

## Monascus pilosus 코오지로 담근 간장의 품질 특성

박미자 · 김미정\* · 이윤경 · 김순동

대구가톨릭대학교 식품공학과

\*신성대학 호텔식품계열

### Quality of Soy Sauce Brewed by *Monascus pilosus* Soybean Koji

Mee-Za Park, Mee-Jung Kim, Yoon-Kyung Lee and Soon-Dong Kim

Department of Food Science and Technology, Taegu Catholic University

\*Department of Food Service and Industry, Shin-Sung College

#### Abstract

This study was conducted to evaluate the quality characteristics of different soy sauces. The soybean sauces brewed by the *A. oryzae* koji(SAO), *M. pilosus-1* koji(SMP) and the mixture of 50% *A. oryzae* koji and 50% *M. pilosus-1* koji(SAM) during 90 days fermentation. Total nitrogen contents of the SAM, SAP and SMP were 1.36%, 1.15% and 1.22%, respectively. Content of amino type nitrogen in SAM was 0.78%, and the content was higher than those of SAO and SMP. Total free amino acid contents of SAO, SMP and SAM were 533.8, 732.4 and 807.3 mg/100 mL. The highest contents of free amino acids were glutamic acid(65.20 mg/100 mL) in SAO, alanine(101.42 mg/100mL) in SMP, glutamic acid(130.52 mg/100 mL) in SAM. The highest activities of protease and  $\beta$ -amylase showed in SAM, and the lowest activities of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase were in SAO and SMP, respectively. Hue angle values showed 56.3 in SAO, 29.0 in SMP and 32.2 in SAM. Monacolin K contents, as inhibitor of cholesterol bio-synthesis were 6.21  $\mu$ g/mL for SMP and 3.10  $\mu$ g/mL for SAM, and the inhibitory activities of SMP and SAM against HMG-CoA reductase were 21.5 and 10.2%, respectively. Sensory scores for color, flavor, savory taste and overall taste of SAM was higher than those of SAO and SMP.

Key words : *Monascus pilosus-1*, koji, soy sauce

## 서론

우리나라의 전통간장은 콩을 자연 발효시켜 만든 메주에 소금물을 가하여 수개월간 발효시킨 후 여과하고 건더기는 된장으로, 여액은 간장으로 사용되어 왔다. 최근에는 *A. oryzae*를 증자한 콩에 접종하여 단기간에 코오지를 발효시켜 된장과 간장을 분리하여 담그는 개량식 장류를 제조하는 사례가 늘고 있으며, 동충하초, 녹차, 한방약재류 등을 첨가하여 품질향상은 물론 기능성을 부여한 제품들이 시판되고 있다. *Monascus*속 곰팡이를 번식시킨 코오지(이하 *Monascus* 코오지)는 붉은 색을 함유하여 홍국(ang-kak)이라 하며 중국, 일본, 인도네시아 등 동아시아 국가들에서 홍주, 홍두부, 콩 치즈 및 발효생선 등의 제조에 이용되어 왔으며(1), anka, ang-quak, anka koji, beni koji 등으로 불리어 지고 있다(2).

자색에서 적색에 이르는 천연색상을 지녀 식·음료의 착색제로 사용되는 외에도 체내 콜레스테롤의 생합성을 저해시키는 monacolin 유도체들이 함유되어 있어 의약품 또는 건강보조식품을 위한 신소재로써 각광받고 있다(3, 4). 우리나라에서도 *Monascus* 코오지를 이용한 장류제조에 관한 연구가 이루어지고 있는데 Kim과 Rhyu(5)는 *M. ruber*를 이용한 코오지가 된장의 이화학적 특성에 미치는 영향에 대하여 보고하였고, Kim 등(6)은 *Monascus* 코오지를 이용한 색소생성에 관한 연구를 행한 바 있다. 그러나 *Monascus*속 곰팡이의 대부분은 이들 전통발효식품에 적합한 자적색 계통의 색소를 생성하지 못하므로 코오지 제조용으로 이용되지 않고 있으며, *M. purpureus*의 몇몇 종이 주로 사용되고 있다(7). 최근, *Monascus* 코오지의 주요 기능성으로 콜레스테롤 생합성을 저해하는 효과가 알려지면서 원인물질인 monacolin K의 생성력이 높은 *M. pilosus* 균주를 이용한 다양한 발효식품에 관한 연구가 요망되고 있다(8). 현재 *Monascus*속 곰팡이를 이용한 코오지 제조의 원료로는 쌀을 사용하고 있으나 우리나라 전통의 간장 및 된장 제조에서는 콩을 주원료로 사용

Corresponding author : Soon-Dong Kim, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan, Gyungbuk 712-702, Korea  
E-mail : kimsd@cuth.cataegu.ac.kr

하고 있다.

본 연구에서는 기능성 간장제조에 일환으로 monacolin K를 생산하는 *Monascus*속 곰팡이를 이용하여 만든 콩 코오지를 사용하여 간장을 제조하였으며 황국으로 제조한 일반 간장과 품질을 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

콩은 경북 안동에서 생산된 은하 콩(*Glycine max* Merr.)으로 효성푸드텍에서 제공받았으며, 쌀은 일반 백미를, 소금은 한주소금을 사용하였다.

### 사용균주

균주는 *M. pilosus* KCCM 60084를 활성화시킨 *M. pilosus*-1을 사용하였고, *A. oryzae*는 장류용으로 판매하고 있는 황국종균을 종균상회(대구향료)에서 구입하여 사용하였다.

### *M. pilosus*-1의 종균 배양

*M. pilosus*-1의 종균 배양은 PDY배지(potato extracts 40 g, dextrose 200 g, yeast extracts 5 g, agar 15 g, distilled water 1 L)에서 배양한 균주를 GP 액체배지(glucose 50 g, peptone 20 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  2 g, NaCl 1 g, distilled water 1 L, pH 6.6)에 이식하여 30°C에서 300 rpm으로 10일간 배양하였다.

