(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0113714
(43) 공개일자 2020년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 27/50 (2016.01) *A23L 11/00* (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23L 27/50 (2016.08)
A23L 11/09 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0034286
(22) 출원일자 2019년03월26일
심사청구일자 2019년03월26일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
이혜진
부산광역시 금정구 금강로279번길 61, 1503호 (장전동, 현대2차아파트)
김유경
서울특별시 송파구 올림픽로35길 104, 10동 1308호 (신천동, 장미아파트)
(74) 대리인
특허법인 남앤남

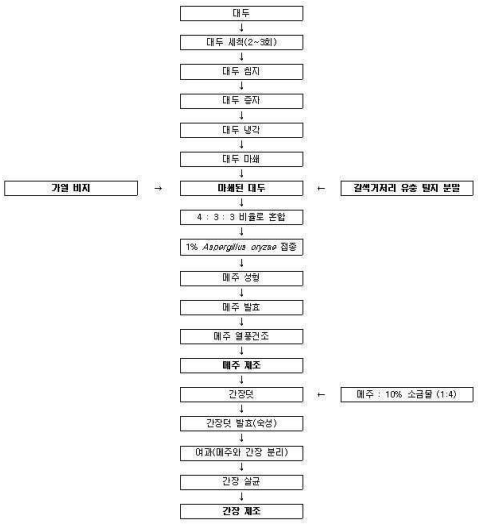
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **비지 및 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 비지 및 갈색거저리 유충을 이용하여 저장성이 개선되고 향미가 우수한 저염 간장을 제조하는 방법 및 이를 통해 제조된 저염 간장에 관한 것이다. 본 발명의 간장 제조방법을 이용하는 경우 30일의 단기 발효·숙성만으로도 총 질소 함량이 1.3% 및 아미노태 질소 함량이 743±0.06 mg%에 도달하는 우수한 품질의 저염 간장을 제조할 수 있을 뿐 아니라, 총 산도를 효과적으로 낮춤으로써 저장성 개선 효과가 우수하다. 따라서, 본 발명의 저염 간장 제조방법은 낮은 염도로 인한 간장의 기호도를 증진시키고 동시에 저장성을 효과적으로 개선시킬 수 있는 이점이 있다.

대 표 도 - 도2



명 세 서

청구범위

청구항 1

(a) 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 혼합한 후 스타터균을 접종하고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하는 단계; 및

(b) 상기 메주와 10~12% 소금물을 혼합한 후 발효시키는 단계를 포함하는, 저염 간장의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 대두, 비지 및 갈색거저리 유충은 4:3:3의 중량비로 혼합하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 (a) 단계에서 스타터균은 황국균인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계에서 메주와 10~12% 소금물은 1:4의 중량비로 혼합하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 (b) 단계에서 발효는 30~35℃에서 20~30일 동안 진행하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 비지는 (i) 대두를 증류수에 침지한 후 가열하는 단계; (ii) 가열된 대두를 마쇄하여 비지와 두유가 혼합된 슬러리 형태로 제조하는 단계; 및 (iii) 상기 슬러리에서 비지를 분리하는 단계를 통해 제조되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 저염 간장.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 간장은 10~11%(w/v) 염도 범위를 갖는 저염 간장.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 비지 및 갈색거저리 유충을 이용하여 저장성이 개선되고 향미가 우수한 저염 간장을 제조하는 방법 및 이를 통해 제조된 저염 간장에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 한국 전통 발효 장류 중 하나인 간장은 콩을 주원료로 하여 발효·숙성시킨 대표적인 대두 발효 식품으로, 소금에서 오는 짠맛, 단백질 가수분해를 통한 감칠맛 등 그 특유의 색과 향미를 가지고 있으며, 식생활에서 부족하기 쉬운 필수 아미노산 등을 보충해주는 중요한 단백질 급원으로 널리 애용되고 있다. 반면 저장·보존성을 높이기 위해 소금을 많이 첨가하여 고염 식품으로 분류되어 고혈압 등 성인병의 주요 원인이 되기도 한다.

[0003] 제조방법에 따른 간장의 종류를 보면, 양조간장은 대두 등 곡류에 누룩균을 배양하여 발효·숙성시킨 간장이고, 한식간장(집간장, 전통간장)은 메주를 주원료로 발효 숙성시켜 만든 간장이며, 산분해간장은 단백질 원료를 산으로 분해하여 만든 간장이며, 효소분해간장은 단백질 원료를 효소로 가수분해하여 만든 간장이며, 혼합간장은 양조간장에 산분해간장을 혼합하여 만든 간장으로 화학간장이라고 할 수 있다. 산분해간장의 경우 몇 시간 내에 간장을 만들 수 있는 장점이 있으나 제조과정 중 강산이 사용되며, 간장 제조 후 산의 제거가 100% 이루어지지 않아 간장 내에 산이 잔류하는 문제 및 제조과정 중 유해성 발암 물질(3-MCPD, DCP)등의 문제가 있다. 이에 비해, 전통간장 및 양조간장의 경우 단백질 원료(대두)에 스타터균을 접종하여 자연적으로 발효시키면서 단백질 분해가 이루어지기 때문에 간장 제조에 있어서 장시간이 소모되는 단점이 있으나 감칠맛이 좋으며 향미가 우수한 특징을 가진다.

[0004] 한편, 세계보건기구(WHO)가 권장하는 하루 소금 권장 섭취량은 5g인데 반해, 한국 성인 기준 하루 소금 평균 섭취량은 13.5g으로 WHO 권장량의 3배에 이른다. 또한, 식품의약품안전처는 한국의 높은 하루 소금 섭취량의 주요 급원이 김치와 된장 등 한국 전통 발효 식품이라고 밝혀 한국 전통 발효 식품을 통한 나트륨 섭취에 실질적인 해결책이 필요한 실정이다.

[0005] 이에 따라, 한국 식품의약품안전청(KFDA)에서도 가공식품의 나트륨을 줄이기 위한 정책을 펴고 있으며, 나트륨 섭취량 주요원인 간장, 된장, 고추장 등의 염도를 단계적으로 낮추는 것에 대하여 고시하고 있다. 그러나, 이러한 저염 발효 식품의 경우 낮은 염도로 인해 저장성과 향미가 떨어진다는 문제점이 있다.

[0006] 이러한 배경하에, 본 발명자는 메주를 이용하여 제조되는 전통 간장 제조에 있어서 비지 및 갈색거저리 유충을 이용하는 경우 염도가 낮으면서도 저장성이 효과적으로 개선될 뿐 아니라, 감칠맛을 부여할 수 있는 다량의 아미노산이 생성되어 향미가 우수한 간장을 제조할 수 있음을 확인하였다. 또한, 본 발명의 전통 간장 제조방법을 이용하는 경우 30일의 단기 발효·숙성만으로도 총 질소 함량이 1.3% 및 아미노태 질소 함량이 743±0.06 mg%에 도달하는 우수한 품질의 저염 간장을 제조할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1759494호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서 본 발명의 목적은 짧은 발효·숙성 과정을 통해서도 저장성이 개선되고 향미가 우수한 저염 간장을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은, 상기 방법으로 제조된 저장성이 개선되고 향미가 우수한 저염 간장을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서,

[0011] 본 발명은 (a) 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 혼합한 후 스타터균을 접종하고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하는 단계; 및 (b) 상기 메주와 10~12% 소금물을 혼합한 후 발효시키는 단계를 포함하는, 저염 간장의 제조방법을 제공한다.

[0012] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (a) 단계에서 대두, 비지 및 갈색거저리 유충은 4:3:3의 중량비로 혼합될 수 있다.

[0013] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (a) 단계에서 스타터균은 황국균일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (b) 단계에서 메주와 10~12% 소금물은 1:4의 중량비로 혼합될 수 있다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 (b) 단계에서 발효는 30~35℃에서 20~30일 동안 진행될 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 비지는 (ⅰ) 대두를 증류수에 침지한 후 가열하는 단계; (ii) 가열된 대두를 마쇄하여 비지와 두유가 혼합된 슬러리 형태로 제조하는 단계; 및 (iii) 상기 슬러리에서 비지를 분리하는 단계를 통해 제조될 수 있다.

[0017] 또한, 본 발명은 방법으로 제조된 저염 간장을 제공한다.

[0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 간장은 10~11%(w/v) 염도 범위를 가질 수 이 있다.

