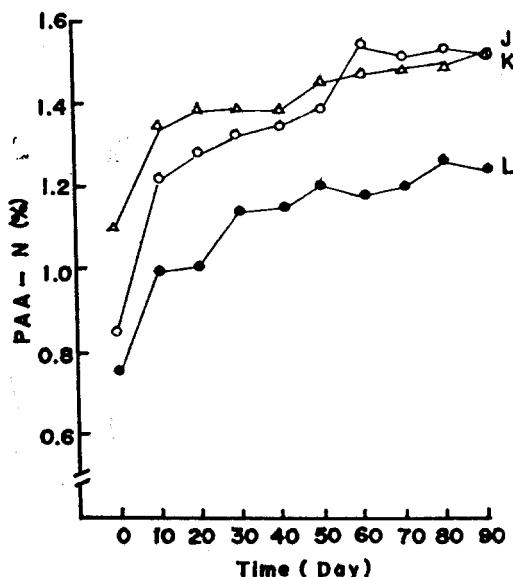


Fig. 3 Changes of PAA-N during the Fermentation of Daenjang.

3試料가 모두 담금날로 부터 10일까지의 사이에 PAA-N의 양은 急增하여 全體量의 半以上이 生成되었으며 90일까지는 游離現象을 나타냈다. 즉 試料 J는 10일 간의 발효후에 當初 0.86%로부터 1.24%로 急增되었고 그 후 90일까지 서서히 增加되어 1.55%가 되었으며, 試料 K는 當初에 1.12%로부터 10일간에 1.37%로 急增되고 90일까지 游離되어 1.54%에 達하였다. 또한 試料 L은 처음 0.76%이었던 것이 10일만에 1.01%로 急增된 후 서서히 증가하여 90일 경과 후에는 1.26%로써 試料 J, K에 比하여 낮은 含量을 보였다.

이와같이 試料가 共通의 方式로 담금初부터 10일 經過 사이에 대부분의 PAA-N가 生成된 現象은 이미 麻糬 試料 J, K 및 L 중에 각각 2.41%, 3.09%, 및 2.04%의 PAA-N가 含有되었던 것이 담금液中에 쉽게 溶出된 것이며, 그 후의 游離現象은 未分解蛋白質들이 酵素의 作用에 依하여 서서히 分解溶出된 결과라고 생각된다. 또한 試料 L의 PAA-N含量이 J, K에 比하여 적은 것은 麻糬原料의 Total-N의 差異의 結果로 여겨진다.

3. Amino-N의 游離

Amino-N의 游離을 조사한 結果는 Fig. 4와 같다.

試料 3種이 모두 담금초에서 10일까지의 발효기간 사이에 amino-N이 急增하였으며, 試料 J는 계속 急增加하여 30일간의 발효로 頂點을 이루어 90일까지 同量을 유지하였고, 試料 K는 10일 후부터 서서히 增加하여 60일에 정점을 이루어 90일까지 유지되었다. 한편 試料 L

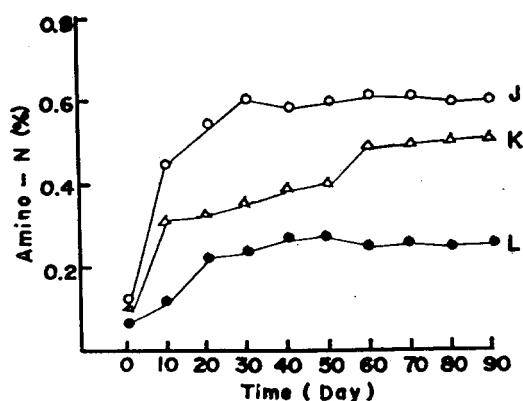


Fig. 4. Changes of Amino-N during the Fermentation of Daenjang.

는 10일 이후 游離하여 40일에 頂點을 이루어 발효종료시까지 유지되었다. 따라서 試料 J는 大豆蛋白質로부터의 amino-N轉化가 K에 比하여 빠르며 量의 으로도 많았다. 試料 J는 담금초에 amino-N이 0.11%에서 10일 만에 0.46%, 30일 만에 0.62%로 急增되어 頂點을 이루었으며, 試料 K는 同一한 大豆의 麻糬蛋白質이므로 담금초에는 amino-N의 含量은 試料 J와 거의 同量이었으나 10일 후에는 이 보다 월등한 0.32%로 增加하였고 60일 만에는 0.5%로 頂點을 이루었다.

이러한 傾向은 試料 J는 在來式自然酶酵이므로 *B. subtilis*의 數가 多數라고 하여도 기타의 酶活性이 量이 多이 번식되어 있을 것이며, 3個月間의 長時間酶酵로 보다 강력한 蛋白質分解酶素의 表現에 의한 蛋白質의 分解는 單期間의 *B. subtilis* sp. 單一菌에 의한 K試料의 分解程度를 凌駕할 것에 基因되는 것으로 생각된다. 그리고 試料 K의 amino-N의 生成量이 적은 것은 小麥混用으로 total-N量이 적고 protease activity가 微弱한 데서 연유된 결과라고 본다.