### *M. pilosus*-1 콩 코오지의 제조

콩코오지 제조용 종균은 *M. pilosus*-1을 백미에 번식시켜 사용하였다. 즉, 백미를 24시간 수침한 후 30×60 cm의 propylene bag에 1 kg 씩 담고 autoclave(120°C)에서 1시간 동안 증자한 다음 종균 배양액( $10^6$  cells/mL)을 10% (v/w)되게 골고루 혼합하여 30°C에서 10일간 배양하였다. 다음에 40°C에서 충분히 건조시킨 후 60 mesh로 분쇄하여 종균으로 사용하였다. 콩은 8시간 동안 수침한 콩을 propylene bag에 1 kg씩 담아 120°C에서 30분간 증자하였으며, 냉각 후 종균을 15%(v/w) 되게 첨가하여 30°C에서 10일간 배양하였으며 70°C에서 수분이 13.5%가 될 때까지 건조시켜 낱알형태의 코오지를 제조하였다.

### *Aspergillus* 콩 코오지의 제조

상기와 동일한 방법으로 증자, 냉각한 낱알형태의 콩에 *A. oryzae* 콩 종균을 0.2% (w/w)되게 첨가하여 잘 혼합한 다음 사방으로 구멍이 뚫린 플라스틱 바구니(35×45×8 cm)에 1

kg 씩 넣어 25~39°C에서 50시간 동안 배양하였다. 다음에 40°C의 건조기에서 수분이 13.5%가 될 때까지 건조시켜 코오지로 사용하였다.

### 간장담금

간장의 담금은 Table 1에서와 같이 *A. oryzae* 콩 코오지로 담금한 것(SAO), *M. pilosus*-1 콩코오지로 담금한 것(SMP), 상호 50%씩 혼합한 것(SAM)의 3종류로 구분하였으며 망사로 된 그물망에 넣어 재래독에 담금하여 25°C에서 90일간 숙성시키면서 15일 간격으로 저어주었다. 숙성이 완료된 간장은 가열살균을 대신하여 코오지가 든 망을 건져낸 후 여과면을 사용하여 1차 여과시킨 후 분자량 30,000이상을 제거시키는 membrane filter(SKVF 30-103, Sunkyong Inc. Korea)로 여과하였다.

Table 1. Materials of soy sauces

Materials	SAO <sup>1)</sup>	SMP <sup>2)</sup>	SAM <sup>3)</sup>
AOK(g) <sup>4)</sup>	2240	0	1120
MPK(g) <sup>3)</sup>	0	2240	1120
NaCl(g)	2000	2000	2000
Water(mL)	8000	8000	8000

<sup>1-5)</sup>Abbreviations : SAO, soy sauce brewed by *A. oryzae* koji; SMP, soy sauce brewed by *M. pilosus*-1 koji; SAM, soy sauce brewed by the mixture of 50% *A. oryzae* koji and 50% *M. pilosus*-1 koji; AOK, *A. oryzae* koji; MPK, *M. pilosus*-1 koji.

### pH와 수분함량

pH는 pH meter(Metrohm 632, Swiss)로, 수분함량은 적외선 건조기(IRD-250, Woori Sci. Co., Korea)를 사용하여 측정하였다.

### Protease 활성

Protease 활성은 Hakhara(9)의 방법에 준하여 기질 카제인 1.5% 함유하는 mcllvine 완충용액(0.2 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 와 0.1M citric acid 혼합액, pH 7.0) 1 mL, 1.5 mM disodium EDTA 용액 1 mL 및 간장덧 여과액 1 mL의 혼합액을 30°C에서 10분간 반응시켰다. 다음에 0.4 M TCA(trichloro acetic acid)용액 3 mL을 가하여 반응을 정지시켰으며 여액 2 mL과 0.55 M sodium carbonate 용액 5 mL 및 Folin 시약 3 mL을 혼합하여 정색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 효소용액을 첨가하기 전에 TCA용액을 처리한 것으로 하였다. 효소활성 단위는 건조코오지 1 g이 1분 동안 작용하여 생성하는 tyrosine mg으로 하였으며 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### $\alpha$ -Amylase 활성

$\alpha$ -Amylase 활성은 Shingi(10)의 방법에 따라 soluble starch 를 0.02 M phosphate 완충용액(pH 6.9)에 1% 되게 녹인 기질 용액 1 mL에 간장덧 여과액 1 mL을 가하여 40°C에서 30분 간 반응시킨 후 1 M acetic acid 용액 10 mL을 가하여 반응을 정지시켰다. 다음에 1/3000 N KI 용액 10 mL을 가하여 정색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 단위는 코오지 1 g이 1분 동안 대조구 흡광도 값을 10% 감소시키는 값을 1 단위로 하였다.

### $\beta$ -Amylase 활성

$\beta$ -Amylase 활성도는 DNS법(11)으로 측정하였다. 즉, 0.5% soluble starch를 함유하는 0.4 M acetic acid 완충용액(pH 4.8) 1 mL에 간장덧 여과액 1 mL을 가하여 30°C에서 30분간 반응시켰다. 다음에 DNS 시약 3 mL를 가한 후 비등 수욕조에서 5분간 끓여 정색시켰으며, 535 nm에서 흡광도를 측정하여 표준품 maltose의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다. 효소활성은 코오지 1 g이 1분 동안 생성한 maltose mg으로 하였다.

### Glucosylase의 활성

Glucosylase의 활성도는 상기  $\beta$ -amylase의 활성도 측정과 동일한 방법으로 반응시킨 후 생성된 glucose 함량을 측정하였다. 효소활성 단위는 코오지 1 g이 1분 동안 반응하여 생성한 glucose mg으로 나타내었다.

