

누룩의 protease 활성이 멸치액젓의 품질에 미치는 영향

이명해¹ · 정인학² · 정석태³ · 장윤희^{1,*}

¹명지대학교 대학교 대학원 식품영양학과, ²강릉원주대학교 해양식품공학과,
³농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부

Effect of *Nuruk* protease activity on the quality of anchovy sauce

Myeong Hae Lee¹, In Hak Jeong², Seok Tae Jeong³, and Yun Hee Chang^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Graduate School of Myongji University

²Department of Marine Food Science and Technology, Gangneungwonju National University

³Fermentation & Food Processing Division, Department of Agro-food Resource, NAAS, RDA

Abstract This study investigated the quality characteristics of anchovy sauce fermented using *Nuruk* to maintain a unique flavor, reduce fishy smell, and improve the fermentation rate. Six kinds of fermented fish sauces, including the control, fermentation using traditional *Nuruk*; SH Koji (Fs-A), JJ Koji (Fs-B), GJ Koji (Fs-C); and fermentation with improved *Nuruk*; *Aspergillus luchuensis* (Fs-D) and *Aspergillus oryzae* (Fs-E), were prepared. Samples were collected at 15 days intervals with 10% *Nuruk* added to raw anchovy and fermented at 25°C for 60 days. The free amino acids, especially glutamic acid content and amino nitrogen, were the highest in Fs-C, reflecting the high protease activity of *Nuruk C* (GJ). Regarding overall sensory evaluation, the control was the lowest, whereas Fs-C was highly evaluated among the sample groups. The addition of *Nuruk* not only shortened the fermentation period, but also increased the overall sensory level by adding umami and reducing fishy odor.

Keywords: anchovy sauce, *Nuruk*, protease activity, accelerated fermentation, quality characteristics

서 론

액젓은 어패류에 20% 이상 다량의 식염을 첨가함으로 부패를 억제하고 자가소화 및 미생물에 의해 육을 분해하여 6개월-3년간 발효·숙성시킨 후 고형물을 여과한 액상의 전통 수산 발효식품으로서, 현재 동남아시아를 비롯한 유럽, 북미 및 지중해 연안에서도 널리 이용되고 있는 식품이다(Kim과 Kim, 1991), 또한 우리나라에서도 천연 조미료로서 액젓 형태로 많이 이용되고 있으며, 간장대용, 깊은 감칠맛으로 인한 무침이나 절임용, 김치양념 등 다양한 용도로 이용되고 있다, 특히 멸치액젓은 김치 산업의 국제화로 인해 산업적 중요성이 일반 것갈보다 상대적으로 큰 것으로 평가되고 있음을 보고하였다(Kim 등, 2000; Park, 1995). 액젓은 각종 아미노산과 무기물 성분이 풍부하게 함유되어 있는 중요한 영양 공급원의 하나이다. 그러나 액젓의 제조시 첨가되는 다량의 식염으로 말미암아 발효시간이 길어지고(Gildberg 등, 1984), 이로 인한 생산비가 높아져서 액젓의 산업화가 어려울 뿐만 아니라, 건강에 관심이 많은 현대인들로부터 외면받을 가능성이 높다(Kim 등, 1990). 또한 발효과정에서 생성된 저분자 펩타이드, 아미노산 및 지방산 등이 발효과정 중의 여러 가지 화학변화에

의하여 발생하는 비린 냄새와 맛이 있어 현대인의 식생활 패턴 변화와 더불어 서구화에 물들어가고 있는 젊은 세대들에게 기피 요인으로 작용할 수 있다(Kim 등, 2002; Park, 1976). 위의 문제점들을 개선 또는 해결하고자 하는 방법으로 프로테아제가 풍부한 어류내장이나 액젓에서 추출한 조효소의 첨가(Choi 등, 1999; Klomkiao 등, 2006) 또는 단백질 가수분해 효소의 첨가(Chaveesul 등, 1993; Lee 등, 1984; Raksakulthai 등, 1986), 장류 코지의 첨가(Chae 등, 1986; Indoh 등, 2006) 등 효소분해에 의한 다양한 속성 액젓 제조가 연구되어왔다. 이러한 연구들에서 효소 및 코지의 이용으로 발효 시간을 단축시키고 품질면에서도 긍정적인 액젓을 제조할 수 있음을 시사하였으나, 상업적 효소첨가에 의한 속성발효는 쓴맛을 증가시키고(Choi 등, 1999), 생선 내장이나 액젓에서 추출한 조효소의 사용은 액젓의 대량생산을 위해서는 한계점이 있으며(Park 등, 2006), 장류 코지, 특히 간장소스에 많이 이용되는 *A. oryzae* 코지는 높은 중성과 알칼리성 프로테아제 활성에 비해 산성 프로테아제 활성이 낮아서 pH가 점차 낮아지는 액젓 환경에서는 산성 프로테아제 활성을 향상시키는 것이 중요함을 보고한(Zhao 등, 2017) 바 있어 속성어간장 생산을 위해 산성 프로테아제 활성이 높은 누룩을 첨가한 연구가 필요하다고 사료된다.

누룩은 제조 방법에 따라 자연환경 중에 존재하는 미생물이 증식되어 만들어지는 재래누룩과 살균한 전분질 원료에 *A. luchuensis* 또는 *A. oryzae* 등의 순수배양된 발효 종균을 접종하여 만드는 개량누룩으로 분류된다(Wo 등, 2010). 재래누룩은 누룩에 존재하는 다양한 미생물들의 발효력, 효소 및 유기산 생성 등의 차이로 인해 제품의 맛과 향이 다양할 수 있으며, 개량누룩은 양조산업

*Corresponding author: Yun Hee Chang, Department of Food and Nutrition, Myongji University, Yongin 17058, Korea
Tel: +82-31-330-6202
Fax: +82-31-330-6202
E-mail: yhchang@mju.ac.kr
Received March 31, 2021; revised May 16, 2021;
accepted May 21, 2021

Table 1. Formulas of anchovy sauce fermented with different *Nuruks*

Sample	Ingredients (g)			
	Anchovy (%)	<i>Nuruk</i> (%)	Salt (%)	Water (%)
Control ¹⁾	500(77.5)	0	125(19.4)	20(3.1)
Fs-A	500(71.9)	50(7.2)	125(18.0)	20(2.9)
Fs-B	500(71.9)	50(7.2)	125(18.0)	20(2.9)
Fs-C	500(71.9)	50(7.2)	125(18.0)	20(2.9)
Fs-D	500(71.9)	50(7.2)	125(18.0)	20(2.9)
Fs-E	500(71.9)	50(7.2)	125(18.0)	20(2.9)

¹⁾Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E)

에서 전분질을 분해하는 효소원으로만 이용되며, 배양효모를 첨가해야만 발효 시간이 단축되면서 항상 일정한 품질을 얻을 수 있다고 보고하였다(So, 1999; Yu, 1998). 한편 우리 고문헌(Jeon, 1449; Yu, 1766)에 따르면 누룩을 이용하여 숙성장을 만들었다는 기록이 있고, 어장 제조시에 신곡과 흑곡을 사용하여 열흘 만에 먹었다는 기록(Bang, 1913)이 있다. 그러나 우리의 전통 발효제인 재래누룩을 이용한 액젓 제조에 대하여 분석한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 전통적인 액젓 제조 방법에 따른 멸치액젓 고유의 풍미를 유지하면서 발효속도를 향상시키고 맛과 향 등의 관능 기호도를 증가시켜 품질향상을 기할 목적으로 고안되었다. 이를 위한 연구 방법으로 멸치액젓의 제조과정에 시판 누룩 5가지를 첨가하여 protease 활성도와 그것이 멸치액젓의 품질에 미치는 영향을 알아보고자 발효 기간에 따른 pH, 총산도, 아미노산성 질소, 휘발성 염기질소(VBN), 갈색도와 유리아미노산(FAA) 함량 및 관능검사를 실시하였으며, 이들을 비교 검토함으로써 멸치액젓에의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