발명의 효과

[0019] 본 발명의 간장 제조방법을 이용하는 경우 30일의 단기 발효·숙성만으로도 총 질소 함량이 1.3% 및 아미노태 질소 함량이 743±0.06 ㎎%에 도달하는 우수한 품질의 저염 간장을 제조할 수 있을 뿐 아니라, 총 산도를 효과적으로 낮춤으로써 저장성 개선 효과가 우수하다. 따라서, 본 발명의 저염 간장 제조방법은 낮은 염도로 인한 간장의 기호도를 증진시키고 동시에 저장성을 효과적으로 개선시킬 수 있는 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 본 발명에 따른 가열 비지의 제조과정을 나타내는 공정도이다.

도 2는 본 발명에 따른 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장 제조과정을 나타내는 공정도이다.

도 3은 대두만으로 제조한 일반메주와 비지와 갈색거저리 유충을 이용하여 제조한 메주를 비교한 사진이다.

도 4는 본 발명의 실시예 3을 통해 제조한 일반 저염 간장(LS)과 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(SOTS)의 비교 사진이다.

도 5는 본 발명에 따른 실시예 3을 통해 제조한 일반 저염 간장(LS)과 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(SOTS)의 프로테아제 활성도와 아밀라아제 활성도를 나타내 그래프이다(LS: 일반 저염 간장, SOTS: 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장, PA: 프로테아제 활성도, AA: 아밀라아제 활성도).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명은 (a) 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 혼합한 후 스타터균을 접종하고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하는 단계; 및 (b) 상기 메주와 10~12% 소금물을 혼합한 후 발효시키는 단계를 포함하는, 저염 간장의 제조방법에 관한 것이다.

[0022] 본 발명의 (a) 단계는 메주를 제조하는 단계로서, 자세하게는 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 특정 조성비로 혼합한 후 스타터균을 접종하고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하는 단계이다.

[0023] 상기 (a) 단계에서 대두는 증류수에 침지된 대두를 증자한 후 분쇄한 것을 사용할 수 있다.

[0024] 상기 (a) 단계에서 비지는 (ⅰ) 대두를 증류수에 침지한 후 가열하는 단계; (ii) 가열된 대두를 마쇄하여 비지와 두유가 혼합된 슬러리 형태로 제조하는 단계; 및 (iii) 상기 슬러리에서 비지를 분리하는 단계를 통해 제조될 있다.

[0025] 상기 (a) 단계에서 갈색거저리 유충은 시중에 판매되는 갈색거저리 유충 탈지 분말로서 단백질을 66%으로 높이고, 지방은 16%로 낮춰진 분말일 수 있다.

[0026] 상기 (a) 단계에서 대두, 비지 및 갈색거저리 유충이 혼합되는 비율은 4:3:3 중량비일 수 있으며, 상기와 같은 비율에서 매우 우수한 프로테아제 활성을 가질 수 있다.

[0027] 본 발명의 하기 실시예 2에서는 메주 제조에 있어서 대두, 비지와 갈색거저리 유충 탈지 분말을 혼합 최적비율 도출을 위한 인자로 프로테아제 활성을 선정하였다. 간장의 품질을 결정 짓는 요소는 총 질소, 아미노산 함량(맛 형성) 등 모두 단백질 분해 효소 활성도가 높은 결과로 도출될 수 있기 때문에, 단백질 분해 효소 활성도가 높을수록 간장의 품질이 우수하다고 평가될 수 있기 때문이다. 메주 제조에 있어 상기 3가지 구성성분(대두, 비지와 갈색거저리 유충)의 다양한 조합비를 적용하였으며, 그 결과 상기 3가지 구성성분이 4:3:3의 중량비로 혼

합되어 제조된 메주에서 가장 높은 프로테아제 활성을 나타내었다.

[0028] 상기 (a) 단계에서 스타터균은 황국균일 수 있으며, 바람직하게는 상기 혼합물에 1%(v/v) 접종될 수 있다.

[0029] 본 발명의 (b) 단계는 메주와 소금물을 혼합하여 간장을 제조하는 단계로서, 자세하게는 상기 (a) 단계를 통해 제조된 메주와 10~12% 소금물을 혼합한 후 발효시키는 단계이다.

[0030] 상기 (b) 단계에서 메주와 10~12% 소금물은 1:4의 중량비로 혼합될 수 있으며, 발효는 30~35℃에서 20~30일 동안 진행될 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 저염 간장을 제공한다.

[0032] 본 발명의 일구체예에서 상기 간장은 10~11%(w/v) 염도를 가질 수 있다.

[0033] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 간장은 30일의 단기 발효·숙성만으로도 총 질소 함량이 1.3% 및 아미노태 질소 함량이 743±0.06 mg%에 도달하며, 프로테아제 활성이 352.01 U/ml를 갖는 우수한 품질의 저염 간장이다. 뿐만 아니라, 본 발명의 방법에 따라 제조된 저염 간장은 10~11%(w/v) 염도에서도 총 산도가 1.0~1.5%를 가짐으로써 저장성이 우수한 특성을 가진다.

[0035] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0037] **<실시예 1>**

[0038] **본 발명에 따른 메주 제조**

[0040] <1-1> 비지 제조

[0041] 가. 원료 대두

[0042] 대두는 영주시에서 재배된 황색 대두(품종: 백태, 대원콩, 국내산)를 사용하였으며, 양질의 대두를 선별하여 흐르는 물에 2~3번 깨끗이 씻어 사용하였다.

[0043] 나. 대두 침지

[0044] 대두 조직을 연화하기 위해 300 g의 대두에 600 mL의 증류수를 채워 25℃에서 12시간 침지하였다. 침지 공정을 통해 대두의 부피는 건조 상태였을 때보다 약 3배 정도 이상 불어난다. 침지 후 흐르는 물에 2~3번 깨끗이 씻으며 대두 껍질을 제거하였다.

[0045] 다. 대두 가열

[0046] 침지된 대두 300 g에 증류수 600 mL를 넣은 후 온도 98℃에서 10분간 충분히 저어주며 가열하였다. 일반적인 비지 제조공정은 침지된 대두를 가열하지 않고 마쇄를 먼저한 다음 비지와 두유를 분리하지만, 본 발명에서의 비지는 마쇄 전 침지된 대두를 먼저 가열하였다. 침지된 대두를 가열한 후 마쇄하는 방법이 콩 비린내를 없애주고, 향미가 우수한 비지를 제조할 수 있다.

[0047] 라. 대두 분쇄

[0048] 가열이 끝난 대두와 콩물을 마쇄기(SMX-5000EQ; Shinil Industry Co., Ltd, Seoul, Korea)로 1차로 5분간 “분쇄‘로 마쇄하였으며, 이후 2차로 5분간 ” 믹서“로 마쇄하여 비지와 두유가 혼합된 슬러리(soybean slurry) 형태로 만들었다.

[0049] 마. 비지분리 공정

[0050] 마쇄된 슬러리를 면포에 부어 비지와 두유를 분리하였다. 분리된 비지는 온도 40℃로 유지하였으며, 메주 제조에 사용되었다.

[0052] <1-2> 메주 제조

[0053] 가. 원료 대두

[0054] 대두는 영주시에서 재배된 황색 대두(품종: 백태, 대원콩, 국내산)를 사용하였으며, 양질의 대두를 선별하여 흐르는 물에 2~3번 깨끗이 씻어 사용하였다.

[0055] 나. 대두 침지

[0056] 대두 조직을 연화하기 위해 300 g의 대두에 600 mL의 증류수를 채워 25℃에서 12시간 침지하였다. 침지 공정을 통해 대두의 부피는 건조 상태였을 때보다 약 3배 정도 이상 불어났다. 침지 후 흐르는 물에 2~3번 깨끗이 씻으며 대두 껍질을 제거하였다.

[0057] 다. 대두 증자

[0058] 1,000 mL 삼각플라스크에 침지한 대두 300 g과 증류수 600 mL를 넣고 (대두가 충분히 증류수에 잠길 만큼) 121℃에서 30분 동안 고압증기 멸균 처리를 통해 증자하였다. 증자된 대두는 온도가 40℃로 내려갈 때까지 충분히 식혀주었다. 증자된 대두를 일정 온도까지 식히지 않고 바로 메주 성형할 경우 곰팡이 증식에 영향을 미쳐 메주 발효가 잘 안 될 수 있다.

[0059] 라. 대두 분쇄

[0060] 증자된 대두 300 g를 마쇄기(SMX-5000EQ; Shinil Industry Co., Ltd, Seoul, Korea)로 1차로 5분간 ” 분쇄 “로 마쇄한 후 2차로 5분간 ” 믹서 “로 마쇄하였다. 이때, 나무주걱을 이용하여 증자된 대두가 고루 마쇄될 수 있도록 잘 저어주며 마쇄하였다.

