



ISSN 1229-8565 (print)

한국지역사회생활과학회지

Korean J Community Living Sci

<http://doi.org/10.7856/kjcls.2018.29.3.333>

ISSN 2287-5190 (on-line)

29(3): 333~345, 2018

29(3): 333~345, 2018

세균형 코지와 씨간장 종균을 혼합 사용한 간장 제조 및 사용소금이 제조간장의 품질에 미치는 영향

문 송 희 · 김 인 철¹⁾ · 장 해 춘[†]

조선대학교 식품영양학과 김치연구센터

목포대학교 식품공학과¹⁾

Soysauce Production Using Bacterial-Koji Mixed with Seed-soysauce Starter and the Effects of Salts on the Characteristics of the Soysauce

Song Hee Moon · In Cheol Kim¹⁾ · Hae Choon Chang[†]

Dept. of Food and Nutrition, Kimchi Research Center, Chosun University, Gwangju, Korea

Dept. of Food Engineering, Mokpo National University, Jeonnam, Korea¹⁾

ABSTRACT

Soysauce was prepared using bacterial-koji fermented with *Bacillus subtilis* DJ1 and a soysauce starter culture, *Bacillus velezensis* SS360-1 isolated from Korean traditional doenjang and seed-soysauce, respectively. Two kinds of soysauce (soysauce using purified salt and soysauce using 4-year aged solar salt) were prepared to investigate the effects of salt on the quality characteristics of the soysauce. The soysauces were fermented at 18°C for 6 months and their characteristics were investigated. The moisture contents, pH levels, salinities, and sugar contents of the soysauces were 70~71%(v/v), 5.0, 28%(w/v), and 32~33 ° brix, respectively. In organic acid analysis of the soysauces, the oxalic acid levels were highest among the organic acids detected. The contents of organic acids in the soysauce were similar regardless of the salt used. The total nitrogen contents were determined to be 0.80~0.83%(w/v), which satisfied the KFDA soysauce standard. High levels of free amino acids (3,391.34~3,757.32 mg/kg) were determined. In particular, significantly large amounts of glutamic acid (649.01~713.72 mg/kg) were determined. Such values of the soysauce resulted in a high score of overall acceptability through a sensory evaluation. The higher contents of free amino acids, especially glutamic acid, were determined from the soysauce using 4-year aged solar salt. Therefore, soysauce using 4-year aged solar salt showed higher scores of flavor and taste and overall acceptability than the soysauce using purified salt.

Key words: bacterial-koji, starter for soysauce, fermented soysauce, solar salt

Received: 8 June, 2018 Revised: 4 July, 2018 Accepted: 20 July, 2018

[†]**Corresponding Author:** Hae Choon Chang Tel: +82-62-230-7345 E-mail: hcchang@chosun.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서론

간장은 콩을 주원료로 발효시킨 우리나라 전통발효 식품중 하나로서 그 기원은 삼국시대로부터 유래되었다(Choi et al. 2016). 간장은 제조방식에 따라 메주를 사용하는 전통간장인 한식간장, 코지를 사용하는 개량식 양조간장, 그리고 비발효 방식인 산분해 간장 등으로 나눌 수 있다(Choi et al. 2013; Ministry of Food and Drug Safety 2017). 발효간장인 한식간장과 개량식 양조간장은 그 제조방식이나 발효에 관여하는 미생물에서 다소 차이가 있다. 메주를 사용하는 한식간장의 발효에서는 자연계의 많은 미생물 중 *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* 속 등의 곰팡이와 더불어 *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* 등의 *Bacillus* 속 세균이 메주 및 간장 발효와 숙성에 중요한 역할을 수행한다(Han et al. 2014). 한식간장은 이와 같은 자연발효에 의해 메주를 제조한 후 이를 소금물에 담그어 일정기간 발효·숙성시킨 후 그 여액을 가공한 것이다(Lee 1988). 개량식 양조간장은 *Aspergillus oryzae* 또는 *Aspergillus sojae* 등의 곰팡이류만을 종균으로 사용하여 증자한 대두와 볶은 밀에 접종하여 발효시키고, 이를 소금물에 담그어 발효·숙성시킨 후 압착 여과 공정을 통해 제조된다(Choi et al. 1999b).

종래의 한식간장에서의 문제점은 첫째, 메주에 분포하는 발효 미생물의 효소활성(protease, amylase)이 높지 않아 제조시 숙성 장류를 얻기까지 장시간이 소요된다는 점이다(Chang & Chang 2007). 둘째, 자연발효방식이므로 제조과정 중 유입되는 다양한 미생물들에 의하여 제품의 맛과 향 등 품질 규격화가 어렵고 mycotoxin 생성 곰팡이류나 변패균의 유입이 유발될 수 있어 위생관리 등의 문제점이 있다(Chang et al. 2012). 셋째, 한식간장은 특유의 쿼퀴한 냄새가 심한 경우가 있어 신세대나 외국인 등 다양한 소비층의 확대가 어렵다는 점이 지적된다(Chang & Chang 2007). 이에 반하여 개량식 양조간장은 효소활성이 강한 코지 종균만(*Aspergillus*

속 곰팡이)만을 사용하여 제조됨으로 한식간장의 문제점들을 해결할 수 있다. 그러나 한식간장 발효에서는 다양한 곰팡이류와 더불어 *Bacillus* 속 등의 세균에 의해 고유한 향미생성이 이루어지지만(Cho & Lee 1970; Yoo et al. 1999) 개량식 양조간장은 코지곰팡이만을 사용함으로 이와 같은 특유의 우리나라 전통 간장의 향미생성 재현이 잘 이루어지지 않는다(Song et al. 1984). 이에 개량식 장류 제조법(코지 사용법)과 재래식 장류 제조법(메주 사용법)의 단점을 상호보완하고 동시에 저장성과 향미증진을 위하여 *A. oryzae*와 *B. subtilis* 혼합 사용에 의한 코지제조 및 장류 제조에 관한 보고들이 있다(Yoo et al. 2000). 그러나 개선된 위 방법에서도 protease와 amylase 활성 모두가 높은 코지 제조의 어려움 등이 있어 이를 보완하기 위해 곰팡이 또는 효모 등을 배양시켜 혼합 사용하는 등의 보고가 있다(Yoo et al. 2000; Lee 2004; Chang & Chang 2007).

