KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 49, No. 3, pp. 286~295 (2017)
https://doi.org/10.9721/KJFST.2017.49.3.286

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

황국곰팡이를 이용한 갈색거저리 발효액의 특성 및 조미소재 이용가능성 탐색

이지원 · 손양주 · 황인경 · 박효남[2] · 김수희[1,*]
서울대학교 생활과학대학 식품영양학과 · 생활과학연구소,
[1]경민대학교 호텔외식조리과, [2]세종사이버대학교 조리산업경영학과

Study of characteristics of *Tenebrio molitor* fermented liquids using *Aspergillus oryzae* as a flavoring material

Ji-Won Lee, Yang-Ju Son, In-Kyeong Hwang, Hyo-Nam Park[2], and Soo-Hee Kim[1,*]
Department of Food and Nutrition · Research Institute of Human Ecology, Seoul National University
[1]Department of Culinary Arts, Kyungmin University
[2]Department of Culinary Industry Business Administration, Sejong Cyber University

Abstract This study was performed to develop a liquid flavoring material from *Tenebrio molitor* larva by using *Aspergillus oryzae*. *T. molitor* with 1% *A. oryzae* for 48 hours yielded the highest protease activity. Different salt concentrations and rice flour addition affected the fermentation characteristics for 90 days. LN (low salt, rice flour non-addition) yielded high protease activity, and total nitrogen and amino-type nitrogen contents. LN showed Glu accounting to 15.16% of the free amino acids and yielded high scores of sweet and savory taste, and overall acceptance after 90 days. Rice flour addition group showed high content of total and reducing sugars with high amylase activity, however, low salt concentration had more effect on sensory acceptance than rice flour addition had ($p<0.05$). All samples had total acidity <1% and LN (90) showed the highest browning index and aroma intensity, as noted from maillard reaction, as well as good sensory acceptance.

Keywords: *Tenebrio molitor* larva, *Aspergillus oryzae*, fermentation characteristics, sensory characteristics, flavoring material

서 론

갈색거저리(*Tenebrio molitor*)는 2016년 1월 식품의약품안전처에서 일반식품원료로 승인된 식용곤충으로서 식품 소재화를 위한 연구의 필요성이 증대되고 있다. 기존 연구에는 갈색거저리의 자가규격 및 식품원료로의 안전성을 확보하기 위해 영양성분과 유해물질 분석, 분말 전처리 조건의 확립, 냉동건조처리 자가규격 및 유통기한 설정, 가공 조건에 따른 냉장 저장 중의 산화 안정성 평가가 있으나(1-4), 갈색거저리를 주재료로 한 새로운 가공 적용성의 검토 및 조미소재 개발에 대한 연구는 미비한 상황이다.

갈색거저리는 고단백질 급원으로(5), 단백질은 단백질가수분해효소(protease)에 의해 분해됨에 따라 펩타이드와 아미노산을 생성한다. 단백질가수분해효소는 단백질을 가수분해하여 정미성 펩타이드 및 아미노산을 생산하는 중요한 인자이며, 미생물에서 유래한 단백질가수분해효소를 사용하여 식품산업에 활용하는 경향이 늘고 있다. 미생물에서 유래된 효소를 통한 발효 숙성 처리는 화학적 방법보다 유해성이 낮고 반응 과정을 쉽게 통제할 수 있다(6,7). 최근 천연 가공 방식에 의한 조미료의 개발이 점차 각광받고 있으며 이러한 방식은 자연적인 조건에서 단백질을 효과적으로 분해할 수 있다는 이점이 있다. 특히 *Aspergillus*속 곰팡이로부터 생산되는 중성단백질가수분해효소(neutral protease)는 펩타이드가수분해효소 활성(peptidase activity)이 높으며 중성 pH 환경에서 소수성 아미노산 결합을 절단하여 쓴맛을 감소시킴으로써 식품 산업에서 많이 사용된다(8). 고지 간장을 만드는 데 사용되는 황국곰팡이(*Aspergillus oryzae*)는 단백질 분해능이 매우 강하며 맛을 향상시키는 아미노산을 생성하는 능력이 뛰어나 우리의 전통식품인 된장, 간장, 고추장 고지 제조에 광범위하게 사용되고 있다(9).

본 연구는 황국곰팡이를 활용하여 단백질 함량이 높은 갈색거저리의 조미소재 이용가능성을 탐색하고자 하였다. 이를 위하여 처리 시간 및 황국곰팡이 첨가 농도가 다른 여러 종류의 고지 중 단백질가수분해효소 역가가 가장 높은 고지를 선별하고, 소금물 담금 처리로 장기 숙성하여 처리 기간 및 방법에 따른 발효액의 특성 변화를 분석하며, 이와 함께 소비자 기호도 검사를 수행함으로써 식용곤충을 활용한 천연 액상 조미료 개발의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

경기도 화성시에 위치한 농가로부터 구입한 갈색거저리 유충을 −80°C에서 24시간 동안 보관 후, 물로 세척하여 갈색거저리 고지를 제조하는 데 사용하였다. 고지를 제조하기 위해 사용한

*Corresponding author: Soo-Hee Kim, Department of Culinary Arts, Kyungmin University, Seoul 11618, Korea
Tel: +82-31-828-7271
Fax: +82-31-828-7951
E-mail: kshee@kyungmin.ac.kr
Received December 14, 2016; revised March 1, 2017; accepted March 5, 2017

Table 1. Mixing condition for *Tenebrio molitor* fermented liquids

Ingredient	Types			
	HA[1)]	HN[2)]	LA[3)]	LN[4)]
T. molitor koji (g)	24	24	24	24
T. molitor hot-air dried flour (g)	24	48	24	48
Rice flour (g)	24	-	24	-
Salt (g)	129.6	129.6	64.8	64.8
Water (mL)	504	504	504	504

[1)]HA: High salt concentration and rice flour addition
[2)]HN: High salt concentration and rice flour non-addition
[3)]LA: Low salt concentration and rice flour addition
[4)]LN: Low salt concentration and rice flour non-addition

황국곰팡이는 조제종국으로 수원발효식품연구소(Suwon, Korea)에서 구입하였으며, 소금물 담금 과정에는 볶음쌀가루(Margeundeul, Hongchun, Korea), 천일염(Chungjungwon, Seoul, Korea), 미생물 유입을 막는 dialysis membrane (Spectra/Por® 3 Dialysis Membrane, Spectrum Labs, Los Angeles, CA, USA)을 사용하였다.

고지 제조 조건 확립

갈색거저리 고지는 Chang(10)의 방법을 참고 및 변형하여 제조하였다. 우선 갈색거저리 열풍건조분말을 제조하기 위해 물기를 제거한 갈색거저리 유충을 유리 용기에 담고 121°C에서 30분 동안 고압증기살균처리 하였으며, 이후 열풍건조기(LD-918BH, L'equip, Hwaseong, Korea)로 70°C에서 24시간 동안 건조 후 분쇄기(HR-2860, Philips, Amsterdam, Netherlands)로 분쇄하였다.

다음으로 황국곰팡이의 첨가 농도 및 시간을 달리하여 갈색거저리 고지를 제조하기 위해 열풍건조분말 50 g에 0.5, 1, 1.5% (w/w)의 황국곰팡이를 첨가하였으며 3차 증류수 41 mL를 넣어 수분 함량을 약 45%로 조정하였다. 이후 30°C의 조건에서 24, 36, 48, 60, 72시간 동안 배양하였고, 단백질가수분해효소 역가가 가장 높은 고지 제조 조건 확립을 위해 단백질가수분해효소 활성도를 측정하여 이를 바탕으로 소금물 담금 조건을 달리한 갈색거저리 발효액을 제조하였다.

소금물 담금 방법

0.9 L 발효용 유리용기(Lock & Lock, Incheon, Korea)에 갈색거저리 고지, 갈색거저리 열풍건조분, 볶음쌀가루, 천일염, 물을 배합하여(Table 1) 소금물 농도와 쌀가루 첨가 유무를 달리한 갈색거저리 발효액을 90일 동안 숙성하였다. 이를 20°C에서 저장하면서 0, 30, 60, 90일에 채취하였고 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 여과지(Whatman No. 1, Whatman Co., Maidstone, UK)로 여과한 여액을 –80°C에 보관하며 분석을 실시하였다.

