



Research Article

Increased qualities and health functional effects of *ganjang* fermented in *onggi*

옹기에서 발효된 간장의 품질 및 건강 기능성 증진 효과

So Young Lee¹, Jong Hyun Lee², Geun Hye Hong¹, Yang Lee Lim³, Jong-Hee Kim⁴, Kun-Young Park^{1,2*}
 이소영¹ · 이종현² · 홍근혜¹ · 임양이³ · 김종희⁴ · 박건영^{1,2*}

¹Department of Food Science and Biotechnology, CHA University, Seongnam 13488, Korea

²Department of Food and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Korea

³Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 02844, Korea

⁴Department of Food and Nutrition, Seoil University, Seoul 02192, Korea

¹차의과학대학교 식품생명공학과, ²부산대학교 식품영양학과,

³성신여자대학교 식품영양학과, ⁴서일대학교 식품영양학과

Abstract The quality and health functional effects of *ganjang* fermented in *onggi* and other ordinary containers were studied. The containers employed for *ganjang* fermentation included non-glazed *onggi* (*onggi* without glaze, OWOG), glazed *onggi* (*onggi* with glaze, OWG), ceramics (CRM), stainless steel containers (STL), and glass bottles (GLA). Grain-type *meju* with salt and water was fermented in each container at 37°C for 40 days. The pH decreased slowly and the acidity gradually increased, whereas the amino-type nitrogen content increased, although the ammonia-type nitrogen content was significantly decreased ($p < 0.05$) for *ganjang* fermented in *onggi*. The abundance of yeasts, molds, and lactic acid bacteria was significantly increased whereas the total bacteria content decreased in OWOG and OWG during fermentation compared to that in the other types of containers. *Ganjang* fermented in *onggi* exhibited better antioxidant, antimutagenic, and anticancer effects than the samples fermented in other container types. Overall, the obtained results indicated that *onggi*, especially OWOG, was the best container for the fermentation of *ganjang* to ensure high food quality and health functions.

Keywords *ganjang*, fermented containers, *onggi*, qualities, health functional effects



OPEN ACCESS

Citation: Lee SY, Lee JH, Hong GH, Lim YL, Kim JH, Park KY. Increased qualities and health functional effects of *ganjang* fermented in *onggi*. Korean J Food Preserv, 29(3), 407-417 (2022)

Received: February 10, 2022

Revised: May 30, 2022

Accepted: June 03, 2022

***Corresponding author**

Kun-Young Park
 Tel: +82-31-881-7216
 E-mail: kypark9004@gmail.com

Copyright © 2022 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

간장은 우리나라 전통 대두 발효식품으로, 예로부터 조미와 향을 내는 목적으로 널리 이용되어 왔다(Choi 등, 2000). 간장의 발효에는 *Aspergillus oryzae*, *Bacillus* ssp.와 내염성 유산균, 내염성 효모류 등이 관여하며(Kang 등, 2000), 이러한 미생물들에 의해 단백질 성분이 peptides, 아미노산 등으로 분해되어 간장의 감칠맛과 풍부한 향미와 같은 관능적 특성과 상관관계가 있다고 보고되었다(Choi 등, 2013). 간장에는 isoflavone 함량이 높다고 알려져 있는데, Lee 등(2001)의 연구에 따르면 발효 초기에는 daidzin, genestin 등과 같은 배당체 형태의

물질들이 주로 검출되지만, 발효가 진행되면서 체내 흡수율이 높다고 알려져 있는 비배당체 형태로 전환된다고 하였다. 뿐만 아니라 발효가 진행되며 생성된 아미노산, 비타민, 지방산, phytochemicals 등의 함량이 높아, 영양학적 그리고 건강 기능적으로 우수한 발효식품이다(Park 등, 2018; Shao, 2009). 이러한 간장의 특징은 발효 시 사용되는 용기의 종류에 따라 품질 특성이나 건강 기능성에 영향을 받을 수 있다(Jeong 등, 2011; Lee 등, 2020).