본 연구진은 쿼퀴한 냄새가 적고 특유의 맛과 향을 지닌 전통된장으로부터 protease 활성이 뛰어난 발효미생물(*B. subtilis* DJ1)을 분리하고 그 특성 규명과 함께 이를 이용한 세균형 코지 제조와 이 세균형 코지를 이용한 된장 제조 기술을 개발하였다(Chang & Chang 2007). 이 세균형 코지를 이용한 된장 제조 기술로 제조 기간의 단축과(2개월) 더불어 고유한 전통된장 맛과 향을 재현할 수 있음을 보고하였다. 또한 전보에서 전통 씨간장으로부터 protease 및 amylase 활성이 뛰어난 뿐만 아니라 이취생성능이 낮고 향미생성능이 우수한 간장 제조용 종균 *Bacillus velezensis* SS360-1을 분리하고 그 특성을 규명하였다(Moon et al. 2018).

이에 본 연구에서는 콩단백 발효를 주도하는 발효미생물 *B. subtilis* DJ1로 제조된 세균형 코지와 우리나라 전통 씨간장에서 분리된 간장제조용 종균 *B. velezensis* SS360-1을 혼합 사용하여 개량식 양조간장 제조 기술을 개발하고 그 품질 특성을 규명하였다. 동시에 사용 소금이 제조 간장의 품질에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 연구방법

1. 간장 담금 조건

1) 세균형 코지의 제조 및 볶은 밀의 준비

간장 담금시 콩단백의 가수분해용 세균형 코지는 기존의 보고된 방법에 의해 제조하였다(Chang & Chang 2007). 세균형 코지 제조법을 간략히 정리하면 다음과 같다. 국내산 소립종 콩을 15~20℃에서 20시간 침지 후 121℃에서 50분간 증자하였다. 증자 후 냉각 시킨 콩에 전배양된 *B. subtilis* DJ1을 가수 전 원료 콩의 1%(v/w) 비율로 접종 후 39~50℃에서 12~14시간 배양하였다. 배양 후 이를 20℃, 30% 습도조건에서(항온항습기, HanBaek Scientific Co., Bucheon, Korea) 24시간 건조하여 세균형 코지를 제조하였다.

볶은 밀은 다음과 같이 준비하였다. 볶은 밀 제조에 사용된 소맥은 국내산 통밀을 구입하여 사용하였다. 통밀 그대로 볶음기를 이용하여 짙은 갈색이 될 정도로 볶은 다음, 밀알이 4~6쪽이 되도록 거칠게 분쇄하였다(SC-B300, Hwangso Co., Daegu, Korea).

2) 세균형 코지 및 볶은 밀 첨가량의 결정

간장 담금시 첨가되는 세균형 코지와 볶은 밀의 첨가비를 결정하고자 하였다. 세균형 코지와 볶은 밀을 ① 1:2로 혼합하는 경우, ② 1:4로 혼합하는 경우, ③ 1:6으로 혼합하는 경우로 나누어 제조하였다. 세균형 코지 제조시 사용된 *B. subtilis* DJ1은 0~3%(w/v) NaCl 농도에서 가장 높은 생육도(A_{600} =2.8~3.0)를 나타내고 15%(w/v) NaCl 농도에서도 높은 생육(A_{600} =2.0 이상)을 나타내어 염에 대한 내성이 높은 균주로 보고되었다(Chang & Chang 2007). 이에 본 실험에서는 상기의 조건과 같이 세균형 코지와 볶은 밀을 혼합한 후 고형분의 80%(v/w)에 해당하는 소금물을 가하여 최종 혼합물의 NaCl 농도가 약 3%(w/v)에 이르도록 한 후 이를 37℃에서 24시간 배양하였다. 배양 종료 후 세균형 코지 제조시 사용된 종균 *B. subtilis* DJ1의 생균수를 측정하여

최적 첨가비를 결정하였다.

3) 간장향미 생성용 종균 접종 조건

간장 담금 시 간장 제조 종균 *B. velezensis* SS360-1의 증배양을 위한 첨가조건을 설정하고자 하였다. *B. velezensis* SS360-1은 12%(w/v) NaCl 농도까지 높은 생육(A_{600} =2.0 이상)을 나타내며 특히 3%(w/v) NaCl 농도에서 가장 높은 생육도(A_{600} = 4.5)를 나타내므로(Moon et al. 2018) 본 실험에서 3%(w/v) 소금물을 사용하였다. 볶은 밀에 소금물을 고형분의 80%에 해당하는 양으로 첨가한 후 전배양된 *B. velezensis* SS360-1을 2, 3, 5% (v/w) 각각 접종하였다. 이를 37℃에서 24시간동안 배양하면서 배양 시간에(0, 6, 12, 24시간) 따른 *B. velezensis* SS360-1의 생균수를 측정하였다.

2. 간장 제조 공정

1) 증배양

B. velezensis SS360-1을 3%(w/v) NaCl이 첨가된 LB 액체배지에 1%(v/v) 접종한 후 37℃에서 12시간 배양하였다. 배양된 *B. velezensis* SS360-1을 원심분리(9,950×g, 15 min, 4℃)하여 균체를 회수하고 회수된 균체를 멸균된 3차 증류수로 2회 수세하였다. 증류수에 3%(w/v) 소금이 첨가된 소금물을 준비하였다. 소금은 4년숙성천일염(S사, Muan, Korea)을 사용하였으며, 이때 대조구로 정제염(H사, Ulsan, Korea)을 사용하였다. 건조된 세균형 코지에 볶은 밀을 혼합하고 여기에 준비된 *B. velezensis* SS360-1과 소금물을 첨가하여 37℃에서 24시간 배양한 것을 증배양으로 사용하였다.

2) 담금

간장 담금용 소금물은 증류수에 소금(정제염, 4년숙성천일염)을 각각 25%(w/v)농도로 첨가하여 녹인 후 하룻밤동안 정치하여 침전물이 바닥에 충분히 가라앉은 후에 사용하였다. 미리 배양해 둔 증배양에 증자콩을 첨가한 후 소금물을 첨가하였다.

담금이 완료된 후 최종 간장덧의 NaCl 농도를 측정하였을 때 4년숙성천일염을 첨가한 경우 정제염을 첨가한 간장보다 간장덧의 염도가 낮게 나타났다. 이에 4년숙성천일염을 추가로 첨가하여 정제염과 동일한 NaCl 농도가 되도록 조정하였다.

3) 발효·숙성 및 제성

간장덧의 발효실 온도는 18℃로 유지하면서 6개월간 숙성하였다. 담금 후 간장 덧은 고품의 원료가 표면에 떠올라 액과 분리된 상태로 있으므로 2일에 1회씩 교반하였다. 발효 숙성된 간장 덧은 1차적으로 간장덧을 여과포에 짰 후 손으로 압착하여 박을 분리한 후, 압착여과기를 이용하여 2차 여과하였다. 여액을 100℃에서 5분간 가열한 다음 85℃에서 20분간 가열 후 즉시 냉각하였다. 달임 간장은 3~5일간 정치 후 침전물을 제거하여 최종 간장으로 완성하였다.