염도 측정

염도 함량은 Mohr 법(11)을 사용하였고, 시료를 증류수로 희석한 후 이 중 10 mL를 취하여 2% 크롬산칼륨 용액($K_2Cr_2O_4$, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 1 mL을 가하고 0.1 N 질산은 용액($AgNO_3$, Sigma Chemical Co.)으로 적갈색이 될 때까지 적정하였다. 시료의 염도 함량은 적정에 소비되는 0.1 N 질산은 용액의 소비량에 0.00585을 곱한 후 값을 환산하여 나타내었다(%, v/v).

pH 및 총 산도

시료의 pH는 Digital pH/Ion meter (S20 SevenEasy™ pH meter, Mettler-Toledo Inc., Columbus, OH, USA)를 이용하여 원액 그대로 측정하였으며, 시료의 총 산도는 10 mL를 채취하여 pH 8.30이 될 때까지 적정에 소비되는 0.1 N 수산화소듐(NaOH) 용액(Sigma Chemical Co.)의 소비량에 0.009008을 곱하여 총 산도 값(%, w/v)으로 환산하여 나타내었다.

색도 및 갈색도

색도는 시료를 quartz cell에 담아 색차계(CM-5, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 liquid mode에서 Hunter's color value의 L (lightness), a (redness), b (yellowness) 값으로 나타냈으며, 5회 반복 측정하였다. 갈색도는 시료 2 mL를 3차 증류수 3 mL로 희석하여 분광광도계(Optizen 2120 UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 질소 및 아미노태 질소 함량

총 질소 함량은 켈달(Kjeldahl) 질소정량법(12)을 이용하여 측정하였고, 아미노 질소 함량은 Formol 적정법(13)에 의해 분석하였다. 시료를 희석한 후 20 mL를 채취하여 시험용액으로 하고 0.5% 페놀프탈레인 지시약을 가한 다음, 0.1 N 수산화소듐 용액으로 담홍색이 될 때까지 중화하였다. 이에 중성 포르말린 용액(Sigma Chemical Co.) 5 mL를 가하여 유리된 산을 0.1 N 수산화소듐 용액으로 담홍색이 될 때까지 적정하여 시료 20 mL를 중화하는 데 필요한 0.1 N 수산화소듐의 mL수를 구하였다. 공시험은 3차 증류수 20 mL를 사용하여 동일한 방법으로 시행하였다.

총 당 및 환원당 함량

총 당 함량은 페놀-황산(phenol-sulfuric acid) 방법(14)을 이용하여 측정하였다. 시료를 10-50배로 희석하여 사용하였으며, 표준물질은 포도당(glucose)을 사용하였다(Sigma Chemical Co.). 시험용액 1 mL에 95% 황산(Sigma Chemical Co.) 5 mL와 5% (v/v) phenol 용액(Sigma Chemical Co.) 1 mL를 가하여 섞고 충분히 발열시켰으며, 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하여(Optizen 2120 UV, Mecasys, Daejeon, Korea) 총 당 함량을 구하였다.

환원당 함량은 3,5-디니트로살리실산(3,5-dinitrosalicylic acid)에 의한 비색법(15)을 일부 변형한 방법으로 측정하였다. 시료를 10-50배로 희석하여 사용하였으며, 표준물질은 포도당(Sigma Chemical Co.)을 사용하였다. 시험용액 1 mL에 DNS 시약(Sigma Chemical Co.) 1 mL를 혼합한 것을 90°C에서 15분 동안 반응시켰다. 10분 동안 실온에 방냉한 후 570 nm에서 흡광도를 측정하여(Mecasys) 환원당 함량을 구하였다.

효소활성도

단백질가수분해효소 활성도는 프로테아제 시험방법(16)을 이용하여 측정하였으며, 시료 1 mL를 3차 증류수로 10배 희석한 것을 시험용액으로 하였다. 우선, 37°C의 조건에서 0.6% 카세인용액(casein powder, MP Biomedicals, Cambridge, UK) 1 mL와 시험용액 1 mL를 넣어 정확히 10분간 방치하였다. 이에 0.4 M 트리클로로아세트산(TCA) 용액(Sigma Chemical Co.) 2 mL를 넣고 다시 37°C에서 25분간 방치한 후 여과하였다. 여액 1 mL를 시험관에 정확히 취하여 0.4 M 탄산나트륨(Sigma Chemical Co.) 5

mL와 3배 희석한 폴린 시오칼투(Folin-Ciocalteu) 시약(Sigma Chemical Co.) 1 mL를 넣어 20분간 방치한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다(Mecasys). 공시험은 시험용액 1 mL를 37°C의 조건에서 0.4 M 트리클로로아세트산 용액 2 mL와 섞은 후 0.6% 카세인 용액 1 mL를 넣어 25분간 방치한 후 이를 여과하여 위와 동일한 조작으로 흡광도를 측정하였다.

프로테아제의 역가(unit/mL)는 시료 1 mL가 함유하는 역가로, 1분간 효소가 반응하여 생성되는 L-티로신(L-tyrosine, Sigma Chemical Co.)의 양을 수로 환산하여 계산하였다.

아밀레이스(amylase) 활성도는 알파-아밀레이스(α-amylase) 시험방법(16)을 이용하였고, 시료 1 mL를 3차 증류수로 1-3배 희석한 것을 시험용액으로 하였다. 우선, 1% 가용성 녹말용액(Soluble starch, Sigma Chemical Co.) 5 mL와 0.1 N 인산일수소나트륨(Sigma Chemical Co.) 및 0.1 N 시트르산용액(Sigma Chemical Co.)을 섞은 맥바인(Mcllvaine) 완충액(pH 7.0) 13 mL와 0.1% 염화칼슘용액(Sigma Chemical Co.) 1 mL를 시험용액 1 mL를 넣어 37°C의 조건에서 정확히 20분간 방치하였다. 이후 100°C에서 10분간 가열하고 이를 여과하였다. 여액 0.3 mL에 DNS 시약(Sigma Chemical Co.) 0.9 mL를 넣어 90°C에서 15분간 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(Mecasys). 공시험은 시험용액 1 mL를 100°C에서 10분간 가열하여 활성을 잃게 한 후, 위와 동일한 조작으로 흡광도를 측정하였다. 알파-아밀레이스의 역가(unit/mL)는 검체 1 mL가 함유하는 역가로, 1분간 효소가 반응하여 생성되는 포도당의 양을 수로 환산하여 계산하였다.

관능 특성 평가

관능 특성을 알아보기 위해 서울대학교 식품영양학과 구성원 중 단백질 급원에 알레르기 및 거부감이 없는 비숙련 패널 40명을 선정하여 실험의 목적과 검사 방법 등을 설명한 뒤 실험에 응하도록 하였다. 시료는 90일까지 숙성시킨 HA (고농도의 소금물에 쌀가루 첨가), HN (고농도의 소금물에 쌀가루 무첨가), LA (저농도의 소금물에 쌀가루 첨가), LN (저농도의 소금물에 쌀가루 무첨가)의 4가지 발효액을 100°C의 끓는 물에서 30분간 가열한 후 원심분리 및 여과하여 준비하였다.

각각의 시료마다 시료 50 mL를 쌀밥 410 g에 버무린 후 개인당 10 g씩 종이컵에 제공받도록 하였고 4가지 시료의 향, 맛(짠맛, 단맛, 구수한맛), 이미 혹은 이취에 대한 강도를 7점 척도로 평가하며 이와 함께 전체적인 기호도를 7점 척도로 평가하도록 하였다. 이전 시료가 다음 시료에 영향을 주지 않도록 각 시료 검사 후에 물로 입을 충분히 헹군 후 일정 시간 이후에 평가하도록 하였고, 본 연구는 서울대학교 생명윤리심의위원회(SNUIRB)에서 2016년 10월 24일에 승인 후 수행되었다(면제 번호: SNUIRB No. 1610/003-006).

유리 아미노산 분석

90일까지 숙성시킨 HA, HN, LA, LN의 4가지 시료를 17,000 rpm에서 2분 동안 원심분리한 후 상층액을 0.2 μm 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE) 시린지 필터(PALL Life Sciences, East Hills, NY, USA)로 여과하여 아미노산 분석에 사용하였다. 분석 시료와 아미노산 표준품은 붕산완충액(borate buffer, Sigma Chemical Co.), 플루오레닐메톡시카르보닐클로라이드(fluorenylmethyloxycarbonyl chloride, Sigma Chemical Co.), 프탈알데하이드(o-phthaldialdehyde)/2-메르캅토프로피온산(mercaptopropionic acid) (Sigma Chemical Co.) 시약과 혼합하여 유도체화 한 뒤 사용하였고, 컬럼은 VDSpher 100 C18-E (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm, VDS Optilab, Berlin, Germany), 검출기는 UV 검출기 및 FL 검출기(1260FLD, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 이동상은 40 mM 제2인산나트륨(sodium phosphate dibasic, pH 7.0)의 용매 A와 물/아세토나이트릴/메탄올(10:45:45, v/v/v)로 조성된 용매 B를 gradient 법으로 하여(0 min: 5%, 3 min: 5%, 24 min: 55%, 25 min: 90%, 31 min: 90%, 34.5 min: 5%, 35 min: 5%) 이동속도 1.5 mL/min, 시료 주입량 0.5 μL, 컬럼 온도 40°C의 조건에서 분석하였다.