[0061] 마. 메주 제조

[0062] 대두, 비지 및 갈색거저리 유충을 이용한 메주 제조: 증자된 대두, 비지와 갈색거저리 유충 탈지 분말(Edible-bug Co., Ltd, Seoul, Korea)을 다양한 비율로 첨가(2:4:4, 4:3:3, 6:2:1, 8:1:1 중량비)하여 총합 300g의 메주를 각각 제조하였다. 이때, 스타터균으로 아스퍼질러스 오리재(*Aspergillus oryzae*) KCCM 11530 메주 중량비 1.0%(약 10^8 spores g^{-1})를 고루 접종한 뒤 스테인리스통(10×7×7 cm)에 넣고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하였다.

[0063] 대두를 이용한 메주 제조: 증자된 대두 300g에 동일한 조건으로 한국미생물보존센터(KCCM)에서 미생물 분양받은 스타터균 아스퍼질러스 오리재 KCCM 11530을 메주 중량비 1.0%(약 10^8 spores g^{-1})를 고루 접종한 뒤 스테인리스틀(10×7×7 cm)에 넣고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하였다.

[0064] 대두 및 비지를 이용한 메주 제조: 증자된 대두 및 비지를 4:3의 비율로 첨가하여 총합 300g에 동일한 조건으로 한국미생물보존센터(KCCM)에서 미생물 분양받은 스타터균 아스퍼질러스 오리재 KCCM 11530을 메주 중량비 1.0%(약 10^8 spores g^{-1})를 고루 접종한 뒤 스테인리스틀(10×7×7 cm)에 넣고 25~28℃에서 36~45시간 동안 발효시켜 메주를 제조하였다.

[0066] **<실시예 2>**

[0067] **비지 및 갈색거저리 유충을 이용한 메주의 최적화된 혼합 비율 선정**

[0068] 본 실험에서는 저염 간장 제조에 앞서 대두, 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 메주의 최적화된 혼합 비율을 선정하는 예비 실험을 진행하였다.

[0069] 메주 제조를 위해 대두, 비지와 갈색거저리 유충 탈지 분말을 혼합 최적비율 도출을 위한 인자로 프로테아제 활성을 선정하였다. 간장의 품질을 결정 짓는 요소는 총 질소, 아미노산 함량(맛 형성) 등 모두 단백질 분해 효소 활성도가 높은 결과로 도출될 수 있기 때문에, 단백질 분해 효소 활성도가 높을수록 간장의 품질이 우수하다고 평가될 수 있다.

[0070] 프로테아제 활성도는 식품공전에 따라 분석하였으며, 시료 1 mL와 증류수 99 mL를 혼합한 뒤 1 mL의 시험용액을 채취하여 프로테아제 활성도 시험용액으로 사용한다. 먼저, 0.6% casein 용액 1 mL를 37℃의 항온수조에 10분간 가온한 다음 1 mL의 시험용액에 넣는다. 그다음 0.44 M Trichloroacetic acid(TCA) 2 mL를 넣은 후 37℃의 항

온수조에서 25분간 가온한 다음 여과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과하였다. 여과액 1 mL를 시험관에 취한 뒤 0.44 M Na_2CO_3 5 mL와 증류수와 3배 희석한 Folin-Ciocalteu reagent 1 mL를 넣고 37℃의 항온수조에서 20분간 가온한 후 분광광도계(Ultrospec 2100 pro., Amersham Biosciences Co., USA)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험 용액 또한 상기 동일한 방법으로 측정하였다. 표준물질은 L-tyrosine을 사용하였고, 프로테아제의 역가(Unit/ml)는 시험용액 1 mL가 함유하는 역가로 1분간 효소가 반응하여 생성되는 L-tyrosine의 양을 ㎍으로 환산하여 구하였다.

표 1

[0072] 구성요소의 다양한 첨가 비율별(중량비) 메주

메주 샘플	구성요소
비교군	대두 100%
실험군 1	대두:비지:갈색거저리유충 = 2:4:4
실험군 2	대두:비지:갈색거저리유충 = 4:3:3
실험군 3	대두:비지:갈색거저리유충 = 6:2:2
실험군 4	대두:비지:갈색거저리유충 = 8:1:1

표 2

[0074] 메주의 프로테아제 활성

메주 샘플	프로테아제 활성(Unit/g)
비교군	52.31 ± 0.01
실험군 1	87.21 ± 0.11
실험군 2	89.81 ± 0.08
실험군 3	73.63 ± 0.02
실험군 4	55.95 ± 0.05

[0076] 그 결과 상기 표 2에서 나타낸 바와 같이, 대두, 비지 및 갈색거저리 유충의 첨가 비율이 4:3:3인 실험군 2에서 가장 높은 프로테아제 활성을 보여주었다. 이에, 하기 실험에서는 4:3:3 비율로 제조한 메주를 사용하였다.

[0078] **<실시예 3>**

[0079] **본 발명에 따른 저염 간장 제조**

[0081] <3-1> 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장 제조

[0082] 상기 실시예 1을 통해 준비된 증자된 대두, 비지와 갈색거저리 유충 탈지 파우더를 4:3:3의 비율로 제조한 메주를 스테인리스통(16×16×16 cm)에 10% 소금물과 1:4의 비율로 넣은 뒤, 항온기에서 온도 30℃로 설정하여 30일 동안 발효하여 간장을 제조하였다. 시료는 0, 10, 20, 30일에 채취하여 면포로 1차 여과하였다. 1차 여과 후, 여과액을 원심분리기(VS-24SMTi, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea) 에서 8,000 × g 으로 설정한 뒤 30분 동안 원심분리하여 2차 여과하였다. 여과한 여액은 냉장 보관하며 각 시료에 대한 성분분석을 실시하였다.

[0084] <3-2> 일반 저염 간장 제조

[0085] 증자된 대두만으로 제조한 일반메주를 스테인리스통(16×16×16 cm)에 10% 소금물과 1:4의 비율로 넣은 뒤, 항

온기에서 온도 30℃로 설정하여 30일 동안 발효하여 간장을 제조하였다. 시료는 0, 10, 20, 30일에 채취하여 면포로 1차 여과하였다. 1차 여과 후, 여과액을 원심분리기(VS-24SMTi, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea) 에서 8,000 × g으로 설정한 뒤 30분 동안 원심분리하여 2차 여과하였다. 여과한 여액은 냉장 보관하며 각 시료에 대한 성분분석을 시행하였다.

[0087] **<실시예 4>**

[0088] **본 발명에 따른 저염 간장의 발효 기간에 따른 물리적 특성 변화 측정**

[0089] 상기 실시예 3을 통해 제조된 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(이하 ' SOTS' 라 약칭함) 및 비교예 1에서 제조한 일반 저염 간장(이하 'LS' 라 함)을 시료로 하여 발효 기간에 따른 물리적 특성을 확인하였다. 발효 기간에 따른 상기 시료액의 물리적 특성 변화를 색도, 갈색도, pH, 총 산도와 염도를 확인하였고, 단백질 및 탄수화물의 분해도를 확인하고자 총질소, 아미노태 질소, 프로테아제 활성도, 환원당과 아밀라아제 활성도를 분석하였다. 마지막으로 제조된 간장의 관능평가(기호도 평가)를 시행하였다.

[0091] <4-1> 색도 및 갈색도 측정

[0092] 색도를 측정하기 위해 각 시료액 1 mL를 색도계(CR-400, Minolta Camera Co., Japan)를 이용하여 Hunter' s color value의 L: 명도, a: 적색도, b: 황색도 값으로 나타내었다. White disk(L_0^*=98.32, a_0^*=0.21, b_0^*=1.14)로 standard를 맞춘 뒤 측정하였다. 갈색도는 시료 2 mL를 3차 증류수로 3배 희석한 뒤 원심분리기(VS-24SMTi, Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea) 3,000 rpm으로 설정한 뒤 10분 동안 원심분리하여 고형물을 완전히 제거한 맑은 여과액을 시료로 사용하였다. 여과액은 분광광도계(Ultrospec 2100 pro., Amersham Biosciences Co., USA)를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 각 시료액의 갈색도를 측정하였다.