3. 수분 함량 및 pH, 염도, 당도

간장의 pH는 pH meter(Fisher Science Education, Harnover Park, IL, USA)를 사용하여 측정하였고, 수분 함량은 105℃ 상압가열건조법(AOAC 2005)으로 측정하였다. 간장 원액 그대로 염도는 염도계(ES-421, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 당도는 당도계(Misco, Cleveland, OH, USA)를 사용하여 측정하였다.

4. 유기산 분석

간장 5 mL를 취하여 증류수 45 mL를 가하고 균질화한 후 원심분리(9,950×g, 15 min)하였다. 원심분리 후 상정액은 0.45 μm syringe filter로 여과한 뒤 Sep-pak C18 cartridge(Waters, Milford, USA)로 정제하여 이온 크로마토그래피(DX-500, Dionex, Sunnyvale, USA)로 분석하였다. 이온크로마토그래피 분석시 column은 ICE-AS6(9×250 mm, Dionex Co, NY, USA)를 사용하였으며, 이동상은 5 mM tetrabutyl ammonium hydroxide를 사용하여 1

mL/min 유속으로 분석하였다. 유기산들의 검출은 electro conductivity detector(Dionex)를 사용하였다.

5. 총질소 및 유리아미노산 분석

간장의 총질소 함량은 식품공전 일반시험법에 따라 Kjeldahl법으로 측정하였다(Ministry of Food and Drug Safety 2017). 간장의 유리아미노산은 식품공전에 준하여 측정하였다(Ministry of Food and Drug Safety 2017). 간장 3 mL를 취하여 30 mL의 70% ethanol를 가하고 1시간동안 균질화하였다. 이후 원심분리(21,000×g, 15 min)하여 상정액을 70% ethanol 25 mL로 2회 반복 추출하였고 추출액을 합하여 rotary vacuum evaporator(Eyela rotary evaporator-N1000SW, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 감압 농축하였다. 농축물은 0.02 N HCl 20 mL에 녹여 10배 희석한 뒤 0.45 μm syringe filter로 여과한 뒤 아미노산 자동분석기(Amino Acid Analyzer L-8800, Hitachi Co., Tokyo, Japan)에 주입하여 분석하였다. 이때 column은 SunFire C18(4.6×150 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며 column 오븐 온도는 46℃로 하였다. 검출기는 variable wavelength detector(Hitachi)를 사용하여 254 nm에서 분석하였다. 아미노산 분석시 이동상은 용매 A(1.4 mM NaHAc, 0.1% TEA, 6% CH₃CN, pH 6.1)와 용매 B(60% CH₃CN)를 사용하여, 용매 A에서 B의 직선구배 (0~100%) 조건하에서 1.0 mL/min 유속으로 총 runtime 50분간 시행하였다.

6. 유해균주 검출(대장균군 포함)

완성된 간장 1 mL를 취하여 멸균증류수 9 mL에 순차적으로 희석하여 각각의 검출배지에 희석액 100 μL를 도말한 후 35~37℃에서 24시간동안 배양하였다. 배양 후 colony의 특성에 따라 유해균주 검출 여부를 확인하였다. 대장균과 대장균군의 검출 배지는 Easy stamp ECC(Hanil-KOMED, Seongnam, Korea)를 사용하였고 *Salmonella* sp. 검출 배지는

XLD agar(xylose lysine deoxycholate, Difco, BD, Sparks, MD, USA), *Staphylococcus aureus* 검출 배지는 Mannitol salt phenol-red agar(Merck, Darmstad, Germany), *Listeria* sp. 검출 배지는 Easy stamp LIS(Hanil-KOMED), *E. coli* O157:H7 검출 배지는 Easy stamp O157(Hanil-KOMED), *B. cereus* 검출 배지는 PEMBA(Acumedica, Neogen, Lansing, MI, USA)를 사용하였다.

7. 관능검사

간장의 관능검사는 훈련된 대학원생 11명이 3차례에 걸쳐 실시하였다. 평가항목은 구수한 향(nutty flavor), 구수한 맛(nutty taste), 짠맛(salty taste), 신맛(sour taste), 단맛(sweet taste), 쓴맛(bitter taste), 이취(off-odor), 색(color), 전체적인 기호도(overall preference)로 나누어 5점 척도법(1: 매우 싫다, 2: 싫다, 3: 보통이다, 4: 좋다, 5: 매우 좋다)을 사용하여 평가하였다.

8. 통계

SPSS 23.0 statistics 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 두 시료간 유의성 검정은 독립 t-test(independent t-test)로 시행하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 간장 담금 조건의 최적화

간장의 콩 발효 주효소원이 되는 세균형 코지와 간장항미 생성용 간장중균의 첨가량을 결정하고자 하였다.

우선 콩 단백 발효용 세균형 코지 첨가량을 결정하기 위하여 세균형 코지와 볶은 밀 첨가량을 1:2, 1:4, 1:6의 비율로 한 후 상기 배양물을 37°C에서 배양하였을 때, 배양초기 *B. subtilis* DJ1 생균수 약 $10^7 \sim 10^8$ CFU/g는 배양 24시간 후에 모든 구간에서

10^9 CFU/g 이상 검출되었다(Table 1). Table 1의 결과는 사용 세균형 코지 함량에 비해 밀의 함량을 6배까지 증가하여 상대적으로 세균형 코지 사용량이 낮아져도 세균형 코지 중균인 *B. subtilis* DJ1의 생균수를 1.5×10^9 CFU/g까지 유지할 수 있는 것을 의미한다. 이와 같은 생균수는 발효식품에서 발효를 일으킬 수 있는 최대 생균수에 해당한다. 세균형 코지와 볶은 밀 첨가량을 1:6으로 한 경우는 사용코지에 대비 볶은 밀을 2~4배 첨가한 경우보다 사용 코지량을 절감할 수 있는 효과를 기대할 수 있다. 이에 따라 세균형 코지와 볶은 밀의 첨가비는 최종 1:6으로 결정하였다.

간장항미 생성용 중균 *B. velezensis* SS360-1의 종배양 접종량 결정을 위하여 볶은 밀에 3%(w/v) 소금물을 가한 뒤 전배양된 *B. velezensis* SS360-1을 2, 3, 5%(v/w)씩 각각 접종한 후 배양시간에 따른 생균수를 측정하였다. 접종직후 균수는 모든 구간에서 약 10^4 CFU/g으로 나타났으며, 37°C에서 배양 24시간 이후 5%(v/w) 접종구에서는 100배 이상의 생육증가를 나타내었으나, 2%(v/w)와 3%(v/w) 접종구에서는 각각 3.6배와 18배 균 생육증가현상이 관찰되었다. 이에 종배양용 *B. velezensis* SS360-1의 접종량은 균주 접종량 대비 가장 높은 생육증가를 나타내는 5% (v/w) 접종으로 결정하였다.