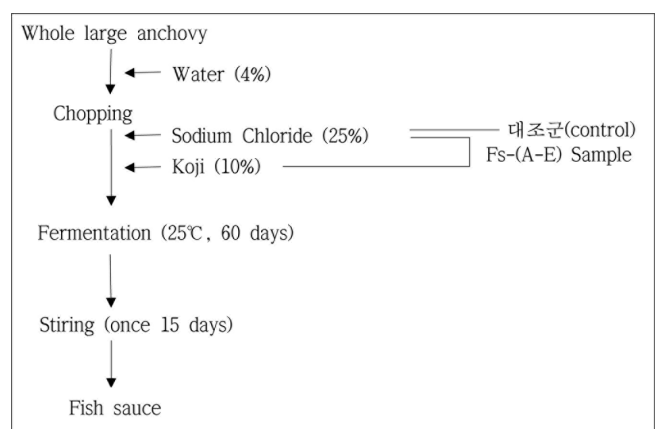
재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 멸치는 2020년 5월에 부산시 기장군에서 어획된 신선한 대형 멸치를 구입하여 빙장상태로 실험실까지 운반되었다. 누룩은 시중에서 시판되고 있는 2020년에 제조된 재래곡자 3종: SH; 송학곡자(광주광역시), JJ; 진주곡자(경남 진주), GJ; 금정산성누룩(부산광역시)과 흡입누룩(개량누룩) 2종: 백곡과 황곡(각각 *Aspergillus luchuensis* 와 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 제조한 것; 화왕산 산성누룩, 경남 창녕)을 구매하였다. 소금은 2018년산 신안 천일염(전남, 신안농협)을 구매하여 2년 동안 간수 짠 것을 사용하였다.

액젓 제조방법

멸치액젓 제조는 Table 1, Fig. 1과 같다. 조업 현장에서 어획된 대형 멸치를 즉시 동결한 것에 20 mL의 수분을 가하여 마쇄하였다. 대조군(control): 마쇄된 멸치원료에 대해 25%의 천일염을 첨가한 것, 실험군 5종은 Fs-A: 멸치원료에 천일염과 상업용 재래곡자 SH를 첨가한 것, Fs-B: 멸치원료에 천일염과 상업용 재래곡자 JJ를 가한 것, Fs-C: 멸치원료에 천일염과 상업용 재래곡자 GJ를 가한 것, Fs-D: 멸치원료에 천일염과 상업용 백곡을 가한 것, Fs-E: 멸치원료에 천일염과 상업용 황곡을 가한 것을 시료로 하여 제조한 후 플라스틱 박스에 저장·발효하였다. 25°C에

**Fig. 1.** Flow diagram for preparation of anchovy sauce

서 60일간 발효시키면서 15일 간격으로 시료를 저어 주었고, 동시에 시료를 채취하여 품질특성을 조사하였다.

protease 활성

누룩의 프로테아제 활성은 Anson 개량법(Anson, 1938) 및 선행연구(Oh & Eom, 2008; Mun 등, 2017)에서 사용한 방법을 변형하여 측정하였다. Citrate-phosphate 완충용액을 pH 3.0 또는 pH 7.0로 각각 제조하여 프로테아제 종류에 따라 각기 다른 완충용액에 녹인 1% casein 용액을 기질로 사용하였다. 누룩 10 g에 증류수 90 mL를 넣어 2시간 동안 진탕추출한 후 여과하여 100 mL로 정용하여 제조한 효소액을 항온수조에서 미리 예열한 후 기질용액과 효소액 1 mL를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 0.4 M의 TCA 2 mL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 25분간 실온 방치 후 침전물을 제거한 상층액 1 mL에 0.4 M Na₂CO₃ 4 mL와 1 N Folin reagent 1 mL를 차례로 넣고 20분간 발색시킨 다음 660 nm에서 흡광도(Thermo Fisher Scientific; Madison, WI, USA)를 측정하였다. 효소액의 protease 활성은 tyrosine을 표준물질로 한 검량선을 이용하여 반응액 중의 tyrosine 양을 정량하였으며 시료 1 g이 1분 동안 1 μg의 tyrosine을 생성할 때를 1 unit으로 하였다.

pH 및 총산도

시료 10 g을 5배 희석하여 shaking (30°C, 1 h)한 후, 8000 rpm에서 10분간 원심분리(Hitachi CR 22GIII; Hitachi, Japan)하여 여과지(Whatman No. 2)로 걸렀다. 여과액 2 mL를 취해 증류수 2

mL를 가한 후 pH 측정기(Seven Easy pH; Mettler-Toledo AG, 8603 Schwerzenbach, Switzerland)로 측정하였고, 총산도는 pH를 측정할 시료 3 mL에 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 pH 8.2까지 적정된 소비량에 0.009를 곱하여 환산하여 나타내었다.

아미노산성 질소

아미노산성 질소함량의 변화는 Formol 적정법에 준하여 측정하였다(Chae 등, 2000; Nippon 등, 1985). 시료 5 g에 증류수 25 mL를 가하여 10000 rpm에서 균질화(Ultra Turrax T25 basic; Ika Works Inc., Deutche)한 후, 8000 rpm, 4°C에서 7분간 원심분리(Hanil Combi R515, Korea)하였다. 상층액 10 mL를 취하여 증류수 10 mL를 가하고 0.1 N NaOH으로 pH 8.5로 조정한다. 다음, 35% formalin 용액 10 mL를 적가하여 pH가 낮아지면 다시 0.1 N NaOH을 넣으면서 pH가 8.5가 될 때까지 적정하였다.

휘발성염기질소

식품공전(MFDS, 2020)의 Conway unit을 이용한 미량확산(Conway)법을 응용하였다. 시료 1 g에 20% TCA 19 mL를 혼합하여 4°C, 8000 rpm에서 5분간 원심분리(Hanil Combi R515, Gimpo, Korea) 하였다. 내실과 외실에 각각 0.01 N 황산 1 mL와 원심분리한 시료의 상층액 1 mL를 외실에 넣은 후, 외실에 탄산칼륨 포화용액 1 mL를 주입하고 확산기를 조용히 회전하여 외실의 시료와 탄산칼륨 포화용액을 잘 섞어 25°C에서 시간시간 동안 incubator (우주과학 TC-L-1, Korea)에서 정치하였다. 내실의 황산 용액에 Brunswick 시약 10 µL을 넣고 마이크로뷰렛(HWA-1620507, Vitlab, Germany)을 사용하여 0.01 N 수산화나트륨 용액으로 적정하여 2회 평균치로 구하였다.

갈색도

갈색도는 시료 10 g에 탈이온수 40 g을 가하여 30°C에서 1시간 동안 shaking (VS-8480 SF, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea) 한 후, 8000 rpm에서 10분간 원심분리(Hitachi CR22GIII; Hitachi, Japan)하여 여과지로 걸렀다. 여과액을 다시 0.45 µm PVDF syringe filter unit으로 여과하여 탈이온수로 2배 희석한 다음 그중 1 mL를 취해서 420 nm의 파장에서 흡광도(Thermo Fisher Scientific; Madison, WI, USA)를 측정하였다.