표 3

[0094] 저염 간장의 색도와 갈색도

	시료	발효 기간(일)			
		0	10	20	30
L	LS	96.86±0.11	23.13±0.02	23.95±0.19	21.90±0.08
	SOTS	96.17±0.03	21.52±0.04	21.11±0.11	20.19±0.02
a	LS	2.21±0.04	0.53±0.02	1.19±0.05	0.82±0.03
	SOTS	2.19±0.01	0.16±0.03	0.21±0.06	0.37±0.05
b	LS	5.94±0.07	2.91±0.02	0.71±0.01	1.30±0.02
	SOTS	5.91±0.08	0.41±0.07	0.21±0.08	0.96±0.05
Browning Index	LS	0.080±0.04	0.175±0.04	0.259±0.03	0.502±0.02
	SOTS	0.085±0.03	0.551±0.11	1.053±0.06	1.576±0.08

[0096] 그 결과 상기 표 3에서 나타낸 바와 같이, 명도(L값), 적색도값(a값)과 황색도값(b값)은 두 실험군 모두 발효 시간 경과에 따라 감소하였다. 갈색도는 두 실험군 모두 발효 시간 경과에 따라 증가하였으며, 비슷한 경향을 보였던 색도와는 달리 SOTS가 LS보다 갈색도가 현저히 높은 것을 알 수 있다. 이를 통해 갈색도의 경우, 메주 내 갈색거저리 유충 탈지 분말로 인한 마일라드 반응(Maillard reaction)의 영향으로 판단되었다.

[0098] <4-2> pH, 총 산도 및 염도 측정

[0099] 시료의 pH는 pH meter(720p Istek Co., Seoul)를 이용하여 3 mL 시료액 그대로 측정하였다.

[0100] 시료의 총 산도는 희석한 시료 10 mL를 pH 8.3이 될 때까지 적정에 소비되는 0.1 N NaOH 용액의 소비량을 측정

하여 총 산도 공식에 대입하여 값을 구하였다.

[0101] 총 산도 (% lactic acid, w/v) = (0.009008×V×F×10)×100 / S

[0102] V : 0.1 N NaOH 용액의 적정 소비량(mL)

[0103] F : 0.1 N NaOH 용액의 역가

[0104] S : 시료 채취량(mL)

[0105] 0.009008 : 0.1 N NaOH 용액 1 mL에 해당하는 젖산의 함량.

[0107] 염도는 Mohr법에 따라 시료 5 mL와 증류수 5 mL를 희석한 후 2% $K_2CR_2O_4$ 지시약 1 mL를 가한 뒤 혼합하였다. 이 혼합액을 0.1 N $AgNO_3$ 용액으로 적갈색이 될 때까지 적정한 후 그 소비량을 공식에 대입하여 염도 함량을 구하였다.

[0108] NaCl 함량(%) = 0.00585×V×F×D×100 / S

[0109] V : 0.1 N $AgNO_3$ 용액의 적정소비량(mL)

[0110] F : 0.1 N $AgNO_3$ 용액의 역가

[0111] D : 희석배수

[0112] S : 시료채취량(mL)

[0113] 0.00585 : 0.1 N $AgNO_3$ 용액 1 mL에 해당하는 NaCl의 양.

표 4

[0115] 저염 간장의 pH, 총 산도와 염도

	시료	발효 기간(일)			
		0	10	20	30
pH	LS	7.33±0.02	6.76±0.09	6.51±0.04	6.41±0.13
	SOTS	7.53±0.04	5.98±0.11	5.87±0.04	5.76±0.02
총 산도(%)	LS	0.24±0.03	0.61±0.03	0.66±0.03	0.79±0.01
	SOTS	0.24±0.04	1.40±0.03	1.41±0.01	1.47±0.03
염도(%)	LS	11.48±0.23	11.51±0.13	11.83±0.12	12.01±0.01
	SOTS	11.33±0.01	11.28±0.01	10.96±0.12	10.24±0.01

[0117] 그 결과 상기 표 4에서 나타낸 바와 같이, 두 실험군 모두 발효 기간이 지남에 따라 계속 감소하여 LS는 7.33~6.41과 SOTS는 7.53~5.76의 범위를 나타냈다. 식품공전에 명시된 간장 pH 범위에 따르나 pH 5.0 이하로는 감소하지 않아 기존의 일반 간장의 pH보다는 조금 높은 수준이었다. 총 산도는 발효 기간이 지날수록 계속 증가하는 경향을 보였다. 그러나 LS와 SOTS의 총 산도가 소금의 농도가 같음에도 불구하고 거의 2배 정도 차이 나는 것으로 나타났다. 저염 간장의 경우 낮은 염도로 인해 저장성이 떨어진다는 문제점이 있으나, SOTS의 경우 LS와는 다르게 낮은 염도를 가짐에도 불구하고 발효기간 경과에 따라 총 산도가 낮아 저장성이 떨어지지 않는 것을 확인하였다. 또한, 염도의 결과가 흥미로운데, LS는 시간이 지남에 따라 염도가 높아지지만, SOTS는 감소하는 경향을 보였다. 일반적으로 간장은 발효 과정 중 수분 증발 현상으로 인해 조금씩 염도가 높아지지만, SOTS의 경우 반대의 결과를 보였주었다. 이러한 결과는 갈색거저리 유충보다는 비지가 간장 속 염을 흡수하면서 염도가 감소하였을 거라 사료된다.

[0118] 참고로, 총 산도는 초산 등 유기산이 발효를 통해 간장에 얼마나 함유되어 있는지를 확인하는 것이며, 이 유기산이 저장성과 관계가 있다. pH 간장의 산성도를 나타내는 수소이온 농도이고, 총산도는 함유된 유기산 함량이다. 이 두가지를 측정하는 실험법 또한 다르며, 간장에서 pH와 총산도는 유기산 종류가 다르기에 비례하지 않는

다. pH의 경우, 발효를 통해 산이 생성되더라도 유리 아미노산 등의 완충작용으로 인해 pH가 크게 감소되지 않는 경향을 보인다. 따라서 저장성 개선 정도를 확인하기 위해서는 초산 등 유기산이 저장성과 관여되어 총 산도가 관련도가 높다.

[0120] <4-3> 총 질소 및 아미노태 질소 함량 측정

[0121] 총 질소 함량은 Kjeldahl 질소정량법(AOAC, 1990)에 따라 측정하였다. 먼저 단백질 분해 과정을 위해 시료 1 mL를 Kjedahl 플라스크에 넣은 다음, 분해 촉매제(K_2SO_4:Se = 10:1) 2개와 진한 황산(95%) 15 mL를 가하여 혼합한 후 420℃로 설정된 단백질 분해 장치(HDG-P12, Hanil Lab Tech Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea)에서 2시간 30분 동안 반응시킨 후 1시간 동안 충분히 냉각시켰다. 냉각시킨 다음, 단백질 증류 장치(HKD-P, Hanil Lab Tech Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 증류 및 중화 과정을 거친 후 0.1 N HCl 표준용액으로 적정하였다. 이와 같은 방법으로 공시험을 시행하였으며, 총 질소 함량을 구하는 공식에 대입하여 함량을 구하였다. 단백질 질소계수는 6.25를 사용하였다.

[0122] 총 질소 (%) = (A-B)×0.0014×F×100 / S

[0123] A : 시료의 0.1 N HCl 용액의 적정소비량(mL)

[0124] B : Blank test의 0.1 N HCl 용액의 적정소비량(mL)

[0125] F : 0.1 N HCl 용액의 역가

[0126] S : 시료의 채취량(μL)

[0128] 아미노태 질소 함량은 Formol 적정법에 따라 분석하였으며, 20 mL의 시료와 80 mL의 증류수를 혼합한 뒤 이 중 20 mL를 채취하여 시험용액으로 취하였다. 시험용액에 0.5% 페놀프탈레인 지시약 5 mL를 가하고 0.1 N NaOH 표준용액으로 담홍색이 될 때까지 중하였다. 그다음, 중성 포르말린 용액을 5 mL를 가하여 유리된 산을 0.1 N NaOH 표준용액으로 담홍색이 될 때까지 한번 더 적정하였으며, 이에 따른 소비량을 구하여 아미노태 질소 함량 공식에 대입하여 결과값을 구하였다.