Table 1. Viable cell counts of *B. subtilis* DJ1 in a mixture of roasted wheat and bacterial-koji in NaCl solution

Addition ratio (Roasted wheat : bacterial-koji)	<i>B. subtilis</i> DJ1 (CFU/g)
2 : 1	3.0×10^9
4 : 1	1.8×10^9
6 : 1	1.5×10^9

Bacterial-koji was prepared by using *B. subtilis* DJ1. A mixture of roasted wheat and bacterial-koji in 3%(w/v) NaCl solution was incubated at 37°C for 24 hr, thereafter viable cells of *B. subtilis* DJ1 were counted on a TSB plate.

2. 간장의 제조

Fig. 1에 도식화한 바와 같이 간장 제조를 하였다. 먼저 간장 제조용 종배양을 위하여 건조된 세균형 코지 0.6 kg에 볶은 밀 3.6 kg을 혼합하고, 여기에 3%(w/v) 소금물 3.36 L를 첨가한 후 *B. velezensis* SS360-1 배양액 5%(v/v)접종하여 37℃에서 24시간 배양하여 종배양(seed culture)을 준비하였다.

간장 담금을 위하여 사용된 소금물은 증류수에 25%(w/v) 농도로 정제염과 4년숙성천일염을 각각 녹여 제조하였다. 준비된 종배양에 삶은 콩 3.2 kg과 소금물 19.2 L를 첨가하여 간장덧을 담그었다. 간장 담금시 25%(w/v)의 소금물을 사용하였을 때 최종 간장덧의 NaCl 농도는 정제염간장은 22.0%, 4년숙성천일염간장은 18.8%를 나타내었다. 본 연구에서 사용된 정제염과 4년숙성천일염의 성분분석 결과에 따르면 정제염의 NaCl 함량은 99.25%, 수분 함량은 0.05% 였으며, 4년숙성천일염의 NaCl 함량은 87.44%, 수분 함량은 8.91%로 나타났다(Chang et al, 2014). 제조 간장의 위와 같은 NaCl 농도의 차이는 사용 소금의 수분 함량과 NaCl 함량차이에서 기인하는 결과이다. 이에 본 연구에서는 동일한 NaCl

농도를 나타내는 간장을 제조한 후 사용소금에 따른 발효·숙성 간장의 품질 특성 차이를 조사하고자 하였다. 즉 정제염간장과 동일한 NaCl 농도를 나타내는 4년숙성천일염간장을 제조하고자 25%(w/v) 4년숙성천일염 소금물을 사용하여 담근 간장덧에 4년숙성천일염을 추가로 첨가하여 최종 21.9%(w/v) NaCl 농도를 나타내는 4년숙성천일염간장을 제조하였다. 이와 같이 제조된 2종의 간장덧은 발효실의 온도를 18℃로 유지하면서 6개월간 숙성하였다. 담금 후 간장덧은 고흥의 원료가 표면에 떠올라 액과 분리된 상태로 있으므로 2~3일에 1회씩 교반하였다. 발효·숙성이 완료된 간장덧은 걸쭉한 상태로 액즙과 고흥물의 분리가 쉽지 않아 1차적으로 간장덧을 여과포에 짰 후 손으로 압착하여 박(粕)을 분리하였다. 일차 여액에 남아있는 미세 고흥물은 압착여과기를 이용하여 2차 여과한 후 여액(생간장)을 회수하였다. 회수된 생간장은 100℃에서 5분간 가열한 다음 85℃에서 20분간 가열하였다. 달임이 완료된 간장은 알코올이나 휘발성 향기성분 등의 발산을 예방하고자 즉시 냉장하였고, 3일간 정치 후 침전물을 제거하여 완성하였다.

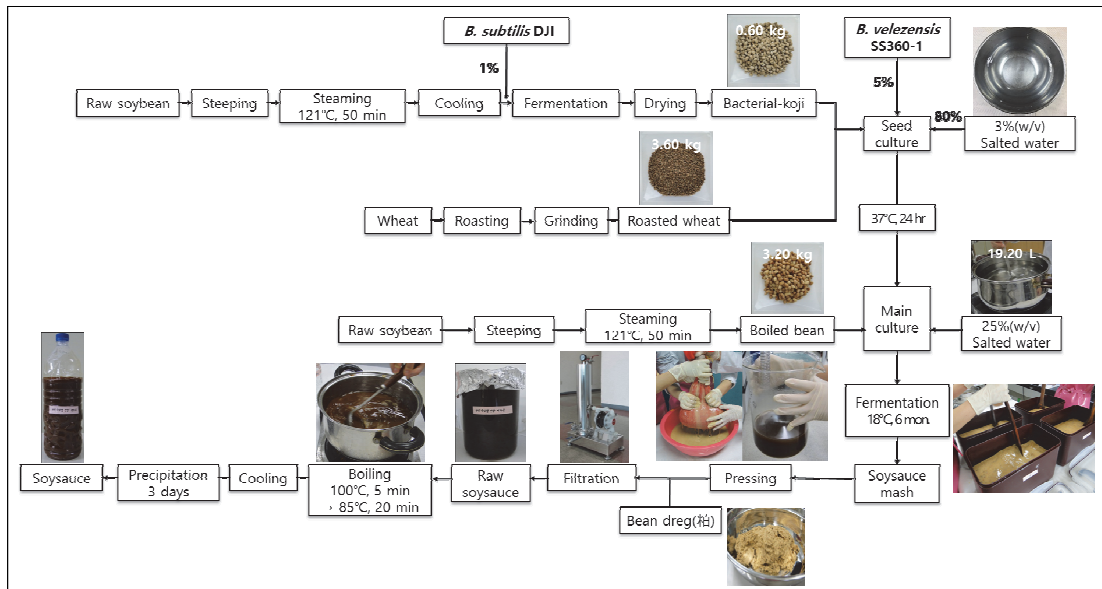


Fig. 1. Manufacturing process of soysauce.

Table 2. Viable cell counts of *B. velezensis* SS360-1 in suspension of roasted wheat in NaCl solution

		Unit: CFU/g			
Inoculation amount	Incubation time	0 hr	6 hr	12 hr	24 hr
	2%(v/w)		1.50×10 ⁴	4.0×10 ⁴	5.0×10 ⁴
3%(v/w)		2.00×10 ⁴	3.7×10 ⁵	2.1×10 ⁵	3.6×10 ⁵
5%(v/w)		4.00×10 ⁴	5.0×10 ⁵	1.1×10 ⁶	5.1×10 ⁶

Overnight cultivated *B. velezensis* SS360-1 was inoculated 2, 3, 5%(v/w) respectively in suspension of roasted wheat in 3%(w/v) NaCl solution. The suspension was incubated at 37°C for 0, 6, 12, and 24 hr, and then viable cells of *B. velezensis* SS360-1 were determined on a TSB plate.