유리아미노산

시료 1 g을 15 mL 코니칼 튜브에 넣고 70% 에탄올 5 mL를 첨가하여 1시간 동안 shaking (VS-8480SF; Vision Scientific Co., Ltd.) 후에 10분간 방치하였다. 증류수 4 mL를 추가로 넣고 다시 1시간 동안 shaking 후에 10분간 방치하였고, 이후고, 이후 원심분리기를 이용하여 15,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil Combi

R515, Korea)하였다. 상층액 1 mL에 증류수 1 mL를 첨가하여 0.20 µm syringe filter를 사용하여 여과한 다음 아미노산분석기(L-8800; Hitachi High-Technologies Co., Tokyo, Japan)로 분석하였다.

관능평가

멸치액젓의 관능검사를 실시하기 위해 명지대학교 생명윤리위원회를 통하여 질병관리본부 교육시스템에서 ‘인간대상 및 인체 유래물 연구 관련 연구자 교육과정’을 수료하였으며, IRB 승인번호는 질병관리본부 [on]-20-A-00007427이다.

누룩을 첨가한 멸치액젓의 색(color), 풍미(flavor), 맛(taste), 전체적인 기호도(overall acceptability) 등의 평가를 위하여 액젓을 먹어본 경험이 있는 30-60대의 남녀 11명의 패널을 구성하여 관능적 특성을 평가하였다. 평가전에 시료에 대한 설명과 평가요령을 자세히 설명하였으며, 한 개의 시료를 평가한 후에는 반드시 물로 입가심하고 다른 시료를 평가하도록 하였다. 5점 채점법으로 평가하였으며, 각 항목에 대한 측정기준은 우량 5점, 양호 4점, 보통 3점, 나쁨 2점, 현저히 나쁨 1점으로 평가하였다. 시료 평가의 오차를 줄이기 위해 액젓 원액과 액젓을 넣고 끓인 미역국을 동시에 평가하도록 했다.

통계분석

모든 실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, 평균값들 사이의 유의적 차이는 IBM SPSS statistics program (Version 23; IBM Co., Amork, NY, USA)을 사용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA) 방법에 따라 유의수준 95%에서 Tukey’s test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

protease 활성

멸치액젓의 발효촉진제로 사용한 누룩의 프로테아제 활성도를 최적작용 pH에 따라 중성 프로테아제, 산성 프로테아제로 나누어 Table 2에 나타냈다. 중성 프로테아제 활성에 있어서 누룩 A, C가 유의미하게 높았으며, 이 중 누룩 C는 산성 프로테아제 활성에 있어서도 유의적으로 높은 경향을 보였고($p<0.05$), 산성 프로테아제 활성도가 208.2±5.35로 가장 높게 나타났다. Jeong 등(2011); Yeo 등(2014)에 따르면 누룩 C로부터 *A. oryzae*, *Rhizopus* sp., *Absidia* sp.의 곰팡이가 분리되었다고 보고한 바 있다. 누룩 C의 발효에 관여하는 이들 곰팡이 중 *Rhizopus* sp. 곰팡이는 균주의 생육 속도 및 효소 생성도가 높으며(Choi 등, 2012), 또한 산성에서 단백질분해 활성이 높은 미생물이라고 보고한 바 있으므로(Huh, 2014) 누룩 C가 중성, 산성 프로테아제 활성을 높이는

Table 2. Protease activity of different commercial Nuruks

		Neutral protease (pH 7)	Acid protease (pH 3)
재래곡자	Nuruk A ¹⁾	184.9±6.79 ^{a2)}	201.0±3.70 ^{ab}
	Nuruk B	114.6±6.04 ^c	107.7±4.45 ^d
	Nuruk C	185.1±5.70 ^a	208.2±5.35 ^a
개량누룩	Nuruk D	89.4±1.84 ^d	161.3±4.39 ^e
	Nuruk E	130.1±4.47 ^b	188.4±5.34 ^b

¹⁾Nuruk A: SH koji, Nuruk B: JJ koji, Nuruk C: GJ koji, Nuruk D: Baekguk, Nuruk E: Hwangguk. ²⁾The different small letters in a column indicate significantly different values within the experimental groups ($p<0.05$) by Tukey’s test. Data expressed as the mean±SD. 1 unit: produce 1 µg of tyrosine from casein per min.

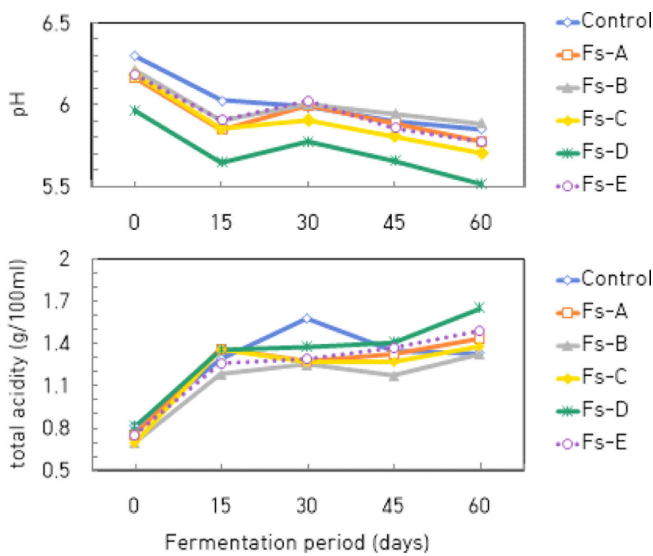


Fig. 2. Changes in pH and total acidity during fermentation of anchovy sauce fermented with different *Nuruks*. Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E). Values are significantly different within the storage periods ($p < 0.05$) by Tukey's test. Data expressed as the mean \pm SD.

데 영향을 미친 것으로 사료된다. 한편 Yeo 등(2014)이 누룩으로부터 분리된 곰팡이 중 식품으로 사용 가능한 균주들을 선별하여 효소활성을 정량적 분석한 결과에 따르면, *Rhizopus* sp.과 *Aspergillus* sp. 중 몇몇 균주는 전분 분해활성과 acid protease 활성이 높아 장류 제조에 적합할 것으로 보고했다. 더불어 풀러밀로 과쇄한 밀을 증자시켜 각각의 양조용 사상균을 접종하여 만든 누룩의 효소학적 특징을 조사한 결과 *Rhizopus* sp. (513.2 units/g) > *A. oryzae* (352.0 units/g) > *A. kawachii* (309.2 units/g) 순으로 acid protease 활성을 나타냈다. 이러한 연구들은 본 실험의 결과를 뒷받침해 준다. 개량누룩의 중성 프로테아제 활성도는 누룩 E가 누룩 D보다 유의미하게 높게 나타났다. 중성 프로테아제 활성에 있어서는 누룩 D보다 누룩 E가 45.5%의 증가율을 보였으나, 산성 프로테아제 활성에서는 16.8%의 증가율을 보임으로써 중성 프로테아제 활성에서 만큼의 차이를 보이지 않고 좁혀지는 것을 볼 수 있었다. 이것은 기질의 차이가 있기 때문으로, 쌀가루로 만든 *A. oryzae* Koji가 과쇄밀로 만든 *A. oryzae* Koji의 6.5배나 낮은 산성 프로테아제 활성이 나타남을 보고한바 있다(Yeo 등, 2014). 이와같이 누룩 종류별로 프로테아제 활성에 있어서 차이가 나는 것은 누룩의 원료, 발효 환경과 종균 특성 등에 기인한 것으로 보고한 바 있다(Lee 등, 2009).