### 총 질소, 아미노태질소 및 암모니아태 질소

총 질소량은 Kjeldahl 법(12), 아미노태질소는 ethanol법(13), 암모니아태 질소는 간장분석법(14)에 준하여 측정하였다. 즉, 아미노태질소는 원심분리하여 침전을 제거시킨 간장 5 mL에 90% ethanol 용액 20 mL을 가한 후 0.05 N NaOH 용액으로 적정하여 소비된 NaOH의 양으로 함량을 산출하였으며, 암모니아태 질소는 간장 10 mL에 30% NaOH 5 mL를 가하여 증류장치에서 5분간 증류하여 발생한 암모니아 가스를 3% boric acid로 포집하여 0.02 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 적정하여 산출하였다.

### 유리 아미노산

원심분리한 간장 상정액을 lithium citrate buffer로 10배 희석한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(L 8800 Hitachi, Japan)로 분석하였다.

### 환원당

환원당 함량은 DNS법(11)으로 측정하여 glucose 량을 나타내었다.

### 색상

색차계(Minolta CR-200, Japan)를 이용하여 L, a, b 및 hue angle을 측정하였다.

### Monacolin K 함량

Endo(15)의 방법에 따라 간장 100 mL에 ethyl acetate 200 mL을 가하여 10시간 동안 추출 후 감압건조기를 사용하여 용매를 제거하였다. 잔사는 benzene에 녹여 여과한 후 여액을 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 2회 세척하고 동량의 0.2 N NaOH와 혼합하여 실온에서 2시간 방치하였다. 다음에 HCl로 pH를 3.0으로 조절한 후 ethyl acetate로 추출하였다. 추출물의 용매를 제거시켜 benzene에 녹인 후 acetone을 가하여 monacolin K의 결정을 얻었다. 이 결정은 메탄올에 녹여 238 nm에서 흡광도를 측정하였다. 함량은 상기 조작을 반복하여 얻은 결정체를 표준품으로 사용하여 얻은 검량선(monacolin  $\mu$ g/mL = 188.68 x OD<sub>238</sub> + 5.85, r=0.9980)에 의하여 함량을 구하였다.

### HMG-CoA reductase 활성

Shapiro 등(16) 및 Hulcher와 Oleson(17)의 방법을 기본으로 행하였다. 즉, 효소반응액은 50 nM <sup>14</sup>C-HMG-CoA(specific activity : 2.1083 GBq/mM) 7.4  $\mu$ l, 500 nM NADPH 용액 5  $\mu$ l에 간장시료(간장을 ethyl acetate로 추출, 용매를 제거시킨 후 하기의 추출용 완충용액에 현탁시킨 용액) 10  $\mu$ l과 0.02 nM EDTA 및 2 nM dithiothreitol을 함유하는 pH 7.4의 0.1 M triethanolamine 완충용액(이하 추출용 완충용액) 27.6  $\mu$ l를 가한 후 37°C의 water bath에서 5분간 예열하고 마지막으로 효소원으로 microsome용액 10  $\mu$ l를 vortex 상에서 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 다음에 10 N HCl 용액 15  $\mu$ l을 vortex상에서 가하여 37°C에서 15분간 두어 반응을 정지시켰다. 반응액은 4°C, 10,000 xg로 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었으며, 실리카겔 60 F<sub>254</sub>, 벤젠:아세톤 (1:1, v/v)의 TLC 시스템으로 분리하였다. 표준품 mevalonate를 함께 전개시켜 Phospho Image Analyzer(MacBas 1000, Fuji)에 의하여 확인된 mevalonate를 절취하여 scintillation counter(Packard Tricarb 1600 TR, Packard, Australia)로 방사선 활성을 계측하였다. 활성 units는 분당 microsome protein 1 mg이 생성하는 mevalonate의 p mole로 하였다. 단백질은 Lowry 등(18)의 방법에 준하여 측정하였으며 bovine serum albumin의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다. 효소원 microsome은 토끼의 간 조직을 4배 용량의 추출용 완충용액(pH 7.4)으로 균질화시킨 후 2회에 걸쳐 4°C, 10,000 xg에서 15분 동안 원심분리하여 상정액을 얻었다. 이 액을 100,000 xg에서 1시간 동안 초원심분리하여 잔사를 얻었으며 잔사는 다시 추출용 완충용액 1 mL에 현탁시켜 사용하였다.

관능검사

훈련된 관능요원 10명에 의하여 5점 채점법(19)으로 평가하였다. 즉, 색상, 냄새, 종합적인 기호도는 아주 좋다(5점), 좋다(4점), 보통이다(3점), 나쁘다(2점), 아주 나쁘다(1점)로 평가하였으며, 구수한 맛, 짠맛, 단맛, 신맛은 아주 강하다(5점), 강하다(4점), 보통이다(3점), 약하다(2점), 아주 약하다(1점)로 채점하였다. 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다.

결과 및 고찰

pH의 변화

*A. oryzae*로 발효시킨 코오지로 담근 간장(SAO)과 *M. pilosus*-1으로 발효시킨 코오지로 담근 간장(SMP) 및 두 코오지를 각각 50%씩 혼합하여 담근 간장(SAM)의 숙성 과정에서 pH의 변화를 조사한 결과(Fig. 1), 담금일에는 다같이 5.90~5.94 범위였으며 숙성기간의 경과에 따라 일시적으로 증가하였다가 감소하는 경향을 보였다. 숙성기간 중의 pH 감소율은 SMP>SAM>SAO 순서로 SMP에서 가장 높았다. 간장 숙성중의 pH 감소현상은 Lee와 Koh(20)의 *A. sojae*를 이용한 개량식 간장에서 나타나고 있으며, Kim(21)의 *A. oryzae* 메주로 담근 간장에서도 나타나 본 실험의 결과와 동일한 경향을 보였다. 그러나 Kim(21)은 메주의 오염이 심할수록 간장 숙성중의 pH감소가 현저하다고 하였으며, 심할 경우 pH가 4.80~4.95 범위에 도달할 수도 있다고 보고하였다. *M. pilosus*-1 코오지로 담근 간장인 SMP는 그 제조기간이 8~10일로서 증자공에서 번식률이 높은 세균들이 번식한 때문이 아닌가 생각된다.