기존의 개량식 양조간장 제조법과 본 연구에서의 간장제조방법을 비교하였을 때, 두 방식에서의 유사점과 차이점은 다음과 같이 정리된다. 기존의 개량식 양조간장 제조방법에서는 코지 제조를 위하여 콩과 밀을 약 10:6~10:10 비율로 배합한 후 *Aspergillus* 속을 접종하여 발효시킨다. 발효종료 후 코지가 제조되면 여기에 소금물을 부어 간장덧으로 약 6개월에서 1년간 발효시킨다(Choi et al. 1999b; Choi et al. 2016). 즉 간장 발효를 일으키는 효소원인 준비된 코지 100%에 소금물을 부어 발효·숙성함을 알 수 있다. 본 연구에서도 사용된 콩과 밀의 혼합비율이 10:9.5으로 기존 방식의 배합비율과 유사함을 알 수 있었다. 그러나 본 연구에서는 제조된 세균형 코지에 간장향미 생성용 종균 *B. velezensis* SS360-1 배양액, 삶은 콩, 그리고 소금물을 가하여 6개월간 발효·숙성하는 방식으로 간장발효 효소원으로 작용하는 세균형 코지와 간장향미생성용 종균 *B. velezensis* SS360-1 배양액의 사용량은 전체 사용된 간장원료(콩과 밀의 처리전 원재료의 무게 기준)의 약 8.6%에 불과하다. 이와 같이 낮은 함량의 효소원(코지) 사용만으로도 간장 제조가 가능함은 본 연구에서 사용된 세균형 코지 *B. subtilis* DJ1과 간장향미 생성용 종균 *B. velezensis* SS360-1의 다른 간장발효 균주들보다 높은 효소(protease, amylase) 활성을 나타내기 때문으로 사료된다(Moon et al. 2018).

3. 간장의 품질 특성

1) 수분

정제염과 4년숙성천일염을 첨가하여 제조된 간장의 수분함량을 측정된 결과, 정제염간장은 71.00 ± 0.68%, 4년숙성천일염간장은 70.20 ± 0.81%로 사용 소금에 따른 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다(Table 3). Choi et al.(2013)의 보고에 따르면 대기업 생산 한식간장의 수분함량은 70.0 ± 2.0%이며, 기타 한식간장의 수분함량은 63.5~75.4%라고 보고한 바 있다. 본 연구에서 제조된 2종의 간장 역시 기초사된 국내 시판간장의 수분함량 범위내의 수분함량을 나타내었다.

Table 3. moisture content of soysauce

Soysauce	Moisture(%)
Soysauce using purified salt	71.00 ± 0.68
Soysauce using four-year aged solar salt	70.20 ± 0.81
t-value	1.303

Data represents mean ± SD(n=3).

2) pH, 염도 및 당도

제조된 간장의 pH를 측정된 결과 정제염간장은 pH 5.09 ± 0.05, 4년숙성천일염간장은 pH 5.01 ± 0.09을 나타내었다(Table 4). 시판 간장류 및 타 연구자들의 간장 연구에서도 간장의 pH는 4.0~6.0 범위를 나타내어 본 연구에서와 유사한 결과를 나타

내었다(Kwon et al. 2010; Shin et al. 2010; Choi et al. 2013; Song & Lee 2013).

제조 간장의 염도는 정제염간장은 $28.47 \pm 0.25\%$, 4년숙성천일염간장은 $28.87 \pm 0.15\%$ 을 나타내었다(Table 4). 이는 일반적인 간장의 염도 $19.8\sim 30.8\%$ 범위 안에 해당하는 값이다(Kim et al. 1996). 담금 직후 간장 덧의 염도(정제염간장: 22.0%, 4년숙성천일염간장: 21.9%)와 비교하였을 때 모든 간장에서 염도가 증가된 것은 숙성기간 중 자연증발 및 달임 등의 공정에 따른 농축효과라 사료된다.

당도는 정제염간장은 34.20 ± 0.10 °brix, 4년숙성천일염간장은 32.40 ± 0.10 °brix의 당도를 나타내었다(Table 4). 타 연구자들의 보고 및 시판 간장류에서도 $32\sim 34$ °brix의 당도를 나타내어(Jeong et al. 2014; Shin et al. 2014), 본 연구에서 제조된 2종의 간장과 유사한 수준의 당도임을 알 수 있었다.

사용 소금에 따른 간장의 pH, 염도, 그리고 당도

는 유의차 없는 수준으로 분석되었다.

3) 유기산

제조 간장 내 함유된 각각의 유기산 함량을 측정 한 결과를 Table 5에 나타내었다. 제조 간장 2종 모두 oxalic acid의 함량이 가장 높게 검출되었으며 formic acid의 함량이 가장 낮게 검출되었다. Lee et al.(2009)은 한국재래식 메주를 사용하여 간장제조 후 품질평가에서 발효가 잘된 메주 사용 간장에서 유기산 함량이 증가하였으며, 유기산 조성 분석에서 oxalic acid 함량이 가장 높게 검출되었다고 보고하였다. 본 연구에서 사용된 세균형 코지와 같은 방식으로 제조된 세균형 코지를 이용하여 된장을 제조하고 그 유기산 조성을 분석한 연구에서도 oxalic acid가 가장 높게(총 유기산의 97%) 검출되었다. 또한 이때 비교구로 사용된 전통메주를 사용한 재래식 전통된장 2종에서도 모두 oxalic acid의 검출을

Table 4. pH, salinity, and sugar content of soysauce

Soysauce	pH	Salinity(%)	Sugar content (° brix)
Soysauce using purified salt	5.09 ± 0.05	28.47 ± 0.25	33.65 ± 1.10
Soysauce using four-year aged solar salt	5.01 ± 0.09	28.87 ± 0.15	32.65 ± 0.70
t-value	1.439	-2.157	1.528

Data represents mean \pm SD(n=3).

Table 5. Organic acid contents of soysauce

Organic acids	Soysauce		t-value ¹⁾
	Soysauce using purified salt	Soysauce using four-year aged solar salt	
Oxalic acid	$25,862.08 \pm 244.26$	$25,588.80 \pm 366.52$	1.075
Citric acid	79.41 ± 1.37	65.55 ± 1.11	13.615***
Malic acid	8.39 ± 0.05	6.07 ± 0.25	15.761***
Formic acid	2.06 ± 0.12	2.00 ± 0.08	0.721
Lactic acid	134.46 ± 1.29	102.32 ± 1.38	29.469***
Acetic acid	78.56 ± 0.25	47.20 ± 0.69	74.012***
Succinic acid	41.13 ± 0.03	19.44 ± 0.24	155.325***
Total	$26,206.10 \pm 493.80$	$25,831.39 \pm 735.99$	1.465

Data represents mean \pm SD(n=3).