통계 처리

본 연구의 모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, IBM SPSS Statistics (Ver. 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 나타내었다. 갈색거저리 발효액의 처리 조건 및 저장기간에 따른 실험 항목의 차이를 검정하기 위해 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였으며, 던컨의 다중검정(Duncan's multiple range test)을 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 동일 집단군을 구분하였다.

결과 및 고찰

고지의 단백질가수분해효소 활성도

황국곰팡이의 첨가 농도와 배양 시간을 달리하여 갈색거저리 고지를 제조하였고 이에 따른 단백질가수분해효소 활성도를 Fig. 1에 나타내었다. 황국곰팡이를 0.5% 첨가한 경우, 활성도가 48시간까지 10.60 U/g로 증가하다가 60시간에 3.44 U/g로 감소하였고 1% 첨가한 경우에도 마찬가지로 48시간까지 19.29 U/g로 증가하다가 60시간부터 7.26 U/g로 감소하였다. 황국곰팡이를 1.5% 첨가한 경우에는 60시간까지 13.94 U/g로 증가하다가 72시간에 11.78 U/g로 감소하였다.

본 연구에서는 황국곰팡이의 첨가 농도와 배양 시간에 따라 단백질가수분해효소 활성도가 달라졌고, 황국곰팡이 1%를 첨가하여 48시간 동안 배양한 고지의 값이 19.29 U/g로 가장 높았다($p<0.05$). 이는 단백질가수분해효소 활성도가 일정 시간에서 최대 활성을 보인 후 감소된다는 Oh와 Eom(17)과 Seok 등(18)의 보고와 유사하였다. 이를 바탕으로 단백질가수분해효소 역가가 가장 높은 고지(1%, 48h)를 사용하여 소금물 담금 조건을 달리한 갈색거저리 발효액을 제조하였다.

염도

소금물의 농도와 쌀가루의 첨가 유무를 달리하여 제조한 갈색거저리 발효액의 염도는 Table 2에 나타내었다. 소금은 짠맛을 부여하며 식품의 풍미를 증가시키고 보존성에 영향을 미치나(19), 장기 보존을 위한 고농도의 소금은 염용성 아미노산의 분해를 저해할 수 있으므로(20), 일반 소금 농도와 저염 농도로 나누어 실험 결과를 분석하였다. 숙성 30일부터 90일까지 일반 및 저염 실험군에서 기간이 지남에 따라 염도는 계속 증가하였다($p<0.05$). 이는 숙성 중의 수분증발에 의한 수분함량의 감소가 원인일 것으로 판단되며(21,22), 일반 농도에서 쌀가루 첨가(A)군이 쌀가루 무첨가(N)군보다 염도가 낮았던 것은 약용식물의 첨가(23,24)가 염을 흡수함에 따라 염도가 낮아졌다고 보고한 바와 같이 본 연구에서는 쌀가루 입자가 염을 더 많이 흡수했기 때문일 것으로 판단된다.

pH 및 총 산도

pH는 숙성 초기 모든 실험군에서 5.12-5.21의 범위로 나타났으며, LN을 제외하고는 기간이 지남에 따라 계속 감소하여($p<0.05$)

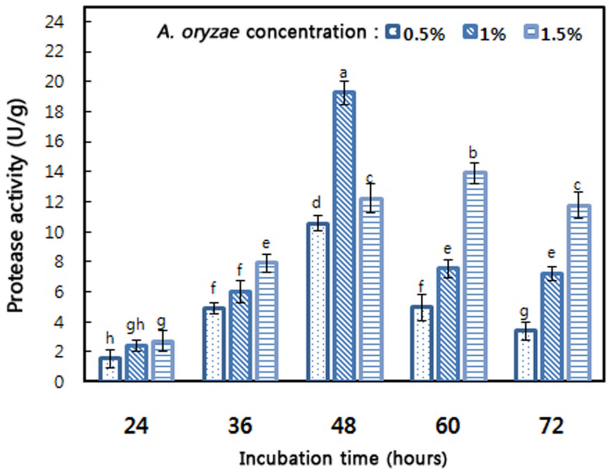

Fig. 1. Protease activity of *Tenebrio molitor* koji. Values of different superscript letters are significantly different (p<0.05).

HA는 5.11-4.78, HN은 5.03-4.76, LA는 5.16-4.98의 범위를 나타냈다(Table 2). LN의 경우, 기간이 지남에 따라 pH가 증감을 반복하며 5.55-5.49 범위에서 일정한 경향성을 보이지 않았다. 다른 실험군과 비교할 때 LN의 pH는 30일부터 90일까지 모든 기간에서 높았고(p<0.05), pH 5.0 이하로 떨어지지 않았다. 이는 갈색거저리 발효액으로부터 용출된 유리아미노산 등의 완충작용이 pH의 감소를 완화시켰기 때문일 것으로 생각된다(25,26).

총 산도는 모든 실험군에서 기간이 지남에 따라 계속 증가하였고(p<0.05), 숙성 내내 대체적으로 LN>HN>LA>HA의 순서로 높게 나타났다. 이를 통해 총 산도의 경우, 소금의 농도보다는 갈색거저리 열풍건조분의 함량이 영향을 크게 미쳤을 것으로 판단되었다. 갈색거저리에 함유된 단백질에 의한 산 함량 증가는 주로 젖산 생성에 의하며(27), N군이 A군보다 갈색거저리 열풍건조분을 2배 많이 함유하였으므로 갈색거저리의 높은 함량에 의한 젖산 생성이 N군의 총 산도를 높였을 것으로 판단된다.

색도 및 갈색도

발효액의 명도(L값)는 LN을 제외한 모든 군에서 숙성 초기보다 30일에 감소하였고(p<0.05) HA, HN, LA군에서는 기간이 지남에 따라 명도가 점점 낮아지거나 비슷하게 나타났다(Table 3). Park 등(28)과 Kim과 Rhyu(29)도 숙성 기간 중 된장의 명도가 감소하였다고 하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다. 특히 LN군은 다른 실험군들과 비교할 때 숙성 60일과 90일에 모두 명도가 가장 낮았다(p<0.05). 황색도(b값)는 모든 군에서 숙성 초기에 비해 크게 달라지지 않아 기간에 따른 유의한 경향성은 나타나지 않았으나, 적색도(a값)는 모든 군에서 숙성 초기보다 30일에 증가하였고(p<0.05), 특히 LN군은 다른 실험군들과 비교할 때 30일부터 90일까지 적색도가 가장 높았다(p<0.05).

명도의 감소와 적색도의 증가를 바탕으로 갈색도의 결과를 볼 때 모든 군에서 갈색도는 적색도 변화와 마찬가지로 숙성 30일에 증가하였고(Table 3), N군이 A군보다 높았으며 특히 LN군의 갈색도가 다른 실험군들에 비해 가장 높았다(p<0.05). 이를 통해 갈색도를 증가시키는 원인은 숙성 기간의 증가와 갈색거저리 열풍건조분의 함량 증가가 모두 관련이 있을 것으로 판단된다. 숙성 기간이 지나면서 갈색거저리의 단백질에서 분해된 아미노산이 환원당과 반응하여 비효소적 갈변반응인 메일라드(maillard) 반응을 통해 갈색도가 높아졌을 것으로 보인다. Jeon 등(30)도 비효소적 갈변반응에 의해 간장의 갈변도가 숙성 기간에 따라 증가함을 관찰하였다. 갈색거저리 발효액을 만들기 위해 사용된 갈색거저리의 전처리는 고압증기멸균 및 열풍건조 과정을 모두 거친 것으로 열에 의해 효소가 불활성 되었을 것이며, 외부의 공기 및 미생물 유입을 차단하기 위해 투석막을 사용하였고, 내부의 공기만을 외부로 유출하는 발효용기를 사용하였기 때문에 본 연구의 갈변반응은 주로 비효소적 갈변반응에 의한 것으로 판단된다.