질소 및 유리아미노산 함량

SAO, SMP 및 SAM의 숙성 중 총 질소 함량(Fig. 1)은 처리구 다같이 숙성 30일까지는 급속히 증가하는 경향을 보였으나 60일 이후는 완만하게 증가하였고 60일 이후 90일까지는 다소 감소하거나 60일째의 수준을 유지하는 양상을 나타내었다. 숙성이 완료된 90일째 간장의 총 질소함량은 SAM>SMP>SAO 순서로 각각 1.36, 1.22 및 1.15%이었다. 아미노태 질소와 암모니아태 질소함량(Fig. 1) 역시 총 질소함량과 동일한 경향으로 SAM에서는 각각 0.78 및 0.19%, SMP에서는 각각 0.71 및 0.16%, SAO에서는 각각 0.42 및 0.13% 이었다. SAM은 *A. oryzae*로 만든 코오지와 *M. pilosus*-1으로 만든 코오지를 50:50의 비율로 담근 간장으로 *A. oryzae* 코오지로 담근 간장인 SAO와 *M. pilosus*-1 코오지로 담근 간장인 SMP에 비하여 총질소는 물론 아미노태 질소함량이 높았다. 간장의 질소함량은 코오지의 protease활성

과 밀접한 관련이 있으며(8), 간장 품질의 주요 지표성분이다. 또, 간장의 총 질소함량은 메주의 경우는 그 형태에 따라서 차이를 보일 뿐만 아니라 사용 균주에 따라서 상당한 차이가 있고 국수형이 낱알이나 벽돌형에 비하여 높은 것으로 알려져 있다. 90일간 숙성시킨 SAO, SMP 및 SAM의 유리아미노산 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 간장 100 mL당 총 유리아미노산의 함량은 SAO, SMP 및 SAM에서 각각 533.8, 732.4 및 807.3 mg으로 SMP와 SAM은 SAO보다 각각 37 및 51%가 높았다. SAO에서 함유율이 높은 아미노산은 glutamic acid>leucine>arginine으로 60.05~65.20 mg/100 mL을 함유하였으며, SMP에서는 alanine> leucine>glutamic acid로 74.20~101.42 mg/100 mL, SAM에서는 glutamic acid>alanine>leucine으로 87.46~130.52 mg/100 mL으로 간장의 종류에 따라서 아미노산별 함량의 차이를 나타내었다. SAO에서는 Kim과 Kim(22)이 보고한 재래식 간장의 총 유리아미노산 함량과 대등한 수치를 보였으며 특히, *A. oryzae* 코오지와 *M. pilosus*-1 코오지를 혼합하여 담근 간장인 SAM은 이들 간장에 비하여 품질이 양호함을 나타내었다.

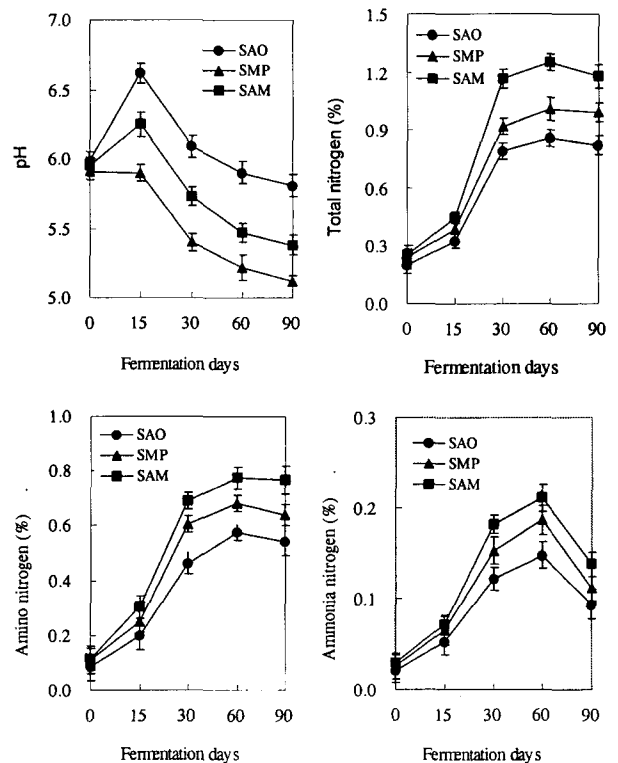


Fig. 1. Changes in pH, contents of total nitrogen, amino nitrogen and ammonia nitrogen in soy sauces during fermentation.

Abbreviations are the same as described in Table 1. Values are mean ± SD of triplicates.

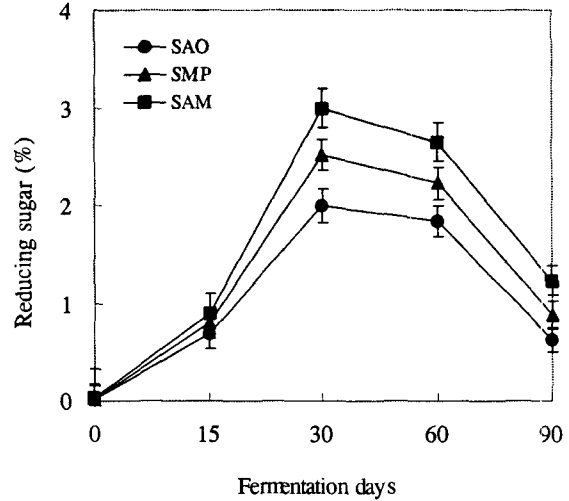
**Table 2. Contents of free amino acids in soy sauce brewed by *M. pilosus*-1 koji for 90 days**

Amino acids	Soybean sauces		
	SAO <sup>1)</sup>	SMP <sup>2)</sup>	SAM <sup>3)</sup>
Aspartic acid	9.32	9.68	13.25
Threonine	25.57	19.87	28.12
Serine	23.02	11.55	24.07
Glutamic acid	65.20	74.20	130.52
Proline	13.50	45.67	45.10
Glycine	12.45	14.48	18.88
Alanine	48.64	101.42	90.80
Cystine	0.33	0.12	0.10
Valine	38.89	72.25	67.82
Methionine	12.40	15.40	16.84
Isoleucine	35.84	56.34	54.36
Leucine	61.15	92.45	87.46
Tyrosine	32.07	52.78	49.03
Phenylalanine	38.62	68.75	64.05
Lysine	45.71	51.49	60.82
Histidine	11.03	13.51	14.55
Arginine	60.05	32.40	41.49
<b>Total</b>	<b>533.79</b>	<b>732.36</b>	<b>807.26</b>

<sup>1-3)</sup> Abbreviations are the same as described in Table 1. All values are three pooled samples.