[0129] 아미노태 질소 함량 (mg%) = (A-B)×1.4×F×D×100 / S

[0130] A : 희석 시료 20 mL를 중화하는 데 소요된 0.1 N NaOH 용액의 적정소비량(mL)

[0131] B : 공시험에서 소요된 0.1 N NaOH 용액의 적정소비량(mL)

[0132] F : 0.1 N NaOH 용액의 역가

[0133] D : 희석배수

[0134] S : 시료채취량(mL)

표 5

[0136] 저염 간장의 총질소와 아미노태 질소 함량

	시료	발효 기간(일)			
		0	10	20	30
총질소(%)	LS	0.01±0.01	0.23±0.10	0.35±0.06	0.69±0.10
	SOTS	0.04±0.06	0.62±0.12	0.70±0.15	1.05±0.20
아미노태 질소(mg%)	LS	28±0.21	257±0.19	337±0.09	477±0.01
	SOTS	37±0.06	501±0.17	603±0.12	743±0.06

[0138] 그 결과 상기 표 5에서 나타낸 바와 같이, 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장인 SOTS의 총질소 함량이 현저히 높음을 알 수 있다. 총질소는 간장의 품질 정도를 판단할 수 있는 기준이며, 식품공전에 명시된 간장의

총질소 함량 기준규격은 1.0% 이상이며, SOTS가 이에 충족한 데 반해 일반 저염 간장인 LS는 충족하지 못하였다. 이는 곧 저염 간장을 제조할 때, 간장의 품질 향상을 위해 부재료를 첨가하지 않고 염도만 낮췄을 경우 우수한 품질을 얻을 수 없다는 것을 보여주는 것이다. 아미노태 질소 함량 또한 SOTS가 LS보다 거의 2배가량 높은 수치를 보였다. 아미노태 질소 함량은 간장의 숙성도를 판단할 수 있는 기준이며, 일반적으로 간장은 아미노태 질소 함량이 500 mg%이상 되어야 충분히 숙성이 되었다고 판단할 수 있다. SOTS의 아미노태 질소 함량은 30일 동안의 숙성 과정 동안 꾸준히 높아지는 경향을 보이며 743 mg%까지 높아졌다. SOTS가 단기숙성과 저염 환경에도 불구하고 총질소와 아미노태 질소 함량이 일반 간장과 비슷한 경향을 보이는 것은 단백질 함량이 풍부한 갈색거저리 유충이 발효되는 과정에서 단백질 분해가 이루어지며 크게 영향을 미쳤을 것이라 판단된다. 이로 인해 품질 향상을 위해 6개월~1년 이상 장기숙성이 필수인 간장의 특성을 타파하고 갈색거저리 유충을 첨가함으로써 30일의 단기숙성만으로도 우수한 품질의 간장을 제조할 수 있는 결과를 도출하였다.

[0140] <4-4> 환원당 함량 측정

[0141] 환원당 함량은 DNS(Dinitrosalicylic acid)에 의한 비색법을 일부 변형한 방법으로 분석하였다. 표준물질은 D-glucose를 사용하였다. DNS 시약은 250 mL 증류수에 NaOH 40 g, 3,5-dinitrosalicylic acid 0.25 g과 Sodium potassium tartrate 75 g을 고루 혼합하여 제조하였다. 10배로 희석한 시료 1 mL에 3 mL의 DNS 시약을 넣은 다음 워터배스를 이용하여 온도 100℃에서 5분 동안 가열하여 반응시켰다. 반응이 끝난 후 10분 동안 냉각시킨 후 분광광도계(Ultrospec 2100 pro., Amersham Biosciences Co., USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 환원당 함량을 구하였다.

표 6

[0143] 저염 간장의 환원당 함량

	시료	발효 기간(일)			
		0	10	20	30
환원당(%)	LS	0.11±0.08	1.45±0.01	1.18±0.01	1.06±0.03
	SOTS	0.17±0.01	1.84±0.01	1.75±0.02	1.36±0.01

[0145] 그 결과 상기 표 6에서 나타낸 바와 같이, LS와 SOT는 각 0.11%, 0.17%에서 각 1.45%, 1.84%로 10일까지 증가하다 20일부터 각 1.18%, 1.75%로 30일까지 각 1.06%, 1.36%로 지속해서 감소하는 경향을 보였다. SOTS가 LS보다 환원당 함량이 높은 것은 비지의 높은 식이섬유 함량이 영향을 크게 미쳤으리라 판단되며, 환원당 함량이 20일 이후부터 지속해서 감소하는 경향은 발효 동안 환원당은 아미노산과 함께 비효소적 갈변 반응을 일으켜 간장의 색을 갈색으로 진하게 변형시키는 역할을 하는데, 이로 인해 환원당이 계속 감소하고 간장의 색은 더욱 진해지는 결과를 도출한 것으로 판단되며, 이는 곧 SOTS의 갈색도가 LS보다 현저히 높은 것과도 연관된다.

[0147] <4-5> 효소(Protease 및 Amylase) 활성도 측정

[0148] 프로테아제 활성도는 식품공전에 따라 분석하였으며, 시료 1 mL와 증류수 99 mL를 혼합한 뒤 1 mL의 시험용액을 채취하여 프로테아제 활성도 시험용액으로 사용한다. 먼저, 0.6% casein 용액 1 mL를 37℃의 항온수조에 10분간 가온한 다음 1 mL의 시험용액에 넣는다. 그다음 0.44 M Trichloroacetic acid(TCA) 2 mL를 넣은 후 37℃의 항온수조에서 25분간 가온한 다음 여과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과하였다. 여과액 1 mL를 시험관에 취한 뒤 0.44 M Na_2CO_3 5 mL와 증류수와 3배 희석한 Folin-Ciocalteu reagent 1 mL를 넣고 37℃의 항온수조에서 20분간 가온한 후 분광광도계(Ultrospec 2100 pro., Amersham Biosciences Co., USA)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험 용액 또한 상기 동일한 방법으로 측정하였다. 표준물질은 L-tyrosine을 사용하였고, 프로테아제의 역가(Unit/ml)는 시험용액 1 mL가 함유하는 역가로 1분간 효소가 반응하여 생성되는 L-tyrosine의 양을 ㎍으로 환산하여 구하였다.

[0149] 아밀라아제 활성도 또한 식품공전에 따라 분석하였으며, 시료 1 mL를 증류수로 3배 희석하여 시험용액으로 사용

하였다. 먼저 1% soluble starch 용액 5 mL, 맥바인 완충용액(0.1 N Sodium hydrogen carbonate solution, 0.1 N Citrate acid solution, pH 7.0) 13 mL와 0.1% 염화칼슘 용액 1 mL를 혼합하여 37℃의 항온수조에서 10분간 가온한 다음 1 mL의 시험용액을 넣고 37℃의 항온수조에서 20분간 추가 가온하였다. 이후 100℃에서 10분간 가열하고 실온에서 10분간 냉각한 뒤 여과하였다. 여과액 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 넣어 90℃에서 15분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 실온에서 10분간 냉각한 후 분광광도계(Ultrospec 2100 pro., Amersham Biosciences Co., USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험 용액 또한 가열을 통해 활성을 잃게 한 후 상기 동일한 방법으로 측정하였다. 표준물질은 D-glucose를 사용하였고, 아밀라아제의 역가(Unit/ml)는 시험용액 1 mL가 함유하는 역가로 1분간 효소가 반응하여 생성되는 D-glucose의 양을 ㎍으로 환산하여 구하였다.

[0150] 그 결과 도 5에서 나타낸 바와 같이, 두 시료의 프로테아제 활성도와 아밀라아제 활성도는 발효 시간이 지남에 따라 지속해서 높아지는 경향을 보였다. LS의 30일에 프로테아제 활성도는 221.90 Unit/ml까지 증가하였고, SOTS의 30일에 프로테아제 활성도는 352.01 Unit.ml까지 증가하였다. 저염 환경임에도 불구하고 SOTS는 높은 프로테아제 활성도를 보였는데, 이는 다량의 단백질을 함유한 갈색거저리 유충이 발효를 통해 아미노산으로 분해되면서 SOTS의 높은 프로테아제 활성도에 영향을 크게 미쳤으리라 판단된다. 간장의 발효 중 단백질 분해를 통해 생성된 다량의 아미노산은 최종 산물인 간장의 향미에 큰 영향을 끼치기 때문에 대단히 중요하다. 양질의 단백질이 많이 분해될수록 다량의 우수한 아미노산이 생성되며, 이는 곧 감칠맛 나는 간장의 결과를 도출하게 된다. SOTS의 아밀라아제 활성도 또한 LS 보다 2배 가량 높은 수치를 보였다. 따라서 높은 아밀라아제 활성도를 통해 감미가 풍부한 간장을 제조할 수 있다.