총 질소 및 아미노 질소 함량

갈색거저리 발효액의 총 질소 및 아미노 질소 함량 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 총 질소는 갈색거저리 함량이 많은 N군에서 높게 나타났고, 갈색거저리 함량을 기준으로는 저염 조건인 L군에

Table 2. Salinity, pH and Total acidity of *Tenebrio molitor* fermented liquids

	Type[2)]	Storage time (days)			
		0	30	60	90
Salinity (%)	HA	20.95±0.15$^{aA,1)}$	18.59±0.38^{cB}	19.68±0.24^{bB}	19.97±0.35^{bB}
	HN	20.85±0.54^{aA}	19.70±0.13^{bA}	20.58±0.18^{aA}	20.61±0.11^{aA}
	LA	11.30±0.30^{B}	11.27±0.28^{C}	11.53±0.28^{C}	11.67±0.11^{C}
	LN	11.21±0.26^{bcB}	11.04±0.15^{cC}	11.38±0.27^{abC}	11.77±0.12^{aC}
pH	HA	5.12±0.01^{aB}	5.11±0.02^{aB}	4.89±0.01^{bC}	4.78±0.01^{cC}
	HN	5.15±0.01^{aB}	5.03±0.06^{bC}	4.79±0.01^{cD}	4.76±0.01^{cC}
	LA	5.14±0.01^{aB}	5.16±0.01^{aB}	5.07±0.11^{bB}	4.98±0.01^{cB}
	LN	5.21±0.01^{dA}	5.55±0.01^{aA}	5.31±0.01^{cA}	5.49±0.02^{bA}
Total acidity (%)	HA	0.22±0.004^{dD}	0.36±0.005^{cD}	0.41±0.008^{bD}	0.47±0.050^{aD}
	HN	0.24±0.004^{dC}	0.50±0.003^{cB}	0.59±0.017^{bA}	0.66±0.027^{aB}
	LA	0.25±0.002^{dB}	0.46±0.047^{cC}	0.52±0.037^{bC}	0.59±0.013^{aC}
	LN	0.30±0.008^{dA}	0.53±0.005^{cA}	0.57±0.031^{bB}	0.69±0.012^{aA}

[1)]Values are means±SD (n=3). Values of different superscript letters in each row (a-d) and each column (A-D) are significantly different (p<0.05).
[2)]HA: High salt concentration and rice flour addition
HN: High salt concentration and rice flour non-addition
LA: Low salt concentration and rice flour addition
LN: Low salt concentration and rice flour non-addition

Table 3. Changes in Hunter's color value and Browning index of *Tenebrio molitor* fermented liquids

	Type[2)]	Storage time (days)			
		0	30	60	90
L	HA	76.18±0.54$^{aA,1)}$	60.81±0.19^{cB}	61.87±0.61^{bA}	59.14±0.09^{dB}
	HN	70.05±0.75^{aC}	56.92±0.28^{dC}	57.79±0.32^{cB}	60.75±0.17^{bA}
	LA	71.49±0.12^{aB}	61.02±0.25^{bB}	57.16±0.16^{cC}	57.43±0.21^{cC}
	LN	46.64±0.11^{dD}	62.07±0.10^{aA}	52.02±0.30^{cD}	54.22±0.39^{bD}
a	HA	4.77±0.03^{dD}	12.76±0.04^{bD}	12.89±0.12^{aD}	12.62±0.02^{cD}
	HN	7.82±0.05^{cB}	15.80±0.08^{bB}	16.10±0.08^{aB}	15.79±0.02^{bB}
	LA	6.89±0.03^{dC}	13.83±0.07^{bC}	13.55±0.05^{cC}	15.60±0.07^{aC}
	LN	12.39±0.03^{dA}	18.33±.05^{cA}	22.55±0.13^{aA}	20.91±0.14^{bA}
b	HA	33.85±0.24^{aC}	33.11±0.10^{bC}	33.26±0.33^{bB}	32.36±0.53^{cC}
	HN	35.03±0.36^{bA}	32.99±0.16^{dD}	33.65±0.18^{cA}	35.40±0.13^{aA}
	LA	34.20±0.07^{aB}	34.24±0.15^{aB}	32.24±0.09^{cD}	33.46±0.13^{bB}
	LN	26.71±0.06^{dD}	37.06±0.06^{aA}	32.68±0.18^{cC}	33.56±0.24^{bB}
Browning index[4)]	HA	0.56±0.014^{cD}	0.593±0.006^{bD}	0.626±0.016^{aD}	0.599±0.006^{bC}
	HN	0.619±0.005^{bB}	0.796±0.004^{aB}	0.805±0.006^{aB}	0.8±0.006^{aB}
	LA	0.606±0.006^{dC}	0.711±0.002^{bC}	0.699±0.003^{cC}	0.749±0.010^{aB}
	LN	0.765±0.003^{cA}	0.953±0.003^{cA}	1.155±0.003^{aA}	1.061±0.003^{bA}

[1)]Values of different superscript letters in each row (a-d) and each column (A-D) are significantly different (p<0.05).
[2)]HA: High salt concentration and rice flour addition
HN: High salt concentration and rice flour non-addition
LA: Low salt concentration and rice flour addition
LN: Low salt concentration and rice flour non-addition
[3)]Values are means±SD (n=5). L: lightness; a: redness; b: yellowness
[4)]Values are means±SD (n=3). Absorbance at 420 nm

서 높게 나타나 숙성 30일부터 90일까지 LN>HN>LA>HA의 순서로 높았다(p<0.05).

발효 숙성이 계속되면서 미생물과 효소에 의해 갈색거저리 발효액으로 용출되는 단백질 분해산물이 증가하였으나 콩을 사용한 간장의 90일째의 총 질소가 1.4% (31), 콩을 사용한 저농도 청장의 90일째의 총 질소가 0.9% (32), *Aspergillus oryzae*로 발효시킨 홍게 어간장의 총 질소가 3개월 후 약 800 mg/100 g (0.8%)로 나타났다고 하여(33) 본 연구 결과는 총 질소가 비교적 낮은 것으로 나타났다. 식품공전 장류 규격에는 간장에 한하여 총 질소가 0.8% (w/v) 이상이어야 하고 한식간장의 경우 0.7% (w/v) 이상이라는 규격이 명시되어 있다. 따라서 90일까지 숙성시켜 총 질소가 0.75% (w/v)이었던 LN을 식품공전에서 정의하는 효소분해간장(단백질을 함유한 원료를 효소로 가수분해한 후 그 여액을 가공한 것)의 형태로 분류할 때, LN의 조건에서 갈색거저리 함량을 늘린다면 총 질소 함량을 높여 간장 규격을 충족할 수 있을 것으로 본다.

아미노 질소는 L군일수록 높게 나타났고 소금물 농도를 기준으로는 N군에서 높게 나타났다. 이를 종합할 때, 숙성 30일부터 90일까지 LN>LA>HN>HA의 순서로 높았다(p<0.05). 총 질소와 마찬가지로 기간이 증가함에 따라 계속 증가하였으며, 그 중 LN군의 아미노 질소 함량이 가장 높아 숙성 90일에는 539.96 mg%를 나타냈다(p<0.05). 저염 환경에서는 특히 단백질 분해에 관여하는 단백질가수분해효소의 활성이 더 높아지므로 아미노 질소 함량이 증가하며(34), Mok 등(35)도 숙성기간의 경과와 더불어 식염 함량이 적은 경우 아미노 질소가 더욱 증가하였다고 보고하였다. 아미노 질소는 단백질가수분해효소의 작용으로 단백질이 가수분해 되어 맛을 내는 아미노산을 생성하는 것과 관련하여 식품의 품질지표항목으로 쓰이고(36), 아미노 질소 함량이 높은 장류가 성분 면에서도 좋은 것으로 평가된다(37). 본 연구의 90일 동안 숙성한 LN의 결과는 콩을 사용하여 제조한 간장의 아미노 질소 함량(528.7 mg%) (37)이나 한국 전통 간장(28.23-139.30 mg%) (38) 및 시판 재래식 간장(252-518 mg%) (39)보다 더 높은 것으로 나타났다.

총 당 및 환원당 함량

갈색거저리 발효액의 총 당 및 환원당 함량 변화는 Fig. 2와 같다. A군에는 볶음쌀가루를 첨가함으로써 숙성 초기에도 HA와 LA의 총 당 함량이 HN과 LN보다 높았다. 또한 H군에서는 숙성 기간이 지남에 따라 총 당 함량이 지속적으로 증가하였다(p<0.05). 특히 HA는 숙성 90일의 총 당이 16.61%이었고 HN는 3.54%로, HA가 HN보다 약 4.7배 더 많은 당을 함유하였다. 반면, L군에서는 LA군에서 60일까지 총 당 함량이 증가하여 60일에 15.02%였으나 90일에는 13.13%로 감소하였고, LN군에서는 30일에 2.4%였던 당 함량이 90일까지 지속적으로 감소하여 90일에는 2.34%를 함유하였다.