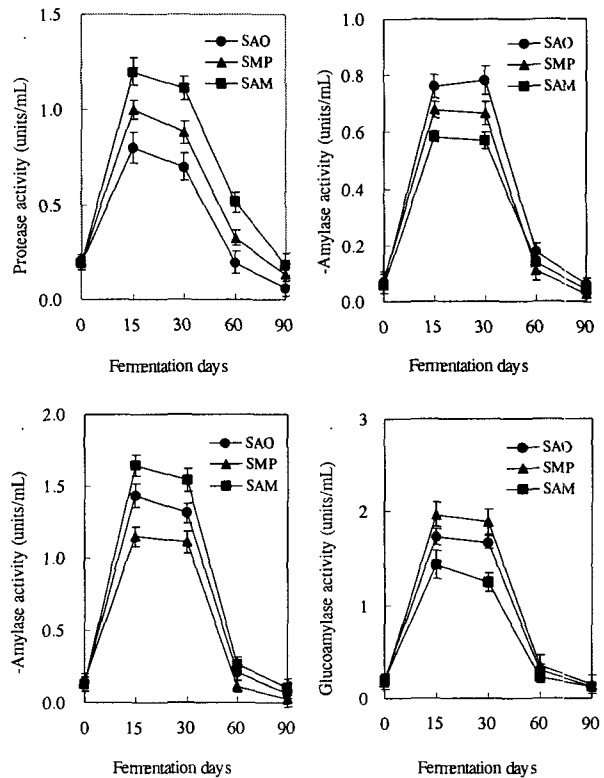
**환원당**

간장 덩의 환원당 함량의 변화를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 숙성기간이 경과됨에 따라 처리구 모두 30일째까지는 증가율이 SAM>SMP>SAO 순서로 나타났으나 그 이후 90일째까지는 감소하는 경향을 나타내었다. SAM과 SMP에서 환원당의 증가율이 높은 것은 *Monascus pilosus*-1 콩 코오지 제조시 *Monascus pilosus*-1을 번식시킨 쌀 코오지 분말을 첨가하여 탄수화물의 농도가 높음과 동시에  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase, 및 glucoamylase 등의 효소가 숙성 후반기까지 작용하는 때문이라 생각된다. 또, 숙성 후기에는 효소류에 의하여 생성되는 양에 비하여 간장 덩에 존재하는 미생물들의 영양원으로 소모되는 양이 크기 때문으로 Chung 등(24)이 간장의 숙성 중 환원당 함량의 변화 경향과 일치한다. 그러나 Kim(21)은 *A. oryzae*와 *A. sojae* 코오지로 담근 간장의 숙성 중 환원당 함량을 조사한 결과 숙성 10일째부터 감소하고 숙성 20일째 이후는 검출되지 않는다고 하여 본 연구의 결과와 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 코오지의 효소작용에도 불구하고 세균의 발효작용이 상대적으로 높기 때문에 나타난 결과로 이들 연구에서 숙성덩의 pH가 본 실험에서 보다 전반적으로 낮은 데서도 그 원인을 찾을 수 있다.



**Fig. 2. Changes in reducing sugar contents of soy sauces during fermentation.**

Abbreviations are the same as described in Table 1. Values are mean  $\pm$  SD of triplicates.



**Fig. 3. Changes in enzymes activities of soybean sauces during fermentation.**

Abbreviations are the same as described in Table 1. Values are mean  $\pm$  SD of triplicates.

**효소활성**

간장 덩의 숙성 중 protease,  $\alpha$ -amylase,  $\beta$ -amylase 및 glucoamylase의 활성의 변화를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 이

들 효소의 활성은 숙성의 경과에 따라 발효 15일째까지는 증가하였으며 그 이후 90일까지는 모두 감소하는 경향을 나타내었다. 간장 숙성 중 protease는 단백질을 분해시켜 맛 성분인 아미노산을 생성하며 α-amylase, β-amylase 및 glucoamylase는 탄수화물을 분해시켜 당류를 생성함으로써 간장발효의 주축을 이룬다. 간장숙성 중 protease의 활성은 SAM에서 가장 높게 유지되었으며 SAO에서 가장 낮았다. α-Amylase활성은 SAO>SMP>SAM 순서로 SAO에서 높은 반면 SAM에서 낮았으며, β-amylase의 활성은 SAM>SAO>SMP 순서로 SAM에서 높은 반면 SMP에서 낮았다. 또 glucoamylase의 활성은 SMP>SAO>SAM 순서로 SAM에서 낮았다. 특히 총 아미노산의 함량이 높은 SAM에서의 숙성 15일째 protease 활성은 대조군인 SAO보다 50%나 높은 활성을 나타내었다.

색상

간장의 숙성 중 색상의 변화를 조사한 결과는 Table 3과 같다. L, a 값은 숙성이 진행됨에 따라 간장 모두에서 증가하는 경향을 보였으며 증가율은 SAM>SMP>SAO 순서로 SAM에서 높았다. b값은 30일까지 증가하였다가 그 이후는 감소하였다. H°값은 숙성의 경과에 따라 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었으며 숙성 90일째의 값은 SAO 56.3, SMP 29.0, SAM 32.2로 SMP와 SAM이 SAO에 비하여 붉은 빛이 강했다. Chung 등(23)은 간장의 색상은 장 달이기 시 당의 카라멜화 반응에 의해서도 일어나지만 주로 코오지 제조, 간장의 숙성 및 장 달이기 시에 maillard 반응에 의하여 생성되는 것으로 보고하였다. 그러나 SMP나 SAM에서 적색도가 높은 것은 M. pilosus-1이 생성한 적색 색소에 기인된 현상이라 판단된다.