pH 및 총산도

장류의 pH와 총산도는 발효·숙성과정에 관여하는 미생물의 발효대사와 밀접한 관련이 있어 발효의 한 지표로 사용되고 있으며, 재래식 누룩 3종과 특정 종균으로 빚은 개량식 누룩 2종을 발효제로 이용하여 제조한 멸치액젓의 pH와 총산도의 변화는 Fig. 2와 같다. pH는 발효 0일 차에 5.97-6.30 범위로 Fs-D 시료를 제외한 모든 시료가 큰 차이를 나타내지 않았으며, 그중 control이 가장 높은 수치를 나타냈고 백국 첨가 시료군인 Fs-D가 가장 낮았다. 발효 기간의 경과에 따라 처음 15일까지는 급격히 낮아지

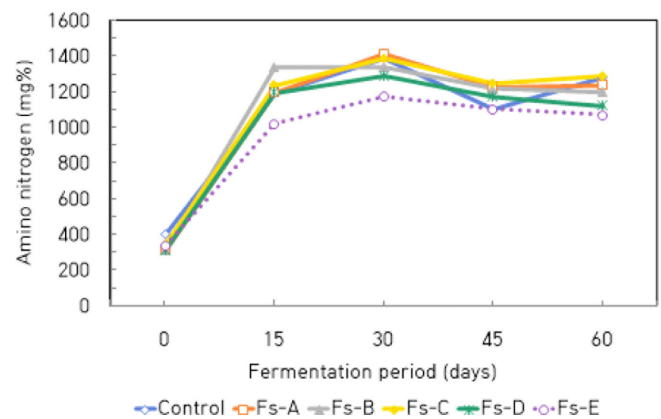


Fig. 3. Changes in amino nitrogen during fermentation of anchovy sauce fermented with different *Nuruks*. Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E). Values are significantly different within the storage periods ($p < 0.05$) by Tukey's test. Data expressed as the mean \pm SD.

다가 경시적으로 낮아지는 것을 알 수 있었다. Fs-C와 Fs-D는 다른 시료에 비해 유의적으로 낮은 pH 값을 보였으며, 발효 종료 시 각각 5.71 ± 0.05 , 5.52 ± 0.02 를 나타냈다. 프로테아제 활성도가 가장 높았던 Fs-C와 중성 프로테아제에 비해 산 프로테아제가 증가한 Fs-D의 pH가 감소함에 따라 산 프로테아제가 활성화되어 추가적으로 단백질 가수분해가 발생하였기 때문으로 사료된다. 총산도의 함량 변화는 액젓의 발효기간 동안의 pH 변화의 추세에 따라 결정되었다. 일반적으로 액젓을 비롯한 다른 장류 발효 식품에서도 나타나는 pH 저하와 산도의 증가는(Nam 등, 2012; Rho 등, 2008) 발효·숙성 중 미생물의 작용으로 유기산이 생성되기 때문으로 알려져 있으며(Kwak 등, 2003), 본 실험의 결과에서도 유사한 경향을 나타냈다. 초기 산도는 대조군과 누룩 첨가 시료군 중 Fs-D가 모두 0.81로 가장 높았다. 그러나 발효 60일에 대조군과 Fs-D가 1.33 ± 0.05 g/100 mL과 1.65 ± 0.19 g/100 mL로, 각각 초기 0일차에 비해 64.2%, 103.7%의 증가율을 보임으로써 유의적인 차이를 보였다. 특히 Fs-D는 가장 낮은 pH와 가장 높은 총산도를 유지했는데, 이는 Fs-D 액젓에 첨가된 누룩이 *A. niger*의 변이균으로 백국균이라 불리는 *A. luchuensis* (Hong 등, 2013)의 내산성 활성이 강하고 유기산 생성력이 높아 pH를 낮추는 특징이 있을 뿐만 아니라(Kim 등, 1999; Lee 등, 2005) 또한 누룩의 원료가 밀 전분이 아니라 쌀로 만들어졌으므로 당이 더 많았을 것으로 사료된다(RDA(2016)의 식품성분표에 의하면 밀: 75.8 g/100 g, 쌀: 79.5 g/100 g의 당 함유). 총산도와 pH의 차이는 주로 산과 암모니아의 생성으로 인한 것으로(Zhao 등, 2017), 0.3% 정도(RDA, 2020)로 적은 양이지만 멸치 근육세포 내의 당(글리코겐)과 아미노산 중 당생성아미노산(glucogenic amino acid)의 분해로 생긴 탄소골격이 포도당 합성에 이용됨으로써 유기산의 생성에 기여한 것으로 사료된다. 뒤따르는 유리아미노산 함량 분석에서 aspartic acid, glutamic acid, proline 등의 당생성아미노산 함량이 대조군에 비해 누룩 첨가 시료군이 더 많은 것에도 일치한다. 따라서 각종 유기산과 같은 발효산물들 뿐만 아니라 유리 수소이온, 유리아미노산 및 올리고펩티드의 아미노산과 같은 가수분해 생성물은 pH와 총산도의 차이에 영향을 주었을 것이라고 사료된다(Michihata 등, 2000).

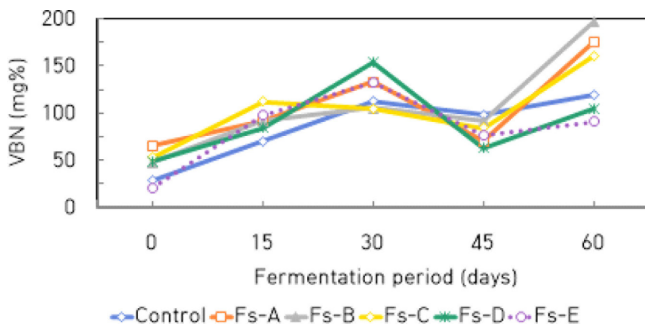


Fig. 4. Changes in total volatile base nitrogen during fermentation of anchovy sauce fermented with different *Nuruks*. Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E). Values are significantly different within the storage periods ($p < 0.05$) by Tukey's test. Data expressed as the mean±SD.

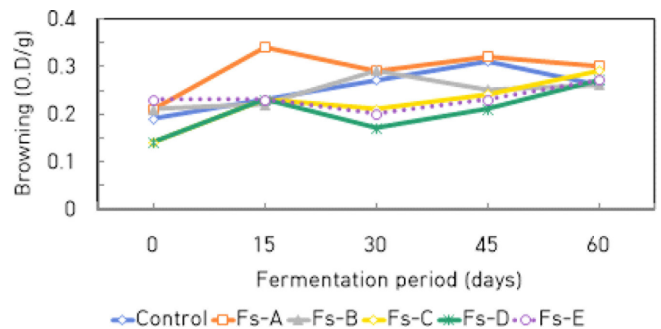


Fig. 5. Changes in browning color during fermentation of anchovy sauce fermented with different *Nuruks*. Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E). Values are significantly different within the storage periods ($p < 0.05$) by Tukey's test. Data expressed as the mean±SD.