표 7

[0152] 저염 간장의 발효기간별 프로테아제 및 아밀라아제 활성도

	시료	발효기간(일)			
		0	10	20	30
프로테아제 활성(Unit/ml)	LS	47.26±0.02	166.60±0.02	221.90±0.03	193.99±0.04
	SOTS	60.54±0.04	330.89±0.05	337.55±0.02	352.00±0.01
알파-아밀라제 활성(Unit/ml)	LS	12.33±0.01	67.20±0.07	76.09±0.03	81.56±0.02
	SOTS	11.86±0.04	88.91±0.03	99.87±0.09	123.19±0.02

[0154] <4-6> 관능평가

[0155] 제조한 간장의 관능 특성을 알아보기 위해 고려대학교 생활과학과 대학원생 및 가정교육과 학부생 중 단백질 알레르기가 없는 비숙련 패널(42명)을 대상으로 실험의 목적 등을 충분히 설명한 뒤 관능평가에 참여하도록 하였다. 상기 관능평가에 사용된 시료는 30일 동안 발효가 끝난 최종 산물 SOTS(비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장)와 LS(저염 간장)의 2가지 시료를 고압멸균기를 이용하여 100℃에서 15분간 가열한 후 여과하여 시료로 사용하였다. 각 시료는 일회용 종지에 10 mL씩 담고, 삶은 두부를 일정한 크기(3 x 3 x 3 cm)로 재단하여 시료와 함께 제공하여 일정한 크기의 삶은 두부를 일정한 양의 시료에 찍은 후 맛을 보는 형식으로 진행되었다. 관능평가는 외관, 맛, 향, 조직감(끝맛;잔여감)에 대한 강도를 7점 척도로 평가하고, 마지막으로 전체적인 기호도도 7점 척도로 평가하도록 하였다. 또한 비숙련 패널들에게 1인당 300 mL 생수와 일회용 종이컵을 제공하여 각 시료 평가 전후로 제공된 생수로 충분히 입을 헹군 후 검사를 진행하도록 하였다.

표 8

[0157] 저염 간장의 관능평가

시료	외관	감칠맛	향미	조직감 (끝맛, 잔여감)	전체 기호도
LS	4.18±1.25	4.09±1.70	4.36±0.81	4.64±1.21	4.09±1.38
SOTS	5.09±0.83	5.55±0.82	4.73±1.01	4.55±0.93	5.36±1.03

[0159] 그 결과 상기 표 8에서 나타낸 바와 같이, SOTS가 전체적으로 높은 기호도를 보였다. 외관의 경우, 진한 갈색을 띤 SOTS가 연한 갈색을 띤 LS 보다 일반적인 간장의 색에 가까운 이유로 더 높은 기호도가 나온 것으로 판단된다. 맛(Savory taste; 감칠맛)의 경우, SOTS가 상기 관능평가 항목 중 가장 높은 기호도를 받은 항목이다. 갈색거저리 유충을 이용하여 저염 간장을 제조하였을 때, 가장 큰 이점은 갈색거저리 유충의 양질의 단백질이 발효를 통해 분해되어 간장의 향미에 결정적인 영향을 끼치는 아미노산을 대량으로 생산하여 간장의 염도를 낮춰도 짠맛과 어우러진 감칠맛을 충분히 낼 수 있다는 것이다. 이 큰 이점은 관능평가 통해 결과를 도출할 수 있었다. 전체 기호도의 경우, SOTS가 현저히 높은 기호도를 보여 갈색거저리 유충을 이용하여 간장 등 조미료의 형태로 제조할 경우 기존의 식용곤충의 혐오감을 줄여 보다 효과적으로 식품산업에서 활용도가 높을 것으로 전망된다. 그러나, 향의 경우 LS 보다 SOTS가 더 높은 기호도를 보였지만, 갈색거저리 유충 특유의 발효취를 완전히 제거할 수 없었기에 이 부분에 대해 추후 식용곤충을 이용하여 발효 식품을 제조할 경우 심도 있게 연구해야 할 필요성이 있다. 결과적으로 SOTS가 상기 관능평가의 전 항목에서 더 높은 점수를 받았다.

[0161] **<실시예 5>**

[0162] **추가적 실험을 통한 본 발명의 저염 간장의 물리적 특성 비교 분석**

[0163] 상기 실시예 <3-1>을 통해 제조된 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(이하 ' SOTS' 라 약칭함)에서 비지와 갈색거저리 유충이 간장에 미치는 영향을 보다 자세히 알아보기 위하여, 본 실험에서는 다양한 형태의 간장을 대조군으로 이용하여 이들의 물리적 특성을 비교 분석하였다.

[0165] <5-1> 다양한 형태의 간장 제조

[0166] 상기 실시예 <3-1>을 통해 제조된 증자된 대두, 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장을 실험군하였으며, 대두 100%로 제조한 메주에 18% 소금물을 첨가하여 제조한 고염 간장을 대조군 1, 대두 100%로 제조한 메주에 10% 소금물을 첨가하여 제조한 저염 간장을 대조군 2, 대두 및 비지를 4:3의 비율로 첨가하여 제조한 메주를 이용한 간장을 대조군 3, 대두 및 갈색거저리 유충을 4:3의 비율로 첨가하여 제조한 메주를 이용한 간장을 대조군 4로 준비하여 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0167] 간장 제조에 있어 상기 조건 이외의 조건은 상기 실시예 3과 동일하게 진행되었다.

표 9

[0169] 다양한 형태의 간장 제조

시료	구성요소
대조군 1	대두 100% + 18% 소금물
대조군 2	대두 100% + 10% 소금물
실험군	대두:비지:갈색거저리 유충 = 4:3:3
대조군 3	대두:비지 = 4:3
대조군 4	대두:갈색거저리 유충 = 4:3

[0171] <5-2> 색도 및 갈색도 측정

[0172] 간장의 색도 및 갈색도는 상기 실시예 <4-1>과 동일한 방식으로 측정하였다.

[0173] 그 결과 하기 표 10에서 나타낸 바와 같다.

표 10

[0175] 간장의 색도 및 갈색도

	시료	저장기간 (일)			
		0	10	20	30
L	대조군 1	96.86±0.14	20.13±0.11	19.13±0.02	18.90±0.01
	대조군 2	96.86±0.11	23.13±0.02	23.01±0.19	21.90±0.08
	실험군	96.17±0.03	21.52±0.04	21.11±0.11	20.19±0.02
	대조군 3	95.60±0.08	24.34±0.05	22.33±0.03	21.77±0.13
	대조군 4	95.32±0.10	21.19±0.05	20.48±0.01	18.37±0.01
a	대조군 1	-2.17±0.01	0.51±0.01	0.45±0.05	0.21±0.13
	대조군 2	-2.21±0.04	0.53±0.02	0.51±0.06	0.49±0.15
	실험군	-2.19±0.01	0.16±0.03	0.21±0.06	0.37±0.05
	대조군 3	-2.19±0.11	1.16±0.05	1.06±0.02	0.47±0.01
	대조군 4	-2.20±0.06	0.18±0.08	0.17±0.04	0.20±0.05
b	대조군 1	5.89±0.12	0.59±0.01	0.56±0.08	0.21±0.13
	대조군 2	5.94±0.07	2.91±0.02	0.71±0.01	1.30±0.02
	실험군	5.91±0.08	0.41±0.07	0.21±0.08	0.96±0.05
	대조군 3	5.92±0.08	3.74±0.07	2.12±0.03	0.96±0.05
	대조군 4	5.88±0.12	0.44±0.08	3.22±0.09	1.74±0.08
Browning Index	대조군 1	0.086±0.12	0.451±0.01	0.516±0.13	0.853±0.01
	대조군 2	0.080±0.04	0.175±0.04	0.259±0.03	0.502±0.02
	실험군	0.085±0.03	0.551±0.11	1.053±0.06	1.576±0.08
	대조군 3	0.078±0.09	0.231±0.01	0.326±0.05	0.654±0.03
	대조군 4	0.079±0.08	0.657±0.06	1.092±0.05	1.776±0.02

[0176] Values are means±SD (n=3). L: lightness, a: redness, b: yellowness

[0178] 그 결과 상기 표 10에서 나타낸 바와 같이, 명도(L값)와 황색도값(b값)은 모두 발효 시간 경과에 따라 감소하였다. 갈색도는 갈색거저리 유충을 첨가한 간장(실험군 및 대조군 4)에서 다른 간장 대비 현저히 높은 것을 알 수 있다. 이를 통해 갈색도의 경우, 메주 내 갈색거저리 유충 탈지 분말로 인한 마일라드 반응(Maillard reaction)의 영향으로 판단되었다.

[0180] <5-3> pH, 총 산도 및 염도 측정

[0181] 간장의 pH, 총 산도 및 염도 측정는 상기 실시예 <4-2>와 동일한 방식으로 측정하였다.

[0182] 그 결과 하기 표 11에서 나타낸 바와 같다.