Table 3. Changes in color of soy sauces during fermentation

Color	Soybean sauces <sup>1)</sup>	Fermentation days				
		0	15	30	60	90
L	SAO	29.4±0.5 <sup>2)Bb</sup>	29.3±0.2 <sup>Bc3)</sup>	32.3±1.0 <sup>Cb</sup>	42.3±0.8 <sup>Ca</sup>	43.0±0.5 <sup>Ca</sup>
	SMP	35.0±0.9 <sup>Ad</sup>	35.6±0.5 <sup>Ac</sup>	40.6±0.2 <sup>Ab</sup>	47.8±0.5 <sup>Aa</sup>	48.8±0.8 <sup>Aa</sup>
	SAM	29.9±0.3 <sup>Bi</sup>	30.2±0.3 <sup>Bi</sup>	36.2±0.3 <sup>Bc</sup>	45.5±0.4 <sup>Bb</sup>	47.0±0.5 <sup>Bb</sup>
a	SAO	7.9±0.2 <sup>Cc</sup>	8.7±0.4 <sup>Cb</sup>	12.7±0.3 <sup>Aa</sup>	13.6±0.3 <sup>Ca</sup>	13.6±0.2 <sup>Ca</sup>
	SMP	10.3±0.2 <sup>Ac</sup>	11.7±0.4 <sup>Ad</sup>	13.3±0.3 <sup>Ac</sup>	17.4±0.4 <sup>Ab</sup>	18.5±0.5 <sup>Aa</sup>
	SAM	9.3±0.2 <sup>Bc</sup>	10.8±0.2 <sup>Bb</sup>	13.0±0.2 <sup>Ab</sup>	16.3±0.2 <sup>Bi</sup>	16.8±0.2 <sup>Bb</sup>
b	SAO	6.7±0.3 <sup>Cc</sup>	15.4±0.3 <sup>Cb</sup>	21.3±0.5 <sup>Bb</sup>	19.6±0.4 <sup>Aa</sup>	19.9±0.3 <sup>Aa</sup>
	SMP	12.4±0.1 <sup>Ac</sup>	20.1±0.3 <sup>Bb</sup>	26.4±0.6 <sup>Aa</sup>	13.1±0.2 <sup>Bd</sup>	14.3±0.2 <sup>Bc</sup>
	SAM	11.0±0.2 <sup>Bc</sup>	23.6±0.2 <sup>Ab</sup>	27.5±0.3 <sup>Aa</sup>	10.8±0.1 <sup>Cc</sup>	10.6±0.1 <sup>Cc</sup>
H°	SAO	75.3±1.2 <sup>Aa</sup>	68.6±0.9 <sup>Ab</sup>	62.3±0.7 <sup>Ac</sup>	59.3±0.5 <sup>Ad</sup>	56.3±1.2 <sup>Ac</sup>
	SMP	57.4±0.3 <sup>Ca</sup>	45.9±0.3 <sup>Cb</sup>	34.6±0.4 <sup>Cc</sup>	31.4±0.5 <sup>Bd</sup>	29.0±0.4 <sup>Bc</sup>
	SAM	66.5±1.1 <sup>Bb</sup>	53.8±0.9 <sup>Bb</sup>	45.0±1.1 <sup>Bc</sup>	34.5±0.9 <sup>Bd</sup>	32.2±0.9 <sup>Bd</sup>

<sup>1)</sup>Abbreviations are the same as described in Table 1. <sup>2)</sup>Values are mean±SD of triplicates and the different letters<sup>3)</sup> in the same columns(A-C) and rows (a-e) indicates significantly different at p<0.05.

Monacolin K의 함량

90일간 숙성시킨 SAO, SMP 및 SAM 내의 monacolin 함량을 조사한 결과(Table 4), A. oryzae 코오지로 담근한 간장인 SAO에서는 monacolin K가 검출되지 않았다. 그러나 M. pilosus-1 코오지로 담근한 간장인 SMP에는 6.21µg/mL을 함유하였으며, A. oryzae 코오지와 M. pilosus-1 코오지를 50:50의 비율로 혼합하여 담근 간장인 SAM에는 SMP의 약 50%인 3.10 µg/mL을 함유하였다. Monacolin K는 체내 콜레스테롤 합성을 조절하는 HMG-Co A reductase를 저해하는 물질로서 Monascus 속 곰팡이류가 생성하는 것으로 알려져 있다(4).

Table 4. Contents of monacolin K in soy sauces fermented for 90 days

	Soybean sauces		
	SAO <sup>1)</sup>	SMP <sup>2)</sup>	SAM <sup>3)</sup>
Contents(µg/mL)	0.00±0.00 <sup>4)c</sup>	6.21±0.12 <sup>a5)</sup>	3.10±0.24 <sup>b</sup>

<sup>1-3)</sup>Abbreviations are the same as described in Table 1. <sup>4)</sup>Values are mean±SD of triplicates and the different letters in the same rows(a-c)<sup>5)</sup> indicates significantly different at p<0.05.