本結果는 金等²⁵⁾이 報告한 콩koji와 보리koji로 된 장을 담가서 8週間의 酸酵過程中에 調査한 amino-N의 消長과 朱等²⁶⁾이 細菌을 이용한 청국장제조중 50일간에 조사한 amino-N의 消長과 類似한 傾向이었다.

4. Ammonia-N의 消長

試料된 장 J, K 및 L의 90일간의 經時的인 ammonia-N의 消長을 조사한 結果는 Fig. 5와 같다.

試料 J는 담금직후에 0.26%이던 것이 발효시간이 경과됨에 따라 游離되어 50일 만에 0.36%로 頂點을 이루었다가 그 후부터는 서서히 감소되어 90일에는 0.28%로 되었으며, 試料 K는 最初 0.19%이던 것이 서서히 增加되어 40일 만에 0.29%로 頂點을 이루었다

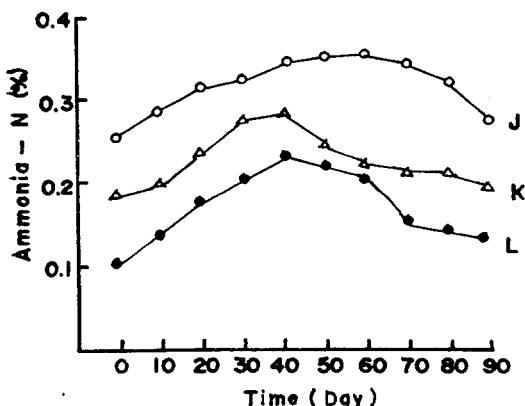


Fig. 5. Changes of Ammonia-N during the Fermentation of Daenjang.

가 90일에 가서는 0.20%에 이르렀다. 또한 試料L은 담금초에 0.10%이던 것이 40일간에 急增하여 0.21%로 頂點을 이루었다가 서서히 감소하여 90일만에는 0.14%로 最下가 되었다.

本結果는 大豆蛋白質이 酵素的分解로 일단 amino-N으로 되었다가 다시 ammonia-N으로 變化된 것으로 생각되며 試料J인 재래식메주가 그 생성량이 가장 많고 小麥을 混用하여 *A. sojae*로 발효시킨 알메주시료L이 가장 적었다. 또한 生成量이 最高에 達하는 時期는 試料J가 50일이었으며 K,L은 40일이었다. 이러한結果들은 朱等²⁶⁾이 청국장을 담가서 조사한 결과와 거의 동일한 경향을 보였으나 竹內等⁶⁾이 脱脂大豆麵으로 된장(水分含量 54%)을 담가서 200일간 조사한 ammonia-N이 量의으로 많지는 않았으며 계속 증가하였다는報告와는 相異한 것이었다.

5. Peptide-N의 消長

試料된장 J,K 및 L의 90일간의 동태를 peptide-N으로 表示하면 Fig. 6과 같다.

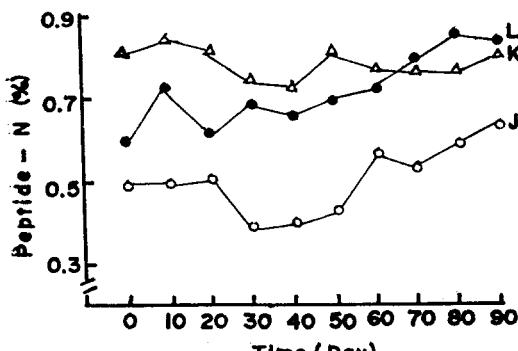


Fig. 6. Changes of Peptide-N during the Fermentation of Daenjang.

試料된장 J는 시료중 peptide-N 生成量이 가장 적은 시료로서 담금 직후 0.49%에서 20일만에 0.51%로 약간 증가하였으며 40일만에 0.39%로 最少로 감소하였다가 그 후로는 서서히 증가되어 90일만에는 0.64%에 이르렀고, 試料K는 담금시에 0.83%에서 10일만에 0.85%로 약간 올랐다가 減減되어 40일만에 0.75%로 써 最少值가 되었으며 그 후로는 다시 減增되어 90일만에는 0.82%로 되었다. 오한 試料L은 담금직후 0.60%이었으며 10일 후에는 0.74%로 급증되었다가 20일 후에는 最少值인 0.62%로 대려갔으며 그 후로는 減增하여 酵素 90일 만에는 0.84%에 이르렀다.