아미노산성 질소

아미노산성 질소는 발효식품의 숙성도를 판단하는 기준으로, 어육단백질의 가수분해 정도의 지표가 될 뿐만 아니라, 향미와도 관련이 있으므로 액젓의 중요한 품질 지표(Byun 등, 2000; Kang 등, 2001; Kim 등, 2015a) 중의 하나로 아미노산성 질소의 함량 변화는 Fig. 3과 같다. 발효 초기 15일 동안 급격히 증가하다가 그 이후에는 경시적으로 증가하였으며, Zhong 등(2015)의 연구와 유사한 경향을 나타내었다. 발효 0일에 아미노산성 질소함량은 제품에 따라 308.7 ± 14.9 - 399.0 ± 0.0 mg%로 나타났고, 대조구가 다른 시료구에 비해 399.0 ± 0.0 mg%로 유의미하게 높은 함량을 나타냈는데, 이는 시료구들에 비해 대조구의 원료 멸치 함량이 높았기 때문으로 사료된다. 그러나 발효 60일에는 대조구가 Fs-C와 유의성에 있어 차이를 나타내지는 않았지만, 오히려 Fs-C의 1292 ± 14.9 mg% 보다 낮은 값인 1281 ± 0.0 mg% (대조구)로 나타났다. 재래누룩 첨가구 중에서는 Fs-C 시료가, 개량누룩 중에서는 Fs-D 시료가 높은 아미노산성 질소함량을 나타내었으며, 발효가 진행됨에 따라 어육 단백질의 자기소화로 인한 내인성 단백분해효소의 작용뿐만 아니라 누룩의 단백분해효소에 의한 작용으로 점차적으로 가수분해되었을 것으로 사료된다. Jeong 등(2013)에 따르면 protease 역가는 제품의 아미노산성 질소함량과 비슷한 경향을 보이는 것으로 보고한 바 있어 본 연구와 유사하였다. Kim 등(1999)에 따르면 액젓의 풍미에 관여하는 성분으로 아미노산성 질소 성분과 지방임을 제시한 바 있다. 따라서 유리 아미노산의 함량이 가장 높은 Fs-C가 관능평가의 flavor와 전체적인 기호도에서 높은 점수를 얻은 것은 높은 아미노산성 질소 함량에 기인한 것으로 사료되며, 유리아미노산 중에서 산성아미노산에 속하는 글루탐산과 아스파르트산의 총 함량이 26.9%로 가장 높은 것 또한 아미노산성 질소의 높은 함량을 뒷받침해 준다.

휘발성 염기질소

누룩을 첨가하여 제조한 멸치액젓에서 휘발성 염기질소의 함량은 Fig. 4에서 보여주고 있다. 휘발성 염기질소는 어류의 부패 정도를 나타내며 일반적으로 특정 부패 박테리아의 성장과 관련이 있다(Dissaraphong 등, 2006). 그림에서 보는 바와 같이 모든 시료에서 휘발성 염기질소 함량의 경향은 유사하였다. 앞선 pH의 변화에서 pH가 유의적으로 높았던 Fs-B 시료의 휘발성 염기질소 함량이 가장 높았다. 또한 유기산 생성력이 높아 pH가 유

의적으로 낮았던 Fs-D 시료가 휘발성 염기질소 함량(105 ± 0.00 mg%)이 유의미하게 낮은 것을 볼 수 있었는데, 이것은 부패 박테리아의 성장이 억제되었기 때문이며, 휘발성 염기질소 함량이 가장 높았던 Fs-B 시료(196 ± 9.90 mg%)에 비해 46.4%가 낮은 값을 나타내었다. 본 연구의 전체적인 경향을 보면, 여러 가지 잡균의 번식이 많은 재래누룩에서 대체로 휘발성 염기질소 함량이 높고 단일균만을 집중시켜 제조한 개량누룩을 첨가한 액젓이 휘발성 염기질소의 함량이 낮은 것을 볼 수 있었다. Kim 등(2002); Kim 등(2015b)에 따르면 액젓의 휘발성 염기질소 함량에 있어서 차이를 보이는 것은 원료 어종의 차이, 원료 상태, 숙성기간, 숙성온도, 숙성기간의 단축을 위한 발효촉진제, 염농도 등에 기인하며, 어류의 선도판정의 주요한 척도로 사용되고 있는 휘발성 염기질소량을 액젓과 같은 발효식품의 품질 척도로 이용하기 위한 품질기준이 미흡하므로 품질기준 마련을 위한 연구(Cho, 1999)가 필요할 것으로 사료되며, 본 연구에서는 관능평가의 풍미(fishy)를 통하여 보충하고자 하였다.

갈색도

액젓의 갈색도는 420 nm의 파장에서 나타내는 흡광도의 수치로 Fig. 5와 같다. 발효과정 내내 모든 시료가 경시적으로 증가하는 경향을 보였다. 발효 0일 차에는 0.14-0.23의 범위로 Fs-C와 Fs-D 시료가 가장 낮은 값을 나타냈으며 Fs-E가 O.D. 0.23으로 가장 높게 나타났다. 시료 간에 유의적인 차이를 보이지는 않았으나, 발효 60일에 Fs-A와 Fs-C 시료가 각각 0.30 ± 0.01 , 0.29 ± 0.00 로 가장 높은 수치를 보였다. Fs-C 시료의 경우 발효 0일에 가장 낮은 값을 나타냈으나 발효 60일에는 가장 높게 나타났는데, 발효 0일 차에 가장 높은 값을 보였던 Fs-E의 증가율 17.4%에 비해 Fs-C의 증가율이 107.1%로 가장 변화가 큰 것을 볼 수 있었다. Fs-C시료는 protease 활성도가 가장 높은 누룩으로 만들어졌기 때문에, 액젓의 갈색도는 누룩첨가로 인한 당과 아미노산의 반응으로 melanoidin을 생성하는 Maillard 반응(Lopetcharat 등, 2001)뿐만 아니라 단백질분해효소 활성도 또한 기여한 것으로 확인할 수 있었다. Jun 등(2016)에 의하면 발효가 거의 끝난 12개월차 액젓 시료들의 유리아미노산 조성에서 공통적으로 tyrosine이 검출되지 않았다고 하였는데, 본 연구에서도 Fs-C 시료에서 tyrosine의 함량이 적은 것으로 보아 유사한 경향을 나타냈다. 즉, tyrosinase에 의하여 산화되어 효소적 갈변이 일어난 것으로 사료

Table 3. The content of free amino acids in anchovy sauce fermented with different *Nuruks* on 60th day of fermentation (mg/100 g)

FAAs	Control ¹⁾	Fs-A	Fs-B	Fs-C	Fs-D	Fs-E
Asp	710.19	652.87	645.53	680.53	632.35	534.55
Thr	456.39	412.35	410.78	417.76	368.65	338.90
Ser	398.95	378.76	388.49	395.39	345.63	325.70
Glu	1313.54	1546.17	1505.70	1559.46	1179.86	1070.35
Gly	277.51	265.71	264.77	281.55	245.24	196.78
Ala	653.58	630.15	610.11	628.70	576.61	552.92
Cys	48.09	34.98	37.17	36.04	24.05	27.66
Val	517.43	491.21	487.46	495.67	436.48	424.99
Met	270.42	276.50	286.38	256.15	257.87	247.40
Ile	469.61	441.66	445.04	445.72	398.68	379.64
Leu	880.48	860.23	878.49	862.10	747.78	726.90
Tyr	257.87	150.15	138.84	141.19	289.83	316.96
Phe	423.72	413.90	416.40	411.69	377.80	394.27
Lys	734.24	677.59	663.33	679.49	620.71	611.65
NH3	149.45	193.77	182.07	187.10	132.30	132.73
His	420.57	369.38	380.31	378.05	352.88	335.57
Trp	73.54	73.72	71.87	70.48	73.02	68.06
Arg	218.36	35.90	130.84	96.90	252.03	230.60
Pro	222.00	290.30	293.77	310.95	206.61	210.62
Total	8495.94	8195.27	8237.35	8334.92	7518.39	7126.26