HMG-CoA reductase의 저해활성

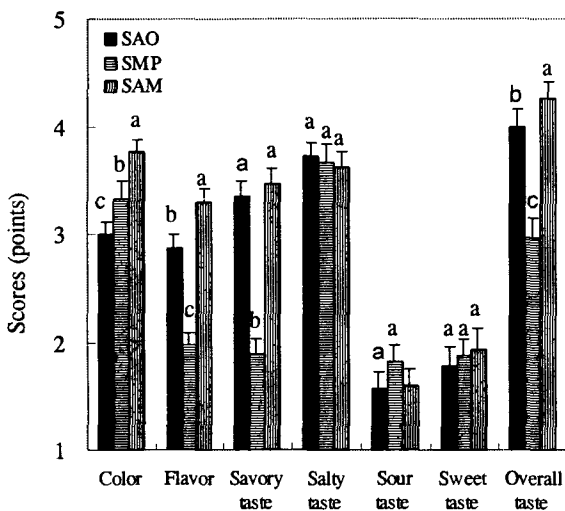
M. pilosus-1 코오지로 90일간 숙성시킨 간장인 SMP와 M. pilosus-1 코오지 50: A. oryzae 코오지 50의 비율로 혼합하여 담근 간장인 SAM의 HMG-CoA(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) reductase에 대한 저해활성에 미치는 영향을 조사하였다(Table 5). 그 결과 SMP는 대조군 간장인 SAO에 대하여 21.5%의 저해율을 나타내었으며 SAM은 10.2%의 저해활성을 보였다. HMG-CoA reductase는 체내 콜레스테롤 합성 과정에 관여하는 주요 효소로서 NADPH 2분자가 2개의 전자를 제공함으로써 HMG-CoA가 mevalonate로 전환된다. Monacolin K는 HMG-CoA보다 C=O결합이 하나 더 많은 물질로 HMG-CoA보다 먼저 환원되어 mevalonate로 됨으로서 체내 콜레스테롤 생성을 저해한다(24). 한편, 콜레스테롤은 세포막의 구성성분인 동시에 담즙산 및 스테로이드호르몬의 전구체로서 체내에서 없어서는 안될 중요한 성분이다(25). 그러나 과잉이 되면 동맥경화, 고혈압, 협심증, 심근경색, 뇌혈전, 뇌경색 등의 질환을 일으키는 원인이 되고 있다(26). 체내콜레스테롤을 제어하는 방법으로는 식으로부터 섭취하는 콜레스테롤을 제한하는 영양학적인 방법과 체내에서의 콜레스테롤 합성을 조절하는 방법이 있으며, 이 중에서 체내 콜레스테롤의 합성을 제어하는 방법이 적극적인 조절 방법으로 알려져 있다(27). 최근 콜레스테롤의 과잉으로 각종 질병에 시달리는 인구가 크게 증가하고 있어 콜레스테롤의 농도를 감소시킬 수 있는 연구가 활기를 띠고 있다. 즉, Qureshi 등(28)은 인삼이 혈청콜레스테롤 농도를 감소시킨다

고 보고하였으며, Qureshi 등(29)은 보리에 함유된 tocotrienol 이 HMG-CoA reductase 활성을 감소시켜 혈청콜레스테롤 농도를 낮춘다고 하였다. 또, Choi 등(30)은 복숭아 뿌리의 추출물이 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다고 하였다.

**Table 5. Inhibitory activity of the soy sauces fermented for 90 days against HMG- CoA reductase**

Soybean sauces <sup>1)</sup>	Activity of HMG-CoA reductase ( $\mu$ moles of mevalonate/min/ soybean sauce mL)	Inhibition rate(%)
SAO <sup>1)</sup>	101.5 $\pm$ 2.35 <sup>2a</sup>	0.0 <sup>3)</sup>
SMP <sup>2)</sup>	79.7 $\pm$ 1.08 <sup>c</sup>	21.5 <sup>d</sup>
SAM <sup>3)</sup>	91.2 $\pm$ 1.92 <sup>b</sup>	10.2 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Abbreviations are the same as described in Table 1. <sup>2)</sup>Values are mean $\pm$ SD of triplicates and the different letters in the same columns(a-c) <sup>3)</sup>indicates significantly different at p<0.05.



**Fig. 4. Sensory evaluation of soy sauces fermented for 90 days.**

Abbreviations in the figure are the same as described in Table 1. Values are mean $\pm$ SD of triplicates and the different letters in the same attribute(a-c) indicates significantly different at p<0.05. Savory, salty, sour and sweet taste were evaluated from very weak(1 point) to very strong(5 points). Color, flavor and overall taste were evaluated from very poor(1 point) to very good(5 points).

**관능검사**

90일간 숙성시킨 SAO, SMP 및 SAM의 관능검사 결과는 Fig. 4와 같다. 색상에 대한 기호도는 SAM이 SAO나 SMP에 비하여 양호하였다. 냄새의 경우도 SAM은 향긋한 냄새가 된 장고유의 냄새와 잘 조화되어 보통(3점) 이상의 평가를 받았으며, SMP는 SAO보다도 낮은 평가를 받았다. 맛난 맛은 SAM과 SAO는 3점 이상의 점수로 비슷하였으나 SMP는 2점 내외로 낮게 평가되었다. 짠맛은 처리간의 뚜렷한 차이를 보

이지 않았으며 신맛과 단맛 역시 처리간의 뚜렷한 차이없이 2점이하의 낮은 강도를 보였다. 종합적인 맛은 SAM이 4.25 점으로 SAO의 4.01보다 높은 평가를 받았으며 SMP는 2.98점으로 가장 낮았다. SAM에서 높은 평가가 된 것은 효소류의 활성이 높아 아미노산류와 당류를 비롯한 다양한 맛 성분의 함량이 높고 발효가 원만하게 진행된 때문이라 사료된다. 그러나 SMP는 총 아미노산의 함량이 높은데도 불구하고 SAO 보다 종합적인 맛의 평가치가 낮은 것은 *M. pilosus*-1이 생성한 색소성분이 쓴맛을 띠는 때문이 아닌가 사료된다.