이와 같이 共通적으로 3가지 試料의 peptide-N가 담금초기에 약간 증가하였다가 중간에 減減現象으로 最少值로 下落하였다가 다시 減增되는 경향은 재래식 메주나 개량식메주를 막론하고 메주발효시에 대두단백질이 分解되어 일차적으로 生成되었던 peptide-N이 amino-N, ammonia-N로 再分解되는 까닭으로 減少되었으며 된장발효 후기부터는 未分解大豆蛋白質이 계속 분해되어 나오는 까닭으로 약간씩 증가되는 때문이라고 해석된다.

이상의 시료들을 90일간 발효시키면서 경시적으로 조사분석한 각종 질소화합물의 消長을 PAA-N로 表示하면 Fig. 7, Fig. 8, 및 Fig. 9와 같다.

amino-N는 Fig. 8에서와 같이 시료 J의 경우 담근 후 10일만에 全增加率의 2/3 이상인 12.79%에서 37.10%로, K는 8.93%에서 23.36%로 증가하였으며 그 후로는 減增되어 J는 30일만에 46.27%로 頂點을 이루었고 60일까지 40.0%로 서서히 감소되어 90일까지 거의 변화가 없었고, K는 減增되어 60일만에 33.56%로 頂點을 이룬 다음 90일까지 별변화없이 지속되었다. 또한

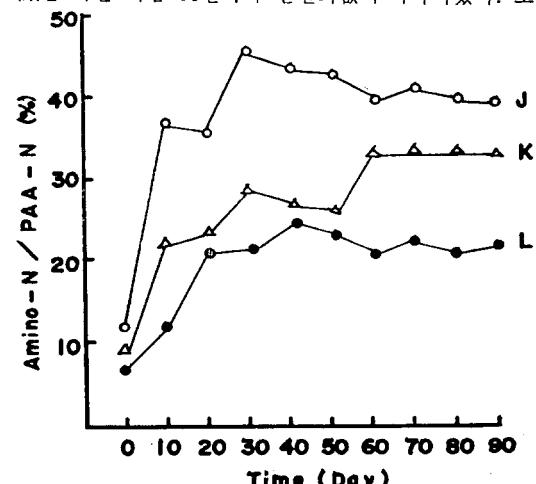


Fig. 7. Changes of Amino-N to PAA-N.

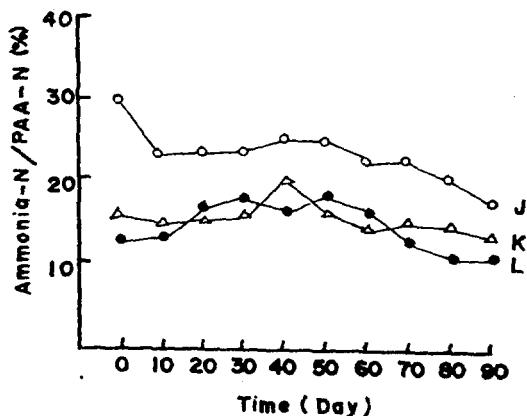


Fig. 8. Changes of Ammonia-N to PAA-N.

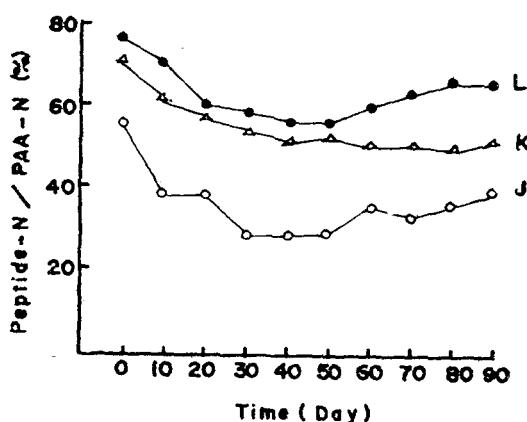


Fig. 9. Changes of Peptide-N to PAA-N.

시료L은 담금 후 40일 만에 7.85%에서 25.13%로頂點을 이루었고 60일까지 21.67%로漸減된 다음 90일까지는 별로 변화가 없었다.

이상의 변화와 Fig. 3의 PAA-N 및 Fig. 9의 peptide-N의動態를 참작하면 된장발효과정에서 각종 질소화합물의 변화는 담금기간 60일간에 거의終了되는 것으로여겨진다.

要 約

良質로 인정되는 在來式에주 1個群과, 大豆만의 原料와 *B. subtilis* sp. 單一菌으로 만든 改良에주 1個群, 및 大豆와 小麥의 混合原料(7:3)를 *A. sojae*로 만든 改良에주 1個群 등 3種의 味주시료로 된장을 담가서 90일간 발효시키면서 pH, 蛋白質分解酵素力 및 각종 질소화합물의 經時的 變化를 調査한 結果는 다음과 같다.