¹⁾ Significant at ***p<0.001

은 전체 검출 유기산의 85~90%로 높게 검출되었다고 보고되었다(Chang et al, 2010). 본 연구에서 제조한 간장에서도 이와 같이 높은 oxalic acid가 검출되는 결과는 사용된 세균형 코지의 발효작용에 기인한 결과로 사료된다.

사용소금에 따른 유기산 총 생산량 및 조성의 차이는 거의 유사한 패턴으로 나타났다.

4) 총질소 및 유리아미노산

간장과 같은 장류에서 고유의 향미를 생성하는

것은 콩 단백질에서 유래되는 여러 종류의 아미노산으로 간장 내 총질소(total nitrogen) 함량은 간장의 향미를 결정하는 중요한 척도이다(Kwon et al, 2010). Kjeldahl법을 이용하여 제조 간장의 총질소 함량을 측정된 결과 정제염간장 $0.80 \pm 0.01\%$ (w/v), 4년숙성천일염간장 $0.83 \pm 0.02\%$ (w/v)으로 측정되었다. 이는 식품공전 상 간장 규격인 총질소 함량 0.8% 이상을 충족하는 값으로(Ministry of Food and Drug Safety 2017), 제조 간장 2종 모두 간장 품질 규격에 적합함을 확인하였다.

Table 6. Free amino acid contents of soysauce

Amino acid	Soysauce		t-value ¹⁾
	Soysauce using purified salt	Soysauce using 4-year aged solar salt	
Aspartic acid	84.01 ± 0.30	74.16 ± 0.34	5.651**
Threonine	37.56 ± 0.12	22.98 ± 0.24	94.113***
Serine	55.35 ± 0.53	48.30 ± 0.19	21.688***
Glutamic acid	649.01 ± 6.97	713.72 ± 0.63	-16.015***
Sarcosine	105.71 ± 1.06	175.31 ± 0.20	-111.755***
Glycine	61.98 ± 0.11	60.46 ± 0.09	20.290***
Alanine	186.20 ± 0.03	204.82 ± 0.63	-51.134***
Citrulline	57.36 ± 0.32	59.91 ± 0.13	-6.793**
Valine	294.16 ± 0.31	250.66 ± 0.51	126.242***
Cysteine	0.00 ± 0.00	156.12 ± 2.67	-101.411***
Methionine	84.65 ± 0.28	89.10 ± 0.22	-21.645***
Cystathionine	31.70 ± 0.19	36.61 ± 0.04	-43.209***
Isoleucine	235.67 ± 1.77	235.81 ± 0.01	-0.137
Leucine	538.47 ± 2.33	582.01 ± 0.46	-31.753***
Tyrosine	264.29 ± 2.76	271.39 ± 0.73	-4.308*
Phenylalanine	283.00 ± 2.44	317.41 ± 0.75	-23.726***
γ-Aminobutyric acid	65.23 ± 0.03	71.12 ± 0.43	-23.668***
Tryptophan	53.63 ± 0.16	54.87 ± 0.94	-2.252
Ornithine	65.52 ± 0.06	48.68 ± 0.43	67.181***
Lysine	60.91 ± 0.06	57.85 ± 0.06	62.462***
Histidine	74.68 ± 3.53	71.12 ± 0.89	1.694
Carnosine	31.61 ± 0.01	43.06 ± 0.10	-197.336***
Arginine	28.72 ± 0.02	52.74 ± 0.06	-657.815***
Proline	41.92 ± 0.17	59.17 ± 0.28	-91.212***
Total	3,391.34 ± 3.69	3,757.32 ± 3.99	-116.721***

Data represents mean ± SD(n=3).

¹⁾ Significant at *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

간장은 제조 후 발효·숙성 과정을 거치면서 콩 단백질의 가수분해에 의하여 유리아미노산의 생산량이 증가하고 이는 간장의 맛에 중요한 영향을 미친다(Lee et al, 2009). Table 6에 나타난 바와 같이 제조 간장의 유리아미노산 함량을 측정시 정제염간장에서는 총 23종의 아미노산이, 4년숙성천일염간장에서는 정제염간장에서 검출된 23종 아미노산과 더불어 cystein이 추가된 총 24종의 아미노산이 검출되었다. 이 중 glutamic acid 함량이 절대적으로 높게(총 유리아미노산의 19%) 검출되었으며 그 다음으로 leucine이 높게(약 15~16%) 검출되었다. 이와 같이 높은 함량의 glutamic acid 및 leucine의 검출은 간장 제조시 원료 중 콩의 사용량이 많거나 *B. subtilis*를 사용하여 발효를 시킨 경우 종종 보고된 바 있다(Choi et al, 1999a; Lee et al, 2009; Song & Lee 2013; Won & Song 2013). 또한 Glutamic acid는 감칠맛을 부여하여 구수하고 맛난 맛을 부여하여 간장의 향미향상에 기여한다고 보고되고 있다(Schifman & Dackis 1975). 이와 같은 결과는 본 간장 제조시 사용된 세균형 코지 *B. subtilis* DJ1과 간장 발효 종균 *B. velezensis* SS360-1의 높은 protease 활성(300~373 unit/mL)과 이에 따른 콩 단백질의 높은 가수분해 결과와 더불어 이 종균들이 지니는 맛난 아미노산(glutamic acid)을 생성할 수 있는 우수한 특성에 기인한 결과로 사료된다.

사용소금에 따른 유리아미노산의 함량 차이를 살펴보면, 4년숙성천일염간장은 $3,757.32 \pm 3.99$ mg/kg, 정제염간장은 $3,391.34 \pm 3.39$ mg/kg으로 천일염간장에서 유의적으로 더 높은 유리아미노산이 검출되었다. 본 연구에서 사용된 소금의 무기질 함량을 분석하였을 때, 정제염과 4년숙성천일염 모두 Na^+ 와 Cl^- 이 가장 높게(97~99%) 검출되었으나, 4년숙성천일염에서는 정제염에서는 거의 검출되지 않은 SO_4^{2-} , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} 등이 2.71% 검출되어 NaCl 이외에도 다양한 무기질이 존재함을 보고한 바 있다(Chang et al, 2014). Kim et al.(2000)은 소금의 종류에 따른 무기금속 이온성분의 차이가 protease 활

성 발현에 영향을 미칠 수 있다고 보고하였다. 또한 본 연구진이 된장 제조시 모든 조건을 동일하게 하고 사용 소금만을 달리하여 사용소금이 된장의 품질 특성에 미치는 영향을 조사한 연구에서도 천일염된장이 정제염된장에 비해 모든 숙성 조건에서 유리아미노산 함량이 높게 검출되었다고 보고되었다(Chang et al, 2010). 이와 같은 연구 결과들과 유사하게 본 연구에서도 정제염간장에서 보다 4년숙성천일염간장에서 더 높은 유리아미노산이 검출되었다. 이와 같은 결과는 정제염과 4년숙성천일염내의 무기 이온 조성 차이에 따른 세균형 코지 및 간장 종균 *B. velezensis* SS360-1의 protease 활성 발현 차이 때문으로 사료된다.