**요 약**

*A. oryzae* 코오지로 담근 간장(SAO), *M. pilosus*-1 코오지 담근 간장(SMP) 및 이들 코오지를 50%씩 혼합하여 담근 간장(SAM)의 숙성 중 품질을 평가하였다. 90일간 숙성시킨 간장의 품질을 조사한 결과는 다음과 같다. pH는 SAO>SAM>SMP 순서로 SMP에서 가장 낮았다. SAO, SMP 및 SAM의 총 질소 함량은 각각 1.15, 1.22 및 1.36%로 SAM에서 가장 높았다. SAM의 아미노태 질소함량은 0.78%로 SAO 및 SMP보다 높았다. 총 유리아미노산 함량은 SAO, SMP 및 SAM에서 각각 533.8, 732.4 및 807.3 mg/100 mL 이었다. SAO에서는 glutamic acid(65.20 mg/100 mL), SMP에서는 alanine(101.42 mg/100 mL), SAM에서는 glutamic acid(130.52 mg/100 mL)의 함량이 가장 높았다. 간장 숙성 중 protease와  $\beta$ -amylase의 활성은 SAM에서 가장 높았으며,  $\alpha$ -amylase활성은 SAO에서, glucoamylase의 활성은 SMP에서 가장 낮았다. Hue angle 값은 SAO 56.3, SMP 29.0, SAM 32.2 이었다. SMP 및 SAM의 monacolin K의 함량은 각각 6.21 및 3.10  $\mu$ g/mL을 함유하였으며 HMG-CoA reductase에 대한 저해활성은 각각 21.5 및 10.2%를 나타내었다. 색상, 냄새, 맛난 맛 및 종합적인 맛은 SAM에서 비교적 양호하였다.

**감사의 글**

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 일부지원에 의한 것입니다.

**참고문헌**

1. Lee, S.T. (1979) The Anka, in Pen cha kan mu(Chinese herbal medicine). Yeh Book Co., Taipei, p.1518-1593
2. Palo, M.A., Vidal-Adeva, L. and Maceda, L. (1961) A

- study on ang-kak and its production. Philippines J. of Science, 89, 1-22
3. Endo, A. (1980) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. J. Antibiotics. XXXIII, 334-336
  4. Alberts, A.W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopen, M., Joshua, H., Harris, E., Patchett, A., Monaghan, R., Currie, S., Stapley, E., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteen, K., Liesch, J. and Springer, J. (1980) Mevinolin A high potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 77, 3957-3961
  5. Kim, E.Y. and Rhyu, M.R. (2000) The chemical properties of doenjang prepared by *Monascus* koji. Kor. J. Food Sci. Technol., 32, 1114-1121
  6. Kim, M.H., Lee, T.K. and Yang, H.C. (1992) Red pigment production from *Monascus anka albidus*. Kor. J. Food Sci. Technol., 24, 451-455
  7. Hesseltine, C.W. (1979) Microorganism involved in food fermentation in Tropical Asia. Proceedings of the international symposium on microbiological aspects of food storage processing and fermentation in Tropical Asia, December, Bogor, Indonesia, p.10-13
  8. Park, M.Z. (2001) Study on soy sauce preparation fermented by *Monascus pilosus* KCCM 60084. Dept. of Food Sci. and Technol. The Graduate School in Catholic Univ. of Daegu, Kyungsan, Korea
  9. Hakhara, B. (1956) Method of enzyme study. Samsu Publishing Company, Tokyo, p.237-238
  10. Shingi, Y.G. (1985) Soy sauce experiment. Japan Soy Sauce Research Institute, Tokyo, p.53-257
  11. Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem., 31, 426-427
  12. AOAC (1976) Official Methods of Analysis. 12th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. USA, p.927-929
  13. Hayashi, H.Y. (1993) Measurement of amino nitrogen in soy sauce by ethanol method. J. Japan Soy Sauce Res. Ins., 19, 129-130
  14. Japan Soy Sauce Tech Association (1966) Standard Analytical Method of Soy Sauce. Japan Soy Sauce Tech. Association, Tokyo, p.134-135
  15. Endo, A. (1979) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. J. Antibiotics. XXX II, 852-854
  16. Shapiro, D.J., Nordstrom, J.L., Rodwell, V.W. and Mitschelen, J.J. (1974) 3-Hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase in rat liver and in L-cell fibroblasts. Biochem. Biophys. Acta., 370, 369-371
  17. Hulcher, H. and Oleson, W.H. (1973) Simplified spectrophotometric assay for microsomal HMG-CoA reductase by measurement of coenzyme A. J. Lipid Res., 14, 625-631
  18. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, L.A. and Randal, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-267
  19. Herbert, A. and Joel, L.S. (1993) Sensory Evaluation Practices. 2nd ed., Academic Press, New York, p.62-64
  20. Lee, C.J. and Koh, H.S. (1976) Standardization of Korean soy sauce. Korean J. Food Sci. Technol., 8, 210-214
  21. Kim, S.S. (1978) Effect of meju shapes and strains on the quality of soy sauce. Korean J. Food Sci. Technol., 10, 63-72
  22. Kim, J.K. and Kim, C.S. (1980) The taste components of ordinary korean soy sauce. J. Kor. Agric. Chem. Soc., 23, 89-105
  23. Chung, K.M., Cho, S.W. and Kim, Z.U. (1981) A study on the color change of soy sauce. J. Korean Agri. Chem. Soc., 24, 200-205
  24. Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L. and Mitschelen, J.J. (1971) Regulation of HMG-CoA reductase. Adv. Lipid Res., 14, 1-4
  25. Siperstein, M.D. (1984) Role of cholesterologenesis and isoprenoid synthesis in DNA replication and cell growth. J. Lipid Res., 25, 1462-1466
  26. Anderson, K.M., Castelli, W.P. and Levy, D. (1987) Cholesterol and mortality. J. Am. Med. Assoc., 257, 2176-2179
  27. Endo, A. and Hasumi, K. (1985) Dihydromonacolin L and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. J. Antibiotics. XXXVIII, 321-327
  28. Qureshi, A.A., Burger, W.C., Peterson, D.M. and Elson, E., (1985) Suppression of cholesterologenesis by plant constituents : review of Wisconsin contributions to NC-167. Lipids, 20, 817-822
  29. Qureshi, A.A., Burger, W.C., Peterson, D.M. and Elson, C.E. (1986) The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. J. Biol. Chem., 261, 10544-10549
  30. Choi, J. S., Yokozawa, T. and Oura, H. (1991) Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. J. Natural Products, 54, 218-224