1. 된장발효중의 pH變化는 共通의으로 담금당시에는 pH6.45~6.75로 부터 담금 후 30일 만에 弱酸性인 pH

4.85~5.20으로 되어 이 후 90일 경과하기까지 變化없이一定值를 유지하였다.

2. 蛋白質分解酵素力은 3가지 시료가 共通의으로 담금초부터 계속 증가하여 30일 경과 후 147(J), 112(K), 및 52(L)로써 최고치를 보였다가 점차로 減少되어 在來式에주 J와 改良式에주 K는 발효 20일부터 각각 23.5, 20.5로 되고 改良式에주 L은 40일부터 18.0으로 되어, 90일까지 거의 變化가 없었다. 또한 在來式에주 J와 改良式에주 K는 pH7.0에서 가장活性이 컸으며 改良式에주 L은 pH10.0에서活性이 가장 컸다.

3. PAA-N은 3가지 시료가 모두 거의 같은 비율로 점증하였다가 시료 J와 K는 발효 60일 만에 1.55%, 1.49%로써 最高值를 나타내고, 시료 L은 80일 만에 1.28%로써 최고치가 되어 90일까지 持續되었다.

4. amino-N의 발효과정중의 消長은 試料 J의 경우 발효 50일 만에 0.36%로써, 試料 K와 L은 40일 만에 0.29와 0.21%로써 최고치를 나타냈다가 점차 감소하여 90일 후에는 각각 0.28%, 0.20% 및 0.14%로 되었다.

5. Ammonia-N은 *B. subtilis* sp. 단일균으로 발효시킨 試料 K에서 그生成量이 가장 많았고, 小麥을混用하여 *Asp. sojae*로 발효시킨 알메주시료 L이 가장 적었다.

6. Peptide-N은 試料 J는 담금초의 0.49%에서 발효 20일까지 약간 증가되어 0.51%로 되었다가 30일 만에 0.39%로 최소치를 이루었고 다시增加되어 90일 만에 0.64%로 되었다. 試料 K는 담금초에 0.83%에서 발효 10일 만에 0.85%로 증가되었고 점점 감소되어 40일 만에 0.73%까지 되었다가 다시漸增, 90일 만에는 0.82%를 보였다. 또한 試料 L은 담금초에 0.60%에서 발효 10일 만에 0.74%로 증가되었다가 점감소되어 0.62%로最少值를 이루었고 다시 증가되어 90일 만에는 0.86%가 되었다.

7. 窒素化合物의 變化는 60일이면 거의完了되는 것으로 보여진다.

參 考 文 獻

- 許鈴, 崔春熙; 中央化學研究所報告, 5, 19(1956).
- 張智鉉; 서울農業大學論文集, 1, 21(1963).
- 竹内德勇; 日本醸酵工學雜誌, 40, 375(1962).
- 竹内德勇; 日本醸酵工學雜誌, 40, 379(1962).
- 竹内德勇; 日本醸酵工學雜誌, 44, 934(1966).
- 竹内德勇; 日本醸酵工學雜誌, 45, 29(1967).
- 竹内德勇; 日本醸酵工學雜誌, 45, 34(1967).
- 本藤智, 望月務; 日本食品工業學會誌, 15, 414(1963).

- 968).
9. 大内一朗, 望月務; 日本食品工業學會誌, 15, 418 (1968).
 10. 本藤智, 大内一朗, 望月務; 日本食品工業學會誌, 16(4), 155(1969).
 11. 朴啓仁; 韓國農化學會誌, 15, 1(1972).
 12. 金明燦; 慶尙大論文集, 15, 1(1976).
 13. 李甲湘, 鄭東孝; 韓國食品科學會誌, 5, 163(1973).
 14. 尹鎰燮, 金顯五, 尹世億, 李甲湘; 慶熙大產業科學技術研究論文集, 4, 46(1976).
 15. 林實; 食品營養學實驗書, 理工學社, p.3 (1973).
 16. 赤堀四郎編; 酵素研究法(1), 朝倉書店, p.164 (1957).
 17. 赤堀四郎編; 酵素研究法(2), 朝倉書店, p.238(1957).
 18. 京都大學農學部編; 農藝化學實驗書(2), 產業圖書, p.674 (1957).
 19. 東京農工大學食糧化學教室編; 食品學實驗法, 朝倉書店, p.19 (1970).
 20. 京都大學農學部編; 農藝化學實驗書(1), 產業圖書, p.131 (1967).
 21. 朴啓仁; 慶熙大產業大學論文集, 1, 27(1973).
 22. 金明燦; 晉州農大論文集, 6, 1(1971).
 23. 福山達彦; 日本釀造協會誌, 59, 764(1964).
 24. 那須野精一; 日本釀造協會誌 56, 13(1961).
 25. 金性植; 韓國農化學會誌, 2, 23(1961).
 26. 朱鉉圭; 韓國食品科學會誌, 4, 276(1972).