표 11

[0184] 간장의 pH, 총 산도 및 염도

	시료	저장기간 (일)			
		0	10	20	30
pH	대조군 1	7.21±0.14	6.01±0.01	5.43±0.02	5.01±0.21
	대조군 2	7.33±0.02	6.98±0.09	6.76±0.04	6.51±0.11
	실험군	7.53±0.04	5.87±0.04	5.76±0.12	5.23±0.01
	대조군 3	7.32±0.02	6.49±0.03	6.49±0.01	6.49±0.11
	대조군 4	7.47±0.01	6.28±0.12	6.15±0.05	5.94±0.01

총 산도 (%)	대조군 1	0.24±0.01	2.01±0.06	2.13±0.01	2.59±0.13
	대조군 2	0.24±0.03	0.61±0.03	0.79±0.03	0.81±0.03
	실험군	0.24±0.04	1.61±0.03	1.67±0.01	1.71±0.02
	대조군 3	0.21±0.01	0.49±0.02	0.58±0.01	0.49±0.12
	대조군 4	0.30±0.01	1.31±0.01	1.31±0.09	1.61±0.01
염도 (%)	대조군 1	19.02±0.02	20.15±0.01	20.35±0.02	20.34±0.09
	대조군 2	13.48±0.23	12.93±0.01	13.01±0.12	13.32±0.01
	실험군	13.33±0.01	12.43±0.01	11.33±0.12	10.24±0.01
	대조군 3	13.29±0.01	11.05±0.01	10.71±0.03	9.86±0.02
	대조군 4	13.52±0.01	12.64±0.03	12.56±0.01	12.49±0.06

[0185] Values are means±SD (n=3).

[0187] 상기 표 11에서 나타낸 바와 같이, 고염 간장에 해당하는 대조군 1의 경우 저장기간 경과에 따라 pH 수치가 가장 낮으면서 총 산도가 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 고염 간장의 경우 저장성이 우수한 것을 보여주는 결과이다. 다만, 대조군 1은 다른 저염 간장 대비 약 2배 높은 염도를 나타내었다. 한편, 저염 간장의 경우 낮은 염도로 인해 저장성이 떨어진다는 문제점이 있어 왔다. 그러나 본 발명의 실험군의 경우 매우 낮은 염도를 가짐에도 불구하고 저장기간 경과에 따라 pH 수치가 대조군 1과 거의 비슷한 수준으로 내려가는 것을 확인할 수 있었으며, 총 산도의 경우도 대조군 1 다음으로 낮은 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해, 본 발명의 실험군은 고염 간장에 해당하는 대조군 1 대비 1/2 수준의 염도를 가지면서도 저장성이 떨어지지 않는 것을 확인하였다. 이러한 저장성 개선 효과는 메주 제조시 첨가되는 갈색거저리 유충에 의해 도출되는 것으로 판단되었다.

[0188] 한편, 단순히 10% 소금물을 이용하여 제조한 간장(대조군 2) 대비 메주 제조시 비지가 첨가된 간장(실험군, 대조군 3)에서 더욱 낮은 염도를 보임에 따라 메주 제조시 비지 첨가가 간장의 염도를 낮출 수 있음을 확인하였다.

[0190] <5-4> 총질소 및 아미노태 질소 함량 측정

[0191] 간장의 총질소 및 아미노태 질소 함량 측정는 상기 실시예 <4-3>과 동일한 방식으로 측정하였다.

[0192] 그 결과 하기 표 12에서 나타낸 바와 같다.

표 12

[0194] 간장의 총질소 및 아미노태 질소 함량

	시료	저장기간 (일)			
		0	10	20	30
총 질소 (%)	대조군 1	0.04±0.11	0.61±0.03	0.67±0.04	0.88±0.02
	대조군 2	0.01±0.01	0.23±0.10	0.35±0.06	0.29±0.10
	실험군	0.04±0.06	0.62±0.12	0.70±0.15	1.29±0.01
	대조군 3	0.02±0.06	0.21±0.15	0.28±0.21	0.29±0.17
	대조군 4	0.02±0.01	0.64±0.15	0.71±0.12	1.01±0.03
아미노태 질소 (%)	대조군 1	0.22±0.12	4.75±0.02	5.11±0.08	6.13±0.06
	대조군 2	0.28±0.21	2.57±0.19	3.37±0.09	4.77±0.01
	실험군	0.37±0.06	5.01±0.17	6.03±0.12	7.43±0.06
	대조군 3	0.28±0.23	2.06±0.05	2.53±0.31	5.05±0.27
	대조군 4	0.37±0.15	4.86±0.11	5.89±0.05	7.29±0.11

[0196] 그 결과 상기 표 12에서 나타낸 바와 같이, 갈색거저리 유충이 첨가된 간장(실험군 및 대조군 4)에서 단기숙성

과 저염 환경에도 불구하고 총질소와 아미노태 질소 함량이 매우 높게 나타났다. 이러한 결과는 단백질 함량이 풍부한 갈색거저리 유충이 발효되는 과정에서 단백질 분해가 이루어지며 크게 영향을 미쳤을 것이라 판단된다. 특히, 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 본 발명의 저염 간장(실험군)에서 총질소 및 아미노태 질소 함량이 가장 높은 것을 확인하였다.

[0198] <5-5> 총 당 함량 및 환원당 함량 측정

[0199] 간장의 환원당 함량 측정은 상기 실시예 <4-4>과 동일한 방식으로 측정하였다. 한편, 총 당 함량은 phenol-sulfuric acid 방법(Dubios M 등 1956)을 이용하여 측정하였다. 시료를 10-50배로 희석하여 사용하였으며, 표준물질은 glucose(Sigma Chemical Co. USA)를 사용하였다. 시험용액 1 mL에 95% 황산(Sigma Chemical Co. USA) 5 mL와 5%(v/v) phenol(Sigma Chemical Co. USA)용액 1 mL를 가하여 섞고 충분히 발열시켰으며, 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하여(Optizen 2120 UV, Mecasys, Korea) 총 당 함량을 구하였다.

[0200] 그 결과 하기 표 13에서 나타낸 바와 같다.

표 13

[0202] 간장의 총 당 함량 및 환원당 함량

	시료	저장기간 (일)			
		0	10	20	30
총 당 함량 (%)	대조군 1	0.21±0.03	3.75±0.02	2.96±0.01	2.23±0.01
	대조군 2	0.20±0.02	3.57±0.02	2.85±0.09	1.55±0.01
	실험군	0.27±0.03	3.93±0.01	3.60±0.01	2.71±0.02
	대조군 3	0.17±0.01	3.47±0.02	1.97±0.02	1.55±0.03
	대조군 4	0.17±0.01	3.76±0.01	3.13±0.02	0.98±0.01
환원당 (%)	대조군 1	0.12±0.01	1.55±0.02	1.24±0.06	1.02±0.09
	대조군 2	0.11±0.08	1.45±0.01	1.18±0.01	1.06±0.03
	실험군	0.17±0.01	1.84±0.01	1.75±0.02	1.36±0.01
	대조군 3	0.13±0.02	1.46±0.02	1.26±0.03	1.09±0.01
	대조군 4	0.16±0.01	1.75±0.09	1.65±0.06	0.85±0.02

[0203] Values are means±SD (n=3).

[0205] 비지 및 갈색거저리 유충이 첨가된 실험군 간장이 다른 군 대비 환원당 함량이 높은 것으로 나타났다. 한편, 환원당 함량이 20일 이후부터 지속해서 감소하는 경향은 발효 동안 환원당은 아미노산과 함께 비효소적 갈변 반응을 일으켜 간장의 색을 갈색으로 진하게 변형시키는 역할을 하는데, 이로 인해 환원당이 계속 감소하고 간장의 색은 더욱 진해지는 결과를 도출한 것으로 판단된다.

[0207] <5-6> 효소(Protease 및 Amylase) 활성도 측정

[0208] 간장의 프로테아제 및 아밀라아제 활성도 측정은 상기 실시예 <4-5>와 동일한 방식으로 측정하였다.

[0209] 그 결과 하기 표 14에서 나타낸 바와 같다.

표 14

간장의 프로테아제 및 아밀라아제 활성도

	시료	저장기간 (일)			
		0	10	20	30
프로테아제 활성(Unit/ml)	대조군 1	48.23±0.07	211.60±0.02	218.55±0.06	221.35±0.06
	대조군 2	47.26±0.02	166.60±0.02	221.90±0.03	193.99±0.04
	실험군	60.54±0.04	330.89±0.05	337.55±0.02	352.00±0.01
	대조군 3	48.77±0.01	157.21±0.01	188.68±0.11	202.25±0.09
	대조군 4	57.65±0.01	327.55±0.08	347.17±0.12	337.58±0.06
알파-아밀라제 활성(Unit/ml)	대조군 1	12.12±0.03	69.85±0.06	78.01±0.09	88.25±0.03
	대조군 2	12.33±0.01	67.20±0.07	76.09±0.03	81.56±0.02
	실험군	11.86±0.04	88.91±0.03	99.87±0.09	123.19±0.02
	대조군 3	11.99±0.04	64.01±0.11	72.34±0.12	79.21±0.11
	대조군 4	12.01±0.02	85.01±0.02	96.01±0.02	101.23±0.01

[0212] Values are means±SD (n=3).