저염 환경에서는 미생물의 활동이 증가하여 당을 소비함으로써 알코올 발효나 유기산을 생성하고 산도를 증가시키므로 총 당 감소와 산도의 증가가 유의미한 상관성을 갖는다(40). 본 연구에서는 특히 LN의 산도가 높았고, 이는 저염 환경에서의 총 당 감소와 관련이 있을 것으로 판단된다. Jin 등(41)도 황국이 함유한 아밀레이스가 쌀가루를 분해하는 과정에서 전분질이 당분으로 분해됨과 동시에 당분이 발효 기질로 이용되어, 기간이 지남에 따라 총 당 함량이 감소할 수 있다고 하였다. 아밀레이스에 의해 쌀가루가 분해되어 당 함량을 높이는 것과 미생물에 의해 당이 소비되어 산도를 높이는 발효의 진행 과정이 동시에 일어나면서 총 당 함량의 증감이 복합적으로 일어났음을 확인하였다.

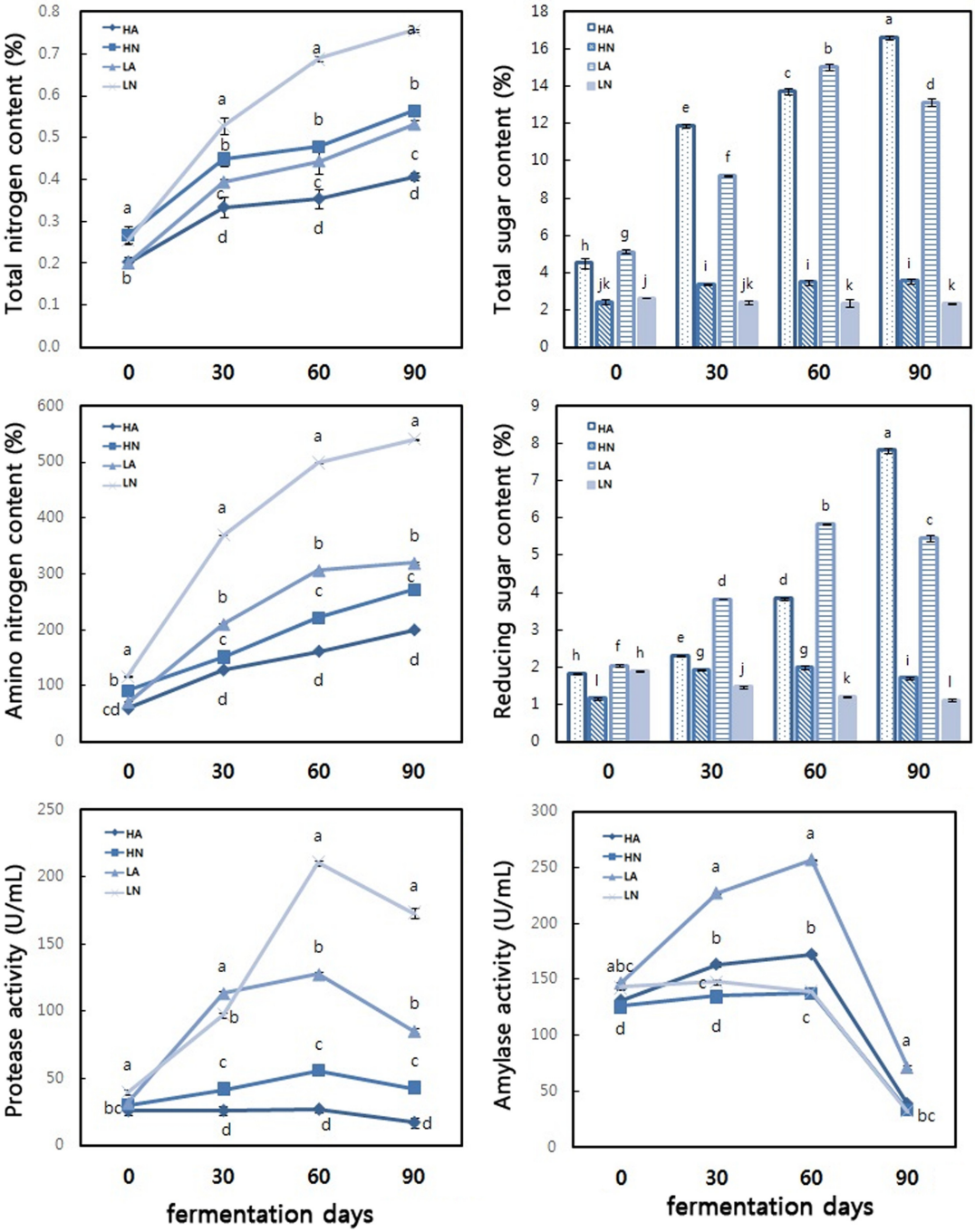

Fig. 2. Changes in protein and carbohydrate degradation aspects of *Tenebrio molitor* fermented liquids. (A) Total nitrogen content (%); (B) Amino nitrogen content (%); (C) Protease activity (U/mL); (D) Total sugar content (%); (E) Reducing sugar content (%); (F) Amylase activity (U/mL). HA: High salt concentration and rice flour addition; HN: High salt concentration and rice flour non-Addition; LA: Low salt concentration and rice flour addition; LN: Low salt concentration and rice flour non-Addition. Values of different superscript letters are significantly different (p<0.05).

환원당 함량의 변화는 총 당 함량의 변화와 유사한 결과를 보이며 A군에서 환원당 함량이 높았고 HA는 숙성 30일과 60일에 각각 2.3, 3.83%, LA는 숙성 30일과 60일에 각각 3.82, 5.83%로 LA가 HA보다 높았다(p<0.05). 또한 HA는 90일까지 지속적으로 환원당 함량이 증가하였는데, 이는 높은 염도의 환경에서 미생물에 의해 환원당이 소비되는 것보다 전분질 원료 분해에 의해 환원당이 생성되는 양이 더 많기 때문으로 보인다(42).

환원당은 숙성 기간 동안 단백질에서 분해된 아미노산과의 축합으로 비효소적 갈변 반응인 메일라드 반응을 일으키며 함량이 낮아질 수 있으므로(43), 특히 LN의 환원당 함량이 계속 감소한 것이 LN의 높은 갈색도와 연관이 있을 것으로 판단된다. 이와 함께 간장에 함유된 당은 단맛을 부여함과 동시에 발효에 의해 여러 향기 성분과 유기산을 형성하며 메일라드 반응을 통해 색을 형성하기 때문에 90일까지 숙성시킨 갈색거저리 발효액의 환원당 감소는 맛, 향, 색과 같은 관능적 특성에 영향을 줄 것으로 보인다.

효소활성도

단백질가수분해효소 활성도는 L군에서 높았으며, 기간이 증가함에 따라 N군에서 활성도가 증가했다(Fig. 2). 또한 모든 실험군에서 숙성 90일에 단백질가수분해효소 활성도가 감소하였다($p<0.05$). 단백질가수분해효소는 단백질을 가수분해하여 구수한 맛 성분인 아미노산과 저분자 펩타이드 등을 생성하므로 맛을 결정짓는 중요한 인자가 되며, 총 질소 및 아미노태 질소가 기간에 따른 증가를 보였던 것은 이와 같은 단백질가수분해효소 활성도 증가와 연관이 있다(44). 한편, 총 질소 및 아미노태 질소는 90일까지 지속적으로 증가한 반면 모든 실험군에서 단백질가수분해효소 활성도는 90일에 감소하였다. 효소 활성이 감소하는 이유는 기질이 소모되어 활성이 감소하는 것과 관련이 있을 것이며(45), 효소 역가는 일정 기간에 최대값을 보이다가 감소하며 실활되기도 한다(46). 그러나, 본 연구에서는 효소 역가가 완전히 없어진 것이 아니므로 단백질에서 가수분해된 펩타이드가 아미노산으로 더욱 분해되어 단백태 질소성분을 증가시키는 데에 있어 효소 활성의 존재가 영향을 계속 미쳤을 것으로 생각된다.