5) 미생물학적 품질평가

미생물 배양배지(LB, YPD)를 이용하여 제조 간장 내 미생물 분포를 조사한 결과, 간장 제조시 세균형 코지 및 간장향미 생성용 종균으로 사용된 *B. subtilis* DJ1과 *B. velezensis* SS360-1이 약 10^2 CFU/mL 이상 검출되었다. 이는 간장의 달임 공정에서 대부분의 미생물은 사멸되지만 포자를 형성하는 *Bacillus* 류는 사멸되지 않고 일부 잔존함에 따른 결과이다. *Bacillus* 속과 같은 포자 생성 미생물은 포자(휴지기)형태로 오랜 기간 간장을 보관하여도 생존하여 유지될 수 있으며, 이와 같은 이유로 수년~수백 년간 보존된 씨간장이 다음해 간장 발효에 이용될 수 있는 것이다.

식품공전상 간장의 규격에서 대장균군은 불검출이어야 한다(Ministry of Food and Drug Safety 2017). 유해균주(*E. coli* and coliform, *Salmonella* sp., *S. aureus*, *Listeria* sp., *E. coli* O157, *B. cereus*) 선별배지에서 제조 간장 시료의 미생물 검사를 시행한 결과 어떠한 미생물도 검출되지 않음을 확인하였다(data not shown). Kim et al.(2017)의 연구에서 전통 재래식 간장과 시판 개량식 간장 총 22개 시료의 미생물 평가에서 다른 유해 미생물은 검출되지 않았으나, 18개 시료에서 식중독 세균인 *B.*

*cereus*가 검출되었다고(10^4 CFU/mL 이하) 보고하였다. 이와 같은 검출정도는 우리나라 식품의약품 안전처의 식품규격(장류) *B. cereus* 10^4 CFU/g 이하의 범위 내(Ministry of Food and Drug Safety 2017)의 검출을이기는 하지만, 본 연구에의 불검출 수준과 비교시 본 연구에서의 제조 간장이 보다 미생물학적으로 안전한 수준임을 알 수 있었다.

6) 관능검사

훈련된 11인의 대학원생을 대상으로 간장의 관능 검사를 시행하였다(Table 7). 제조간장의 전반적 기호도는 5.0점 만점 척도에서 4년숙성천일염간장이 정제염간장보다 유의적으로 더 높게 평가되었으며 특히 색 형성과 구수한 맛과 향 항목에서 더 높게 평가되었다. 이와 같이 정제염간장보다 4년숙성천일염간장이 더 높은 기호도를 나타내는 결과는 4년숙성천일염간장에서 더 높은 유리아미노산의 함량이 검출된 차이에서 기인한 결과로 사료된다. 즉 검출된 유리아미노산과 간장내 당과의 maillard 반응 촉진에 의한 더 짙은 간장색 부여와 더불어 유리아미노산 중 더 높은 함량의 glutamic acid에 따라 더 구수한 향과 맛을 나타낸 것으로 보여진다.

IV. 요약 및 결론

굵직한 냄새가 적고 전통된장 특유의 맛과 향을 내는 된장발효미생물 *B. subtilis* DJ1과 씨간장으로부터 분리된 protease와 amylase 활성이 모두 뛰어나고 이취 생성능도 작은 *B. velezensis* SS360-1 균주를 사용하여 양조간장을 제조하고 그 품질특성을 규명하고자 하였다. 또한 간장 제조시 사용되는 정제염과 4년숙성천일염의 차이가 발효·숙성 간장의 품질 특성에 미치는 영향을 조사하였다. 이때 정제염이 천일염보다 높은 NaCl 함량을 나타내므로 사용 소금은 동일한 NaCl 농도(22%(w/v))로 최종 조정하여 실험하였다. 전통된장과 씨간장에서 분리된 발효미생물들로 세균형 코지와 간장발효 중균을 제조하고 이로부터 2종의 간장(NaCl 염도; 정제염간장: 22.0%, 4년숙성천일염간장: 21.9%)을 제조하였다. 제조된 2종의 간장은 수분함량 70~71%, pH 5.0, 염도 28%, 당도 32~33 °brix를 나타내어 시판 간장 또는 타 연구들에서의 간장에서 조사된 값들과 유사한 것으로 나타났다. 제조 간장의 유기산 분석 결과 oxalic acid가 가장 높게 검출되었으며 사용 소금에 따른 유기산 조성 및 함량의 차이는 거의 유사한 것으로 나타났다. 간장의 맛과 향미에 높은 상관관계를 보이는 총질소 함량과 유리아미노산 분석

Table 7. Sensory evaluation of soysauce

Item	Soysauce		t-value ¹⁾
	Soysauce using purified salt	Soysauce using four-year aged solar salt	
Nutty flavor	2.9 ± 0.8	3.8 ± 0.9	-2.500*
Nutty taste	2.7 ± 0.6	3.8 ± 0.6	-4.092**
Salty taste	2.4 ± 1.4	2.6 ± 1.2	-0.497
Sour taste	2.9 ± 0.7	3.1 ± 0.8	-0.555
Sweet taste	2.7 ± 0.8	3.2 ± 0.9	-1.282
Bitterness	2.7 ± 0.5	3.1 ± 0.5	-1.265
Off-odor	2.3 ± 0.5	2.5 ± 0.8	-0.658
Color	2.6 ± 0.8	3.5 ± 0.5	-2.818*
Overall acceptability	2.8 ± 1.0	3.0 ± 0.8	-2.133*

Data represents mean ± SD(n=3).