¹⁾Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekguk* (Fs-D), *Hwangguk* (Fs-E)

된다. Lee 등(2009)에 따르면 식품의 갈변반응은 색뿐만 아니라 냄새에도 영향을 주어 식품의 품질에 영향을 미치기도 하며, 영양가 및 기능성의 변화를 동반하기도 하는 것으로 알려져 있으며, 이것은 본연구의 관능 평가에서 Fs-C 시료가 향과 맛뿐만 아니라 전체적인 기호도에서도 유의적으로 높은 점수를 받은 것과도 일치한다.

유리아미노산

멸치액젓을 25°C에서 60일 동안 발효시켰을 때 유리아미노산의 조성 및 함량은 Table 3과 같다. 총 유리아미노산 함량은 대조구가 가장 높게 나타났다. 대조구(77.3%)에는 생멸치에 소금만 첨가되었으므로 생멸치의 함량이 누룩 첨가 액젓(71.7%)보다 많아 총 유리아미노산 함량이 높게 나타났다. 따라서 누룩 첨가 시료구들은 누룩을 첨가함으로써 멸치원료의 감소에 따른 단백질함량의 감소와 수분활성도가 낮아져서 효소작용의 감소로 총 아미노산의 함량에 큰 차이가 있을 것으로 여겨졌으나, Fs-C 시료는 5.6%의 멸치 함량 감소에도 총 아미노산 함량은 1.9% 감소한 값을 나타냄으로 큰 차이를 나타내지 않음을 볼 수 있었다. 누룩이 효소제로서 기여한 것으로 사료된다. 5가지의 누룩 첨가시료구 중에서 누룩 C를 첨가하여 제조한 Fs-C 시료의 총 아미노산 함량이 가장 높은 것으로 나타났는데, 이것은 누룩의 원료가 쌀로 만들어진 개량누룩에는 alcohol에 불용성인 glutenin의 함량이 밀로 만든 누룩에 비해 적기 때문이며, 또한 Fs-C 시료가 단백질 분해능이 가장 높았던 것과 아미노산성 질소 함량에서 가장 높게 나타난 것과도 일치했다. 이 결과는 Zhao 등(2017)의 단백질 분해활성도가 큰 시료에서 유리아미노산 함량이 더 많았으며 아

미노산성 질소의 함량이 높은 것과도 유사한 경향을 나타냈다. 특히 glutamic acid 함량은 총 아미노산 중 차지하는 비율이 15.0-18.9%로 가장 높았고, 재래누룩 첨가시료(Fs-A, B, C)가 대조구(Co)와 개량누룩 첨가시료(Fs-D, E)보다 훨씬 높게 나타났으며, 재래누룩 첨가시료 중에서도 Fs-C 시료가 가장 높은 함량을 나타냈다. 이것은 단백질 분해 효소제인 누룩의 원료와 누룩에 존재하는 미생물들의 산성 프로테아제 활성, 그리고 glucoamylase의 활성이 크게 기여한(Gao 등, 2010) 것으로 사료된다. Yeo 등(2014); Song 등(2013)에 따르면 재래누룩에 존재하는 대표적인 미생물인 *Rhizopus* sp., *A. oryzae* 균주에서 산성 프로테아제 활성뿐만 아니라 glucoamylase 활성 또한 높게 나타남을 보고한 바 있다. 따라서 Fs-C 시료에는 앞의 protease 활성에서 보았듯이 위의 두 가지 균주들이 많으므로 관능평가의 전반적인 기호도를 향상시킬 수 있는 글루탐산의 함량이 가장 높게 나왔음을 뒷받침해 주었다. Cho 등(2000)에 따르면 숙성기간에 따른 멸치액젓의 성분변화에서 glutamic acid, leucine, alanine, lysine, isoleucine, valine 등의 순으로, 본 연구에서 glutamic acid, leucine, lysine, aspartic acid, alanine, valine 등의 순과 유사한 경향이였다. 그러나 Kim(1998)의 고정화 미생물을 이용한 숙성발효에서는 phenylalanine, leucine, lysine, glutamic acid의 순으로 본 연구의 결과와는 큰 차이를 보였는데, 이는 멸치육 단백질의 분해 패턴의 차이 때문으로 사료된다. 또한 Choi 등(1999)에 따르면 효소제 protamex의 경우는 glutamic acid의 함량이 상대적으로 낮은 반면, 쓴맛을 나타내는 isoleucine과 leucine의 함량은 높게 나타났다. 결론적으로 산성 프로테아제, glucoamylase 활성이 강한 *Rhizopus* sp. 균주를 비롯한 유용한 미생물이 있는 재래누

Table 4. Sensory evaluation of anchovy sauce fermented with different *Nuruks* on 60th day of fermentation

	Control ¹⁾	Fs-A	Fs-B	Fs-C	Fs-D	Fs-E
Color	3.83±0.83 ^{ns2)}	4.18±0.87	3.73±0.79	3.55±0.52	4.09±0.70	3.91±0.94
Flavor	3.25±1.14 ^{ns}	4.00±0.89	4.18±0.87	4.18±0.75	3.55±1.21	3.27±0.90
Taste	3.33±0.98 ^{ns}	4.27±1.10	4.00±0.89	4.00±0.77	4.18±0.75	3.73±0.90
Overall accept-ability	3.25±1.06 ^{b3)}	4.27±0.90 ^{ab}	4.09±0.94 ^{ab}	4.45±0.52 ^a	4.09±0.83 ^{ab}	3.73±1.01 ^{ab}

¹⁾Control means Anchovy sauce without *Nuruk* and each samples mean anchovy sauce fermented with SH koji (Fs-A), JJ koji (Fs-B), GJ koji (Fs-C), *Baekjuk* (Fs-D), *Hwangjuk* (Fs-E)

²⁾No significant difference within the experimental groups ($p < 0.05$).

³⁾The different small letters in a row indicate significantly different values within the storage periods ($p < 0.05$) by Tukey's test. Data expressed as the mean±SD.

Score: 5; very good, 4; good, 3; fair, 2; poor, 1; very poor

를 사용하여 제조한 액젓이 총 유리아미노산, 특히 글루탐산의 함량을 증가시키고 맛을 향상시킬 수 있음을 더욱 명확히 했다.