또한, 황국곰팡이는 알파-아밀레이스를 많이 함유하고 있어(47), Kim 등(48)도 황국곰팡이를 사용한 모든 발효물에서 발효 초기부터 알파-아밀레이스의 활성이 나타났다고 보고하였다. 본 연구 결과 숙성 초기 아밀레이스 활성도는 모든 실험군에서 125.60-146.59 U/mL의 범위로 시작하였다. A군은 N군보다 아밀레이스 활성도가 모두 높았고($p<0.05$) HA는 숙성 30일부터 60일까지 163.23-172.19 U/mL로 증가, LA는 30일부터 60일까지 226.94-256.62 U/mL로 증가하였다. 그러나 HA와 LA 모두 숙성 90일에는 각각 38.70, 71.16 U/mL로 감소하여 60일에 비해 활성도가 각각 4.45배, 3.6배 감소하였다. N군은 갈색거저리만 함유하고 있는 것으로, 갈색거저리 유충이 함유하는 탄수화물은 생체의 3.61%이며, 건조중량 대비 8.53%이다(49). 즉, N군은 탄수화물 급원이 상대적으로 적어 A군보다 아밀레이스 활성도가 낮았던 것으로 판단된다. 아밀레이스 활성도 또한 단백질가수분해효소 활성도와 마찬가지로 갈색거저리 발효 숙성 90일에 감소하는 경향을 보였고 이는 기질인 전분질이 감소함에 따라 활성도가 낮아졌기 때문인 것으로 보인다.

관능 특성 평가

소금물의 농도와 쌀가루의 첨가 유무를 달리하여 90일까지 제조한 갈색거저리 발효액의 관능적 특성은 7점 척도를 사용하여 강도 혹은 기호도로 평가하였으며, 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 향의 강도는 LN>LA>HN>HA 순서로 높았고($p<0.05$), 이는 LN에서 메일라드 반응에 따른 여러 향기 성분과 유기산이 형성되어 나타난 결과로 보인다(50). 또한 맛의 강도는 짠맛의 경우, H군이 L군보다 높았고 HA가 5.35, HN이 6.03으로 '약간 강하다' 혹은 '강하다' 정도로 평가되었다. 단맛의 경우, A군이 HN보다는 높았으나, 4가지 시료 중에서는 LN가 3.53으로 가장 높았다. 이는 총 당 함량이 A군에서 N군보다 크게 높았음에도 불구하고, 관능적으로 느끼는 단맛은 당 함량 외에도 다른 원인이 작용하기 때문으로 판단된다. 또한 구수한 맛의 경우에도 LN이 4.3으로 가장 높았다.

Yang과 Lee(51)는 당류 외에도 유리아미노산, 핵산관련물질, 유기산, 무기질 등 복합적인 요인이 맛에 영향을 끼친다고 하였다. 저염 환경에서 갈색거저리 열풍건조분이 더욱 많이 분해되어 질소 성분이 늘어나고 그 중 아미노산에서 감칠맛을 내는 성분들이 증가했을 것이라 판단되며, 이와 함께 간장 제조에서 예부터 사용되어 왔던 황국이 간장의 감칠맛의 주체인 글루탐산 생성을 많이 하는 것으로 알려져 있어(52), 갈색거저리 발효액의 단맛과 구수한맛에 아미노산의 조성 및 함량이 영향을 크게 끼쳤을 것으로 보인다. 한편, Choi 등(53)과 Kim과 Kim(54)은 맥아를 섞어 만든 간장이 무첨가 대조군보다 기호도가 좋았다고 하여 본 연구 결과와 달랐으며, 이는 본 연구에서 쌀가루와 갈색거저리의 혼합이 관능적으로 느껴지는 단맛을 증가시키는 데 효과를 나타내지 못했던 것으로 판단된다.

이미 혹은 이취의 강도는 전체적으로 비슷한 수준이라고 평가되었으며 3.10-3.5 범위로 나타났다. 전체 기호도는 HA가 4.1, HN이 3.65, LA가 4.68, LN이 4.9로 저염 실험군에서 기호도가 더 높은 것으로 나타났다($p<0.05$). 특히 L군은 7점 척도에서 5점(약간 좋다)에 가까운 기호도 점수를 보여 저염 환경에서의 갈색거저리 발효액이 조미소재로서 활용될 가능성을 제시할 수 있을 것으로 판단된다.

유리 아미노산 분석

단백질 분해산물이 증가하며 효소 활성은 감소한 숙성 90일을 종결점으로 보아, 소금물의 농도와 쌀가루의 첨가 유무를 달리하여 제조한 갈색거저리 숙성 90일 발효액의 유리 아미노산 조성 및 함량을 Table 5에 나타내었다.

아미노산은 전체적인 맛에 크게 관여하며 특히 글루탐산(glutamic acid), 라이신(lysine), 알라닌(alanine), 세린(serine), 이소루신(isoleucine), 아스파르트산(aspartic acid) 등이 영향을 준다고 알려져 있다(55). 90일 동안 숙성시킨 갈색거저리 발효액의 유리 아미노산 중에는 전체적으로 글루탐산이 가장 많았고 HA의 11.36%, HN의 11.11%, LA의 12.42%, LN의 15.16%의 비중을 차지하였다. 간장에 감칠맛의 주요 원인인 글루탐산 함량이 높다는 선행연구는 다수 연구에서 보고된 바 있다(56-58). 특히 Tseng 등(59)의 기준 분류에 따라 아미노산의 맛 성질을 비교했을 때, 감칠맛에 영향을 주는 아스파르트산과 글루타민이 LN에서 가장 높았고($p<0.05$), 단맛에 영향을 주는 알라닌, 글라이신(Gly), 트레오닌(Thr)도 LN

Table 4. Sensory evaluation of *Tenebrio molitor* fermented liquids

Type[2)]	Aroma	Salty taste	Sweet taste	Savory taste	Off-flavor	Overall acceptance
HA (90)	3.45±1.20[b1)]	5.35±0.89[b]	2.70±1.32[b]	3.30±1.40[b]	3.15±1.55	4.10±1.32[b]
HN (90)	3.88±1.45[b]	6.03±0.77[a]	2.48±1.57[b]	3.35±1.25[b]	3.50±1.84	3.65±1.17[b]
LA (90)	3.95±1.30[b]	4.33±1.12[c]	2.90±1.50[ab]	3.83±1.43[ab]	3.10±1.60	4.68±1.10[a]
LN (90)	5.03±1.31[a]	4.18±1.24[c]	3.53±1.75[a]	4.30±1.51[a]	3.13±1.80	4.90±1.37[a]

[1)]Values are menas±SD (n=40). Values of different superscript letters in each column are significantly different ($p<0.05$).
[2)]HA (90): High salt concentration and rice flour addition fermentation for 90 days
HN (90): High salt concentration and rice flour non-addition fermentation for 90 days
LA (90): Low salt concentration and rice flour addition fermentation for 90 days
LN (90): Low salt concentration and rice flour non-addition fermentation for 90 days

Table 5. Free amino acids composition of *Tenebrio molitor* fermented liquids (unit: mg/100 g, wet basis)

Free Amino acids	HA (90)[2)]	HN (90)[3)]	LA (90)[4)]	LN (90)[5)]
Aspartic acid	57.87±1.15[d1)]	78.69±1.21[c]	127.93±3.53[b]	189.49±1.59[a]
Glutamic acid	143.76±2.56[d]	203.29±3.01[c]	254.19±1.18[b]	367.85±3.42[a]
Asparagine	34.55±0.54[c]	49.96±0.69[a]	38.38±0.52[b]	27.23±0.57[d]
Serine	65.65±1.10[c]	94.73±1.57[b]	118.61±1.30[a]	4.71±0.14[d]
Glutamine	36.92±0.54[b]	51.29±0.69[a]	27.71±0.68[c]	16.12±0.64[d]
Histidine	44.59±0.68[d]	62.40±1.28[c]	80.98±3.72[b]	108.85±3.05[a]
Glycine	44.04±0.63[d]	62.53±0.80[c]	101.44±1.66[b]	133.94±0.47[a]
Threonine	65.51±0.26[d]	90.16±2.34[c]	112.85±1.70[b]	154.53±1.10[a]
Arginine	109.85±2.04[c]	161.56±1.39[a]	138.14±2.24[b]	3.51±0.21[d]
Alanine	99.57±1.58[d]	144.89±1.92[c]	198.17±3.41[b]	268.10±1.12[a]
Taurine	0.93±0.03[b]	1.55±0.05[a]	0.79±0.02[c]	0.88±0.03[b]
GABA	2.27±0.16[b]	2.18±0.07[b]	3.29±0.05[a]	3.25±0.06[a]
Tyrosine	43.01±0.66[b]	54.14±0.56[a]	36.31±0.29[c]	35.54±0.35[c]
Valine	86.35±1.55[d]	121.82±1.98[c]	166.88±3.89[b]	226.39±1.63[a]
Methionine	19.35±0.11[d]	27.47±0.78[c]	30.04±0.81[b]	38.63±0.90[a]
Tryptophane	22.88±0.86[d]	28.74±0.34[c]	35.74±1.42[b]	51.12±0.88[a]
Phenylalanine	50.23±1.24[d]	70.86±0.83[c]	84.58±0.87[b]	105.48±1.10[a]
Isoleucine	63.03±1.19[d]	89.21±1.11[c]	114.05±1.98[b]	152.37±1.17[a]
Leucine	117.81±1.95[d]	169.58±1.50[c]	193.30±3.48[b]	253.00±0.86[a]
Lysine	84.54±1.66[c]	124.07±0.78[b]	127.23±1.73[b]	181.22±3.30[a]
Proline	73.19±0.96[c]	140.07±1.02[a]	56.55±3.12[d]	104.72±2.03[b]
Total	1265.90±21.48[d]	1829.21±23.91[c]	2047.16±37.61[b]	2426.92±24.60[a]