[0214] 그 결과 표 14에서 나타낸 바와 같이, 모든 시료의 프로테아제 활성도와 아밀라아제 활성도는 저장기간이 경과함에 따라 전반적으로 높아지는 경향을 보였다. 특히, 비지와 갈색거저리 유충을 이용하여 제조한 간장(실험군)의 30일에 프로테아제 활성도는 352.01 Unit.ml까지 증가하였고, 아밀라아제 활성도는 123.19 Unit.ml까지 증가하였다. 갈색거저리 유충을 이용하여 제조한 간장(실험군 및 대조군 4)은 저염 환경임에도 불구하고 높은 프로테아제 활성도를 보였는데, 이는 다량의 단백질을 함유한 갈색거저리 유충이 발효를 통해 아미노산으로 분해되면서 프로테아제 활성도에 영향을 크게 미쳤으리라 판단된다. 아밀라아제 활성도 또한 비지와 갈색거저리 유충을 이용하여 제조한 간장(실험군)에서 가장 높은 수치를 보였으며, 이러한 높은 아밀라아제 활성도를 통해 감미가 풍부한 간장을 제조할 수 있다.

[0216] <5-7> 관능평가

[0217] 간장의 관능평가 측정은 상기 실시예 <4-6>과 동일한 방식으로 측정하였다.

[0218] 그 결과 하기 표 15에서 나타낸 바와 같다.

표 15

[0220] 간장의 관능평가

시료	색	향	맛(감칠맛)	전체 기호도
대조군 1	4.9±1.37	4.3±1.16	5.1±1.35	4.3±1.34
대조군 2	5.1±1.45	4.9±0.88	3.6±0.40	4.9±1.45
실험군	4.9±1.79	3.7±1.42	5.1±1.20	5.3±0.95

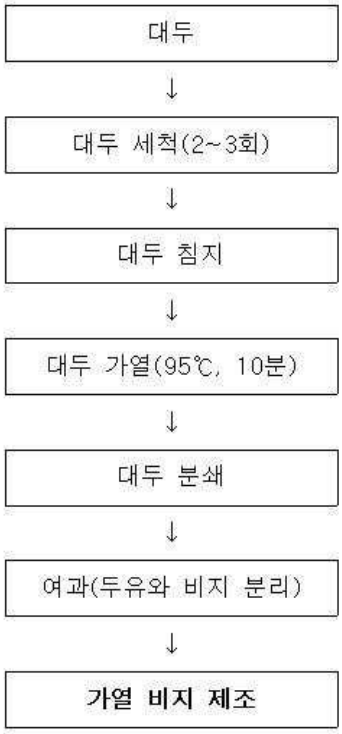
[0222] 그 결과 상기 표 15에서 나타낸 바와 같이, 대조군 1 및 2 대비 비지 및 갈색거저리 유충을 이용하여 제조한 저염 간장인 실험군에서 전체적으로 높은 기호도를 보였다. 특히, 실험군의 경우 갈색거저리 유충의 양질의 단백질이 발효를 통해 분해되어 간장의 향미에 결정적인 영향을 끼치는 아미노산을 대량으로 생산하여 간장의 염도를 낮춰도 짠맛과 어우러진 감칠맛을 충분히 낼 수 있어 맛(감칠맛) 평가에서 좋은 점수를 나타낸 것으로 판단된다.

[0224] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될

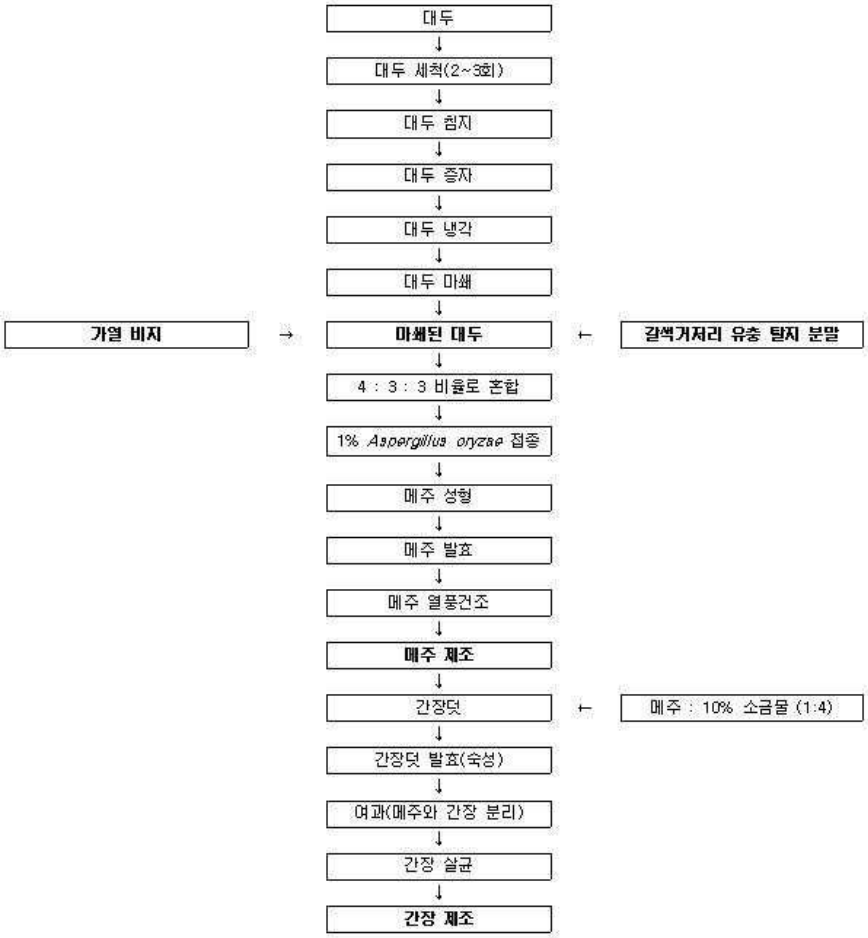
수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1



도면2

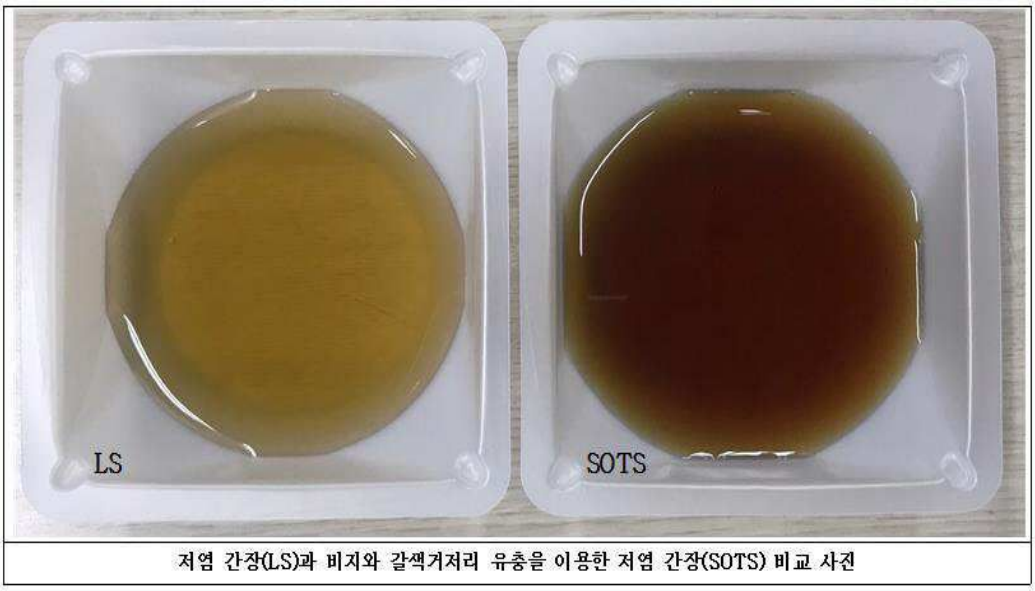


도면3



저염 간장(LS) 메주	비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(SOTS) 메주

도면4



저염 간장(LS)과 비지와 갈색거저리 유충을 이용한 저염 간장(SOTS) 비교 사진

도면5