관능검사

누룩을 첨가하여 단백질의 분해 활성으로 인한 멸치액젓의 관능적 평가 결과는 Table 4와 같다. 액젓의 색은 갈색도로 볼 수 있으며 아직 완전히 발효가 끝난 상태가 아니라 3.55±0.52-4.18±0.87로 유의적인 차이는 없었으나, 색깔이 좀 더 진하게 나타난 것이 낮은 평가를 받았다. 풍미는 비린내(fishy)가 많을수록 점수가 낮은 경향을 나타내었으며, 유의수준 내에서($p < 0.05$) 통계적 차이는 없었으나, 유의확률이 0.06%로 Fs-B, Fs-C가 각각 4.18±0.87, 4.18±0.75로 대조구와 다른 시료구에 비해 더 높은 평가를 받았다. 이는 누룩의 균주가 다를 뿐만 아니라, 원료가 다르므로 지방함량에 있어서 차이가 있기 때문으로 여겨지는데 재래누룩의 원료인 밀과 개량누룩의 원료인 쌀의 지방조성이 각각 1.0, 0.4% (국가표준식품성분 DB 9.2, 2020)로 밀이 2.5배가 많아서 지방산에 미생물이 자라면서 더 많은 향미 성분이 만들어졌을 것으로 사료된다. 맛은 주로 감칠맛을 기준으로 평가되었으며, 맛에 있어서도 유의수준($p < 0.05$) 내에서는 통계적 차이가 없었으나, 대조구가 상대적으로 낮은 평가를 받았다. 유리아미노산 분석 결과에서 재래누룩 첨가 시료구가 대조구와 개량누룩 첨가구에 비해 glutamic acid 함량이 높게 나타난 것이 이를 뒷받침해 준다. 전반적인 수용도에 있어서 Fs-C 시료가 4.45±0.52로 유의적으로 높은 평가를 받았고, 누룩 무첨가구인 대조구는 유의적으로 낮은 평가를 받았다. 따라서 누룩의 첨가가 액젓의 비린내를 잡아주고 맛과 기호도를 증가시키는데 기여한 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 멸치액젓 고유의 풍미를 유지하되 비린내를 줄이고 발효속도를 향상시키기 위한 방법으로, 재래식 액젓 제조 시에도 손쉽게 이용할 수 있으며 우리 조상들이 이용한 방법을 응용하고자 시중의 재래식 누룩 3종과 개량식 누룩 2종을 멸치액젓에 첨가하여 누룩 첨가 멸치액젓의 품질특성을 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다.

누룩의 protease 활성은 누룩 C가 모든 시료 중에서 가장 높은 활성도를 보였다. pH와 총산도의 변화는 발효 기간의 경과에 따라 pH가 처음 15일까지는 급격히 낮아지다가 경시적으로 낮아졌으며, 총산도는 pH 변화의 추세에 따라 높아졌다. 아미노산성 질소의 함량은 발효 초기 15일 동안 급격히 증가하다가 그 이후에는 경시적으로 증가하였으며, 발효 60일에 Fs-C가 대조구와 유의성에 있어 차이를 나타내지는 않았지만 1292±14.9 mg% 로 가장

높은 함량을 나타냈다. 휘발성염기질소 함량은 여러 가지 잡균의 번식이 많은 재래누룩에서 대체로 휘발성염기질소 함량이 높고 단일균만을 접종시켜 제조한 개량누룩을 첨가한 액젓이 휘발성염기질소의 함량이 낮은 것을 볼 수 있었다. 갈색도는 발효 초기에 가장 낮은 값을 나타냈던 시료 Fs-C가 발효 60일에는 증가율이 107.1%로 가장 큰 변화를 보이며 높은 것으로 나타났다. 유리아미노산은 Fs-C 시료가 대조구에 비해 5.6%의 멸치 함량 감소에도 총 아미노산 함량은 1.9% 감소한 값을 나타냄으로 큰 차이를 나타내지 않음을 볼 수 있었다. 누룩 첨가시료 중에서 Fs-C 시료의 총 유리아미노산 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 특히 glutamic acid 함량은 총 유리아미노산 중 차지하는 비율이 15.0-18.9%로 재래누룩 첨가시료들이 대조구와 개량누룩 첨가시료들보다 높았으며, 재래누룩 중에서도 Fs-C 시료가 가장 높은 함량을 나타냈다. 관능 평가 결과는 누룩 무첨가구인 대조구가 전체 시료구 중에 가장 낮은 평가를 받았다. 재래누룩 중에서는 Fs-C가, 개량누룩 중에서는 Fs-D가 전체적인 경향으로 볼 때 높은 평가를 받아 우수성이 인정되었다고 할 수 있겠다. 속성 멸치액젓을 제조하기 위한 속성 발효제로서 누룩의 첨가는 발효기간을 단축시키는데 도움을 줄 뿐만 아니라, 감칠맛을 더해 주고 비린내를 줄여줌으로써 풍미를 더해 주어 전체적인 관능도를 높여 주었으므로 멸치액젓의 제조에 효과적인 접근법으로 사료된다.

References

Anson ML. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglulobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 79-89 (1938)

Bang SY. *Joseonyolijebeob*. Hansung Book Co., Ltd., Seoul, Korea. pp. 18-19 (1913)

Byun MW, Lee KH, Kim DH, Kim JH, Yook HS, Ahn HJ. Effects of gamma radiation on sensory qualities, microbiological and chemical properties of salted and fermented squid. *J. Food Protect.* 63: 934-939 (2000)

Chae SK, Itoh H, Nikkuni S. Effects of soy sauce koji and commercial proteolytic enzyme of the acceleration of fish sauce production. *Korean J. Food Sci. Technol.* 21: 639-648 (1986)

Chaveesul R, Smith JP, Simpson BK. Production of fish sauce and acceleration of sauce fermentation using proteolytic enzymes. *J. Aquat.. Food Prod.. T.* 2: 59-77 (1993)

Cho YJ, Im YS, Lee KW, Kim GB, Choi YJ. Quality investigation of commercial northern sand lance, *Ammodytes personatus*, sauces. *J. Korean Fish Soc.* 32: 234-237 (1999)

Cho YJ, Im YS, Park HY, Choi YJ. Quality characteristics of southeast asian salt-fermented fish sauces. *J. Korean Fish Soc.* 32: 98-102 (2000)

Choi JS, Jung ST, Choi JH, Baek SY, Yeo SH. Quality characteristics of wheat nuruks by storage conditions of liquid starters using *Rhizopus oryzae* N174. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 40: 319-