[1)]Values are menas±SD (n=3). Values of different superscript letters in each row are significantly different (p<0.05).
[2-5)]HA (90): High salt concentration and rice flour addition fermentation for 90 days, HN (90): High salt concentration and rice flour non-addition fermentation for 90 days, LA (90): Low salt concentration and rice flour addition fermentation for 90 days, LN (90): Low salt concentration and rice flour non-addition fermentation for 90 days

에서 가장 높았다(p<0.05). 하지만 쓴맛에 영향을 주는 이소루신, 루신(Leu), 메티오닌(Met), 페닐알라닌(Phe), 발린(Val) 또한 LN에서 가장 높은 것으로 나타났다(p<0.05). 쓴맛 아미노산도 함께 증가한 것은 발효액의 숙성 기간에 따른 전체적인 아미노산 함량의 증가와 관련이 있는데, 본 연구에서는 LN의 관능 기호도가 높게 나타났으므로 쓴맛 아미노산의 출현이 갈색거저리 발효액의 맛에 부정적인 영향을 끼치지는 않았을 것으로 생각된다.

특이적으로 90일 동안 숙성시킨 LN에서만 세린, 아르기닌(arginine)의 함량이 감소하였는데, 이는 일부 아미노산이 갈변 반응에 관여하며 감소하는 것과 관련이 있을 것으로 보인다. Shin 등(60)은 흑마늘의 숙성 중 아르기닌이 계속적으로 감소한다고 하였고, Ko 등(61)도 백삼의 증삼 제조과정 중 갈변반응기질로 아르기닌 등 10종의 아미노산이 감소한다고 보고하였다. 또한 황태의 숙성 과정에서 히스티딘(histidine), 글라이신, 아스파르트산이 갈변화 과정에서 감소되었다고 하였다(62). 따라서 90일 후 크게 감소한 아미노산은 갈변화 반응에 소모되었을 가능성이 있을 것으로 판단되며, 메일라드반응생성물(MRPs, Maillard Reaction Products)은 휘발성 화합물 생성에도 영향을 끼쳐(63) 향의 강도가 5.03점(7점 만점)이었던 LN에서 특유의 향이 생성되었을 것으로 생각된다.

요 약

갈색거저리 유충의 새로운 조리 및 가공 적용성을 검토하기 위해 황국곰팡이(*Aspergillus oryzae*)을 이용한 발효액을 제조하였다. 단백질분해효소 역가가 높은 갈색거저리 고지를 제조(황국곰팡이 1% 농도, 48시간 배양)한 후 소금물 담금 처리를 달리하여 90일 동안 숙성한 발효액 변화 양상을 관찰하였다. 염도가 낮았던 L군에서는 발효액의 효소활성이 증가하였으며, 단백질 및 탄수화물 분해산물이 많이 생성되었다. 특히 갈색거저리 열풍건조분 함량이 많은 LN군에서 단백질분해효소 활성도의 증가로 총 질소 및 아미노 질소 함량이 숙성 기간 중 가장 높았다(p<0.05). 90일 동안 숙성한 LN의 유리 아미노산 함량이 2426.92 mg/100 g으로 가장 높았으며(p<0.05) 이 중 감칠맛에 영향을 주는 글루탐산이 15.16%를 차지하였고, 7점 척도의 관능검사 결과 단맛(3.53점), 구수한맛(4.30점), 전체기호도(4.90점)에서 가장 높은 점수를 얻었다(p<0.05). 쌀가루를 첨가한 A군에서는 숙성함에 따라 아밀레이스 활성도가 높아져 총 당 및 환원당이 증가하였으나, 관능적 측면에서 쌀가루 첨가 유무보다는 소금 농도가 낮은 L군에서 더 좋은 효과를 나타냈다(p<0.05). 모든 실험군에서 산도는 1% 미만으로 나타나 식용하기에 어려움이 없을 것으로 보이며, LN은 관능 기호도가 우수했던 것과 함께 아미노산과 환원당과의 메일라드 반응을 통한 갈색도 증가와 향의 강도 증가를 보여 본 연구가 갈색거저리 유충을 활용한 저염 조미소재 개발의 기초 연구자료를 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품과제 (315060-3) 연구의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Yoo JM, Hwang JS, Goo TW, Yun EY. Comparative analysis of nutritional and harmful components in Korean and Chinese mealworms (*Tenebrio molitor*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 249-254 (2013)
2. Chung MY, Kwon EY, Hwang JS, Goo TW, Yun EY. Pre-treatment conditions on the powder of *Tenebrio molitor* for using as a novel food ingredient. J. Seric. Entomol. Sci. 51: 9-14 (2013)
3. Chung MY, Lee JY, Lee JC, Park KS, Jeong JP, Hwang JS, Goo TW, Yun EY. Establishment of self-specification and shelf-life by standardization of manufacturing process for lyophilized *Tenebrio molitor* larvae. J. Seric. Entomol. Sci. 52: 73-78 (2014)
4. Kim SY, Son YJ, Kim SH, Kim AN, Lee GY, Hwang IK. Studies on oxidative stability of *Tenebrio molitor* larvae during cold storage. Korean J. Food Cook. Sci. 31: 62-71 (2015)
5. Ng WK, Liew FL, Ang LP, Wong KW. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. J. Aquac. Res. 32: 273-280 (2001)
6. Mannheim A, Cheryan M. Enzyme-modified proteins from corn gluten meal: preparation and functional properties. J. Am. Oil Chem. Soc. 69: 1163-1169 (1992)
7. Chae HJ, In M, Kim MH. Production and characteristics of enzymatically hydrolyzed soy sauce by the treatment using proteases. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 784-787 (1997)
8. Sandhya C, Sumantha A, Szakacs G, Pandey A. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. Process Biochem. 40: 2689-2694 (2005)
9. Kim YM, Koo JG, Lee YC, Kim DS. Study on the use of sardine meal koji and autolysates from sardine meat in rapid processing of sardine sauce. Korean J. Fish. Aquatic Sci. 23: 167-177 (1990)
10. Chang M. Characteristics of bacterial-koji and doenjang (soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJI. Korean J. Microbiol. Bi. 35: 325-333 (2007)
11. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Method 42-8. Association of Officical Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1995)
12. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method 777, 780, 788. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1990)
13. Chae SK. Standard food analytics. Jigu Press, Seoul, Korea. pp. 460-463 (2000)
14. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers P, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350-356 (1956)
15. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428 (1959)
16. Korea Food and Drug Administration. Quantitation of protease and a-amylase activity in enzyme food. Available from: http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=103. Accessed Dec. 08, 2016.
17. Oh HI, Eom SM. Changes in microflora and enzyme activities of cheonggukjang prepared with germinated soybeans during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 56-62 (2008)
18. Seok YR, Kim YH, Kim S, Woo HS, Kim TW, Lee SH, Choi C. Change of protein and amino acid composition during chungkook-jang fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. J. Korean Soc. Appl. Bi. Chem. 37: 65-71 (1994)
19. Kim HJ, Yang EJ. Optimization of hot water extraction conditions of wando sea tangle (*Laminaria japonica*) for development of natural salt enhancer. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 767-774 (2015)
20. Lee KH, Song BK, Jeong IH, Hong BI, Jung BC, Lee DH. Processing condition of seasoning material of the mixture of *Laminaria* and enzyme-treated mackerel meat. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 77-81 (1997)
21. Kang SH, Lee S, Ko JM, Hwang IK. Comparisons of the physicochemical characteristics of Korean traditional soy sauce with varying soybean seeding periods and regions of production. Korean J. Food. Nutr. 24: 761-769 (2011)
22. Lee EY, Park GS. Quality characteristics of Kochujang with addition of apple juices. Korean J. Food. Cook Sci. 25: 747-757 (2009)
23. Kim YS, Yeum DM, Roh SB, Kim YH, Chung SK. Quality characteristics of soybean anchovy sauce added with medicinal herbs. Korean J. Food Preserv. 15: 367-376 (2008)
24. Park SY, Lim JM, Choi YH, Choi HS, Kim JH, Kim EJ, Ji SJ, Jang YJ. Quality and sensory characteristics of soy sauces containing *Astragalus membranaceus* by aging period. Korean J. Food Preserv. 22: 636-643 (2015)
25. Oh SC. Influences of squid ink added to low salt fermented squid on its changes in lactic acid bacteria. Korean J. Food. Nutr. 26: 678-684 (2013)
26. Park WP, Kim ND, Lee SC, Kim SY, Cho SH. Effects of powder and concentrates of prnus mume on the quality of doenjang during fermentation. Korean J. Food Preserv. 13: 574-580 (2006)
27. Ketelaere Ad, Demeyer D, Vandekerckhove P, Vervaeke P. Stoichiometry of carbohydrate fermentation during dry sausage ripening. J. Food Sci. 39: 297-300 (1974)
28. Park IB, Park JW, Kim JM, Jung ST, Kang SG. Quality of soybean paste (Doenjang) prepared with lotus root powder. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 519-523 (2005)
29. Kim EY, Rhyu MR. The chemical properties of doenjang prepared by *Monascus* koji. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1114-1121 (2000)
30. Jeon MS, Sohn KH, Chae SH, Park HK, Jeon HJ. Color characteristics of Korean traditional soy sauces prepared under different processing conditions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 32-38 (2002)
31. Kwon OJ, Kim M, Kim TW, Kim DG, Son DH, Choi UK, Lee SH. Changes in the quality characteristics of soy sauce made with salts obtained from deep ocean water. Korean J. Food Preserv. 17: 820-825 (2010)
32. Park HK, Sohn KH. Analysis of significant factor in the flavor of traditional Korean soy sauce (II)-analysis of nitrogen compounds, free amino acids and nucleotides and their related compounds. J. Korean Soc. Food Cult. 12: 63-69 (1997)
33. Lim JH, Jeong JH, Jeong MJ, Jeong IH, Kim BM. Effects of preprocessing on quality of fermented red snow crab chionoecetes japonicus sauce. Korean J. Fish. Aquatic Sci. 48: 284-292 (2015)
34. Byun MW, Nam TG, Lee GH. Physicochemical and sensory characteristics of doenjang made with various concentrations of salt solution. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 1525-1530 (2015)
35. Mok CK, Lee JY, Song KT, Kim SY, Lim SB, Woo GJ. Changes in physicochemical properties of salted and fermented shrimp at different salt levels. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 187-191 (2000)
36. Cho KM, Kang JR, Kim GM, Kang MJ, Hwang CE, Jeong YS, Kim JH, Lee CK, Shin JH. Quality characteristics of low salted garlic doenjang during fermentation. Korean J. Food Preserv. 21: 627-635 (2014)
37. Kim JG. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste-amino nitrogen, amino acids, and color. J. Food Hyg. Saf. 30: 22-28 (2004)
38. Lee S, Jeong Y, Yim SB, Yu S. Antioxidant sctivity of Korean traditional soy sauce. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 1399-1406 (2015)
39. Choi NS, Chung SJ, Choi JY, Kim HW, Cho JJ. Physico-chemical and sensory properties of commercial Korean traditional soy sauce of mass-produced vs. small scale farm produced in the Gyeonggi area. Korean J. Food. Nutr. 26: 553-564 (2013)
40. Lee KS, Kim DH. Trial manufacture of low-salted kochuzang (red pepper soybean paste) by the addition of alcohol. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 146-154 (1985)
41. Jin TY, Lee WG, Lee IS, Wang MH. Changes of physicochemical, sensory and antioxidant activity characteristics in rice wine, Yakju added with different ratios of *Codonopsis lanceolata*. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 201-206 (2008)
42. Lee J, Mok C. Changes in physicochemical properties of low salt soybean paste (doenjang) during fermentation. Food Eng. Prog.