¹⁾ Significant at *p<0.05, **p<0.01

에서 총질소 함량은 0.80~0.83%(w/v)로 식품공전 상 간장의 규격인 총질소 함량 0.8% 이상을 충족하였다. 또한 유리아미노산 분석에서 2종의 간장 모두 glutamic acid가 가장 높게 나타났으며 이는 세균형 코지 및 간장발효종균의 우수한 효소활성(protease, amylase) 및 특성에 기인한 것으로 사료된다. 사용 소금에 따른 유리아미노산 함량은 4년숙성천일염간장이 정제염간장보다 높게 나타났다. 이와 같은 결과에 따라 제조 간장의 관능평가에서 4년숙성천일염간장이 보다 높은 기호도를 나타내었다. 사용 소금의 염도와 무기이온의 조성은 간장의 발효·숙성 시 총질소나 유리아미노산 함량에 영향을 미칠 수 있었다. Na⁺와 Cl⁻이온 이외 다양한 무기이온이 존재하는 천일염은 protease 활성을 보다 촉진시킬 수 있는 것으로 사료되며, 이와 같은 영향으로 유리아미노산 함량은 천일염 사용 간장이 정제염 사용 간장보다 더 높게 검출되었다. 이에 따라 관능평가 시 천일염간장이 정제염간장보다 우수한 맛과 향이 더 뛰어난 것으로 평가되었다.

References

- AOAC(2005) Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. 18th ed, Washington, DC, USA
- Chang M, Chang HC(2007) Characteristics of bacterial-Koji and Doenjang (Soybean paste) made by using *Bacillus subtilis* DJ1. Korean J Microb Biotech 35(4), 325-333
- Chang M, Kim IC, Chang HC(2010) Effect of solar salt on the quality characteristics of Doenjang. J Korean Soc Food Sci Nutr 39(1), 116-124
- Chang JY, Kim IC, Chang HC(2014) Effect of solar salt on Kimchi fermentation during long-term storage. Korean Food Sci Tehcnol 46(4), 456-464
- Chang M, Moon SH, Chang HC(2012) Isolation of *Bacillus velezensis* SSH100-10 with antifungal activity from Korean traditional soysauce and characterization of its antifungal compounds. Korean J Food Preserv 19(5), 757-766
- Cho DH, Lee WJ(1970) Microbiological studies of Korean native soy-sauce fermentation: a study on the microflora of fermented Korean Maeju Loaves. J Korean Agric Chem Soc 13(1), 35-42
- Choi KS, Choi C, Choi JD, Jeong HC, Kwon KI, Im MH, Kim YJ, Seo JS(1999a) Quality characteristics of Kanjang prepared with Meju cultivated on different soybean cultivars with *Bacillus subtilis* var. *globigii* seed culture. J Korean Soc Agric Chem Biotech 42(4), 293-287
- Choi NS, Chung SJ, Choi JY, Kim HW, Choi JJ(2013) Physio-chemical and sensory properties of commercial Korean traditional soysauce of mass-produced vs. small scale farm produced in the Gyeonggi Area. Korean J Food Nutr 26(3), 553-564
- Choi KS, Chung HC, Choi JD, Kwon KI, Im MH, Kim YJ, Seo JS(1999b) Effects of Meju manufacturing periods on the fermentation characteristics of Kanjang Korean traditional soysauce. J Korean Agric Chem Soc 42(4), 277-282
- Choi JM, Lee CB, Kim HS(2016) Quality characteristics of soysauce by various manufacturing methods. Culi Sci Hospit Res 22(2), 57-65
- Han DH, Park JM, Bai DH(2014) Changes in microflora and flavor of soysauce (*Ganjang*) according to the salt concentration. Food Eng Prog 18(3), 248-255
- Jeong SJ, Shin MJ, Jeong SY, Yang HJ, Jeong DY(2014) Characteristic analysis and production of short-ripened Korean traditional soysauce added with rice bran. J Kor Soc Food Sci Nutr 43(4), 550-556
- Kim YA, Kim HS, Chung MJ(1996) Physicochemical analysis of Korean traditional soysauce and commercial soysauce. Korean J Soc Food Sci 12(3), 273-279
- Kim SH, Kim SJ, Kim BH, Kang SG, Jung ST(2000) Fermented of Doenjang prepared with sea salts. Korean J Food Sci Technol 32(6), 1365-1370
- Kim SK, Park SY, Hong SP, Lim SD(2017) Quality characteristics of regional traditional and commercial soysauce (*Ganjang*). Korean J Food Cook Sci 33(1), 45-53
- Kwon OJ, Kim MA, Kim TW, Kim DG, Son DH, Choi UK, Lee SH(2010) Changes in the quality characteristics of soysauce made with salts obtained from deep ocean water. Korean J Food Preserv 17(6), 820-825
- Lee SW(1988) The historical review of traditional Korean fermented food. Korean J Diet Cult 3(4), 331-339
- Lee GG(2004) Soybean paste with good storage stability and flavor, and preparation method for the same. Korean Patent 10-0457354
- Lee JG, Kwon KI, Choung MG, Kwon OJ, Choi JY, Im MH(2009) Quality analysis on the size and the preparation method of Meju for the preparation of Korean traditional soysauce (*Kanjang*). J Appl Biol Chem 52(4), 205-211
- Moon SH, Park YJ, Kim IC, Chang HC(2018) Isolation and characterization of *Bacillus velezensis* SS360-1 from seed soysauce. Korean J Community Living Sci 29(1), 49-58

- Ministry of Food and Drug Safety(2017) Korea Food Code. MFDS, Seoul, Korea. pp129-130
- Schiffman SS, Dackis C(1975) Taste of nutrients, amino acids, vitamins, and fatty acids. *Percept Psychophys* 17(2), 140-146
- Shin JH, Kang MJ, Yang SM, Lee SJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ(2010) Comparison of physicochemical properties and antioxidant activities of Korean traditional Kanjang and garlic added Kanjang. *J Agric Life Sci* 44(2), 39-48
- Shin YJ, Lee CK, Kim HJ, Kim HS, Seo HG, Lee SC(2014) Preparation and characteristics of low-salt soysauce with anti-hypertensive activity by addition of miduduk tunic, mulberry, and onion extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43(6), 854-858
- Song JY, Ahn CW, Kim JK(1984) Flavor components produced by microorganism during fermentation of Korean ordinary soybean paste. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 12(2), 147-152
- Song YC, Lee SP(2013) Evaluation in physicochemical properties of soysauce fortified with soymilk residue (Okara Koji). *Korean J Food Preserv* 20(6), 818-826
- Won SB, Song HS(2013) Antioxidant activity and sensory evaluation in soysauce with Fruit, Stem, or Twig of *Hovenia dulcis* Thunb. *Korean J Food Nutr* 26(2), 258-265
- Yoo Sk, Cho WH, Kang SM, Lee SH(1999) Isolation and identification of microorganisms in Korean traditional soybean paste and soybean sauce. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 27(2), 113-117
- Yoo SK, Kang SM, Noh YS(2000) Quality properties on soybean pastes made with microorganism isolated from traditional soybean pastes. *Korean J Food Sci Technol* 32(6), 1266-1270