- 324 (2012)
- Choi YJ, Kim IS, Cho YJ, Seo DH, Lee TG, Park YB, Park JW. Peptide properties of rapid salted and fermented anchovy sauce using various proteases 2. characterization of hydrolytic peptides from anchovy sauce and actomyosin. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 32: 488-494 (1999)
- Dissaraphong S, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H. The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation on the chemical physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. Bioresource Technol, 97: 2032-2040 (2006)
- Gao X, Zhao H, Feng Y, Zhao M. A comparative study on physico-chemical properties of Chinese-type soy sauces prepared using pure koji and mixed kojis. Afr. J. Biotechnol. 9(40): 6740-6747 (2010)
- Gildberg A, Espejo-Hermes J, Magno-Orejuna F. Acceleration of autolysis during the fish sauce fermentation by adding acid and reducing the salt content. J. Sci. Food Agr. 35: 1363-1369 (1984)
- Hong SB, Lee M, Kim DH, Varga J, Frisvad JC, Perrone G, Gomi K, Yamada O, Machida M, Houbraken J, Samson RA. *Aspergillus luchuensis*, an Industrially Important Black *Aspergillus* in East Asia. PLoS ONE. 8(5): e63769 (2013)
- Huh CK, Kim SM, Kim YD. Comparison for enzymic activity of Nuruk and quality properties of Yakju by different fungi. Korean J. Food Preserv. 21(4): 573-580 (2014)
- Indoh I, Nagata S, Kanzaki K, Shiiba K, Nishimura T. Comparison of characteristics of fermented salmon fish sauce using wheat gluten koji with those using soy sauce koji. Food Sci. Technol. Res. 12: 206-212 (2006)
- Jeon Sunui. Sangayolog. RDA (gonongseogugyeogchongseo8). 1449. Jeonju, Korea. pp. 100 (2004)
- Jeong KY, Jeon YC, Baek SY, Yeo SH, Choi HS, Park HY, Yoon HJ, Shin JY, Kim JY, Choi JH, Jeong ST, Kim EM, Han GJ. Mold in Nuruk. National Academy of Agricultural Sciences (RDA), Fermentation Utilization Division, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. JJ Design, Suwon. pp. 17 (2011)
- Jeong MW, Jeong JK, Kim SJ, Park KY. Fermentation characteristics and increased functionality of Doenjang prepared with bamboo salt. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 42: 1915-1923 (2013)
- Kang SG, Yoon SW, Kim JM, Kim SJ, Jung ST. Quality of accelerated salt-fermented anchovy sauce prepared with Fig. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1142-1146 (2001)
- Kim IS, Choi YJ, Heu MS, Cho YJ, Im YS, Gu YS, Yang SG, Park JW. Peptide properties of rapid salted and fermented anchovy sauce using various protease. 1. hydrolysis of anchovy sauce and actomyosin by various protease. J. Korean Fish Soc. 32: 481-487 (1999)
- Kim BM, Jung JH, Lim JH, Jung MJ, Jeong JW, Choi YS, Sim JM, Jeong IH, Kim YM, Biological Activities and Physiochemical Properties of Gangwon-do endemic *Makjang* products, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 862-873 (2015a)
- Kim BM, Jung JH, Jung MJ, Lim JH, Kim DS, Lee KP, Jun JY, Jeong IH. Quality changes and pprocessing of fermented red snow crab chionoecetes japonicus ssauce using *aspergillus kawachii* koji, Korean J. Fish Aquat Sci. 48: 644-654 (2015b)
- Kim SH. Development of a new product for fermentation of fish using immobilized microorganisms, ph.D. Thesis, Pukyong National University (1998)
- Kim YM, Kim DS. Seafood in Korea. Changjo, Seoul. pp. 9-10 (1991)
- Kim WJ, Kim SM, Lee SK. Quality characteristics of the accelerated-fermented northern sand lance, *Ammodytes personatur*, Sauce. J. Korean Fish Soc. 35: 709-714 (2002)
- 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. B. Korean Fish Soc. 23: 167-177 (1990)
- Kim JH, Ryu GH, Ahn HJ, Lee KH, Lee HJ, Byun MW. Quality evaluation of commercial salted fermented anchovy sauce. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29: 837-842 (2000)
- Kwak EJ, Park WS, Lim SI. Color and quality properties of Doenjang added with citric acid and phytic acid. Korean. J. Food Sci. Technol. 35: 455-460 (2003)
- Lee YG. Joseonmussangsinsigyolijebeob. jeungbo 9 1924. yeongc-hangseogwan. Korea. pp.19 (2019)
- Lee EH, Cho SY, Ha JH, Oh KS, KIM CY. Processing of Sardine sauce from Sardine Scrap, B. Korean Fish. Soc. 17(2): 117-124 (1984)
- Lee TS, Choi JY. Volatile flavor components in mash of *Takju* prepared by using *Aspergillus kawachii* Nuruks. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 944-950 (2005)
- Lee SY, Jeong HJ, Lee YE, Kim ML, Kim ML, Song HN. Food Chemistry. Yu JG, Power book. Seoul. pp. 291 (2009)
- Lopetcharat K, Choi YJ, Park JW, Daeschel MA. Fish sauce products and manufacturing: a review. Food Rev. Int. 17: 65-88 (2001)
- MFDS. Korea Food Code. Ministry of Food and Drug Safety. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp Accessed Feb. 25, 2021.
- Michihata T, Sado Y, Yano T, Enomoto T. Preparation of Ishiru (fish sauce) by a quick ripening process and changes in the composition of amino acids, oligopeptides and organic acids during processing. J. Jpn. Soc. Food Sci. 47: 369-377 (2000)
- Mun JY, Baek SY, Ro HS, Yeo SH. Mixed culture characteristics of fungi strains isolated from korean traditional *Nuruk*. J. East Asian Soc. Diet Life. 27(3): 348-363 (2017)
- Nam KH, Jang MS, Park HY. Component changes in Commercial Salt- Fermented Anchovy Sauce by Long Fermentation. J. Agr. Life Sci. 46(5): 101-109 (2012)
- 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)
- Park CK. Extractive nitrogenous constituents of anchovy sauce and their quality standard- ization. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 471-477 (1995)
- Park YJ. Sea Food Processing, Hyungseol Publishing Co.. Seoul. pp. 89, 109.(1976)
- Park JH, You SG, Kim YM, Kim DS, Kim SM. Quality Characteristics of accelerated anchovy sauce manufactured with *B. subtilis* JM3 protease J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 35(5): 600-605 (2006)
- Raksakulthai N, Lee YZ, Harrod NF. 1986. Effect of enzyme supplements on the production of fish sauce from male capelin (*Malloctus villosus*). Can Inst. F. Sci. Tec. J. 19: 28-33.
- RDA. Korean Food Composition Table (National Standard Food Ingredients DB 9.2, 2020) revision 1, 9th ed. pp. 16, 19 (2016) <http://koreanfood.rda.go.kr/kfi/ft/ftIntro/list?menuId=PS03562> Accessed Feb. 25, 2021.
- Rho JD, Choi SY, Lee SJ. Quality characteristics of soybean pastes (Doenjang) prepared using different types of microorganisms and mixing ratios. Korean J. Food Cookery Sci. 24: 243-250 (2008)
- So MH. Characteristics of a modified nuruk made by inoculation of traditional nuruk microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 12: 219-25 (1999)
- Song SH, Lee C, Lee S, Park JM, Lee HJ, Bai DH. Analysis of microflora profile in Korean traditional nuruk. J. Microbiol. Biotechn. 23: 40-46 (2013)
- Wo SM, Shin JS, Seong JH, Yeo SH, Choi HJ, Kim TY, Jeong YJ. Quality characteristics of brown rice Takju by different Nuruks. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 301-307 (2010)
- Yeo SH, Baek SY, Jeong ST, Choi JH, Choi HS, Park HY, Jo YM, Kim JY, Baek CH, Lee YJ, Jeong DH, Yun HJ. Application technology of useful brewing microorganisms Agriculture Science Technology Information System, National Institute of Agricultural Sciences(NAAS, RDA). pp. 262-464 (2014)
- Yu Junglim. Jeungbosanlimgyeongje II. RDA(gonongseogugyeogchongseo5). 1766. Jeonju, Korea. pp 119-201 (2004)
- Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG Bibliographical study on microorganism of traditional korean *Nuruk* (since 1945). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 789-79 (1998)
- Zhao Jiuxiang, Jiang Qixing, Xu Yanshun, Xia Wenshui. Effect of mixed kojis on physiochemical and sensory properties of rapid-fermented fish sauce made with freshwater fish by-products. Int. J. Food Sci. Tech. 52: 2088-2096 (2017)
- Zhong C. Nakanishi M, Geng JT. Comparison of non-volatile taste-active components in fish sauce produced from lizardfish *Saurida waneso* viscera under different conditions. Fisheries Sci. 81: 581-590 (2015)