14: 153-158 (2010)
43. Song YC, Lee SP. Evaluation in physicochemical properties of soy sauce fortified with soymilk residue (*Okara* koji). Korean J. Food Preserv. 20: 818-826 (2013)
44. Lee KH, Choi HS, Choi YH, Park SY, Song J. Changes in isoflavone content and quality characteristics of cheonggukjang prepared with *Bacillus subtilis* HJ18-3 and KACC 15935. Korean J. Food Preserv. 21: 121-128 (2014)
45. Lee SY, Park NY, Kim JY, Choi HS. Quality characteristics of rice-doenjang during fermentation by differently shaped meju and adding starter. Korean J. Food. Nutr. 25: 505-512 (2012)
46. Oh HI, Park JM. Changes in microflora and enzyme activities of traditional kochujang prepared with a meju of different fermentation period during aging. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1158-1165 (1997)
47. Choi YH, Lee JE, Kim EM, Park SY. Quality changes of steamed rice bread with addition of active gluten and rice nuruk. Korean J. Food. Nutr. 25: 253-258 (2012)
48. Kim HS, Park IB, Lee YJ, Shin GW, Lim JY, Park JW, Jo YC. Characteristic of glasswort (*Salicornia Herbacea L.*) mixture fermentation utilizing *Aspergillus oryzae.* J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 1384-1390 (2010)
49. Jones L, Cooper R, Harding R. Composition of mealworm tenebrio molitor larvae. J. Zoo Animal Med. 3: 34-41 (1972)
50. Park HK, Sohn KH, Park OJ. Analysis of significant factors in the flavor of traditional Korean soy sauce (I)-analysis of general characteristics, sugars and organic acids contents. J. Korean Soc. Food Cult. 12: 53-61 (1997)
51. Yang ST, Lee EH. Taste compounds of fresh-water fishes 7. taste compounds of wild eel meat. Korean J. Fish. Aquatic Sci. 17: 33-39 (1984)
52. Kim N. Trend of research papers on soy sauce tastes in Japan. Food Ind. Nutr. 12: 40-50 (2007)
53. Choi KS, Kwon K, Lee J, Lee R, Choi J, Ryu M, Im M, Hong Y, An Y. Effects of methods of adding barley malt in the production of kanjang (Korean traditional soy sauce) on it's chemical compositions and sensory characteristics. J. Korean Soc. Agric. Chem. Bi. 46: 195-200 (2003)
54. Kim HS, Kim ZU. A Study on the manufacturing of soysauce by the use of milled barely. J. Korean Soc. Appl. Bi. 29: 107-115 (1986)
55. Lioe HN, Wada K, Aoki T, Yasuda M. Chemical and sensory characteristics of low molecular weight fractions obtained from three types of Japanese soy sauce (shoyu)-koikuchi, tamari and shiro shoyu. Food Chem. 100: 1669-1677 (2007)
56. Choi KS, Choi JD, Chung HC, Kwon KI, Im MH, Kim YH, Kim WS. Effects of mashing proportion of soybean to salt brine on kanjang (soy sauce) quality. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 174-180 (2000)
57. Fujimaki Masao. Flavor-improving effects of glutamic acid and inosine monophosphate. Vol. 14. pp. 102-116. In: Natural and synthetic additives in human food. Robert Ammon. Steinkopff Verlag. Saarbrücken, Saarland, Germany (1974)
58. Boudreau JC. Taste and the taste of foods. Sci Nat. 67: 14-20 (1980)
59. Tseng YH, Lee YL, Li RC, Mau JL. Non-volatile flavour components of Ganoderma tsugae. Food Chem. 90: 409-415 (2005)
60. Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim JG, Sung NJ. Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing. J. Life Sci. 18: 1123-1131 (2008)
61. Ko S, Choi K, Kim H. Comparison of proximate composition, mineral nutrient, amino acid and free sugar contents of several *Panax* species. J. Ginseng Res. 20: 36-41 (1996)
62. Choi HS, Kim JH, Kim JC. Effects of different drying methods on fatty acids, free amino acids, and browning of dried Alaska pollack. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 1182-1187 (2007)
63. Liu P, Huang M, Song S, Hayat K, Zhang X, Xia S, Jia C. Sensory characteristics and antioxidant activities of Maillard reaction products from soy protein hydrolysates with different molecular weight distribution. Food Bioprocess Tech. 5: 1775-1789 (2012)