예로부터 간장, 된장 등 발효식품들은 옹기(항아리)라고 불리는 한국 전통 토기에 보관하여 숙성시키거나 저장되어 왔다. Lee 등(2020)의 연구에 따르면, 옹기에서 발효한 된장이 도자기, 유리병, 스테인레스 스틸 용기에 비해 품질과 기능성이 우수하다고 보고하였으며, 어간장 역시 옹기에서 발효할 경우 미생물의 증식이 활발해지면서 protease 활성이 높아지고, glutamic acid의 함량도 증가되어 맛과 품질이 우수한 어간장을 제조할 수 있다는 연구 결과가 있다(Jeong 등, 2011). 이는 옹기가 가지는 미세한 공기구멍에 의한 것으로, 외부 공기가 옹기 내부로 통할 수 있도록 도와주어 미생물의 활성에도 영향을 주고 발효까지도 영향을 미치기 때문인 것으로 알려져 있다(Han 등, 2013). Kim(2010)의 연구에 따르면 주사 현미경을 통해 옹기의 표면을 확인한 결과 기공을 관찰할 수 있었으며, Seo 등(2006)의 연구에서도 옹기의 다공성 미세구조를 통해 가스와 수분이 통과할 수 있으며, CO₂/O₂ 투과율은 0.60-1.00로 높은 범위를 나타낸다고 하였다.

하지만, 현대에는 주거형태의 변화와 무겁고 깨지기 쉬운 옹기의 특징 때문에 보관이 가볍고 용이한 플라스틱, 스테인레스, 유리병 등의 용기들이 흔히 사용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 콩알 메주를 이용하여 전통 간장을 제조한 후 각각의 서로 다른 용기에서 발효시키면서 발효 지표인 pH와 산도, 염도, 곰팡이와 효모수, 총유산균수, 총균수, 아미노태 질소, 암모니아태 질소의 변화, 항산화효과(DPPH), 항돌연변이 효과 및 HCT-116 인체 유래 암세포에서의 성장 저해 효과를 측정하였다. 발효기간에 따른 품질의 변화 및 건강 기능성 변화를 확인함으로써 옹기에서 발효될 때 간장의 품질과 기능성 증진에 대한 특성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 발효 용기의 종류와 특징

간장 발효에 사용한 모든 용기는 20 L 용량을 사용하였으며, 울산 옹기마을에서 생산한 옹기로, 유약을 처리하지 않은 무유옹기(onggi without glaze, OWOG), 유약을 처리한 시유옹기(onggi with glaze, OWG)를 사용하였다. 이와 비교를 위해 사용된 일반 발효 용기는 자기(CRM), stainless steel 용기(STL), 유리병(GLA)을 사용하였다.

실험에 사용한 용기는 울산, 영천, 안양 지역의 토양을 혼합하여 제작하였으며, 무유옹기는 울산:영천:안양 = 60%:15%:20%, 시유옹기는 55%:15%:30%의 비율로 혼합하여 사용하였다. 그리고 나무재와 홍선 흙을 50%:50% 비율로 물에 녹여 시유옹기에 바르는 유약으로 사용하였다.

2.2. 실험재료

간장의 제조는 Hwang 등(2002)의 방법을 이용하여 전통방식으로 제조하였다. 메주는 경상북도 고령군에 소재하는 알알이 식품에서 제공받은 콩알메주(국내산 대두 99.8%와 *Asp. oryzae* 0.02%)를 사용하였다. 먼저 품질 좋은 대두를 골라 세척하여 대두의 1.5배의 물(15°C)에 12시간 침지하고, 물빼기를 한 다음 4시간 동안 증자한 후 40°C로 냉각하였다. 냉각한 대두에 *Asp. oryzae*(Chungmu Fermentation Co. Ltd., Ulsan, Korea)를 대두 무게의 0.02%가 되도록 접종하여 30°C incubator에서 48시간 발효시킨 후, 40°C에서 24시간 열풍 건조하여 콩알메주를 제조하였다. 제조된 메주에 소금과 물을 1:1:4(wt:wt:wt)의 비율로 혼합하여 각각의 발효 용기에 담아 37°C에서 40일간 숙성한 뒤, 간장을 분리하여 실험에 사용하였다.

항산화, 항돌연변이와 항암실험에 사용한 간장 추출물의 경우, 간장 시료를 동결건조시킨 후 파쇄하여 시료 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하고, 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공 농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 추출물을 얻었다. 이들 추출물은 증류수 또는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 희석하여 실험에 사용하였다(Lee 등, 2020).

2.3. pH 및 산도 측정

pH는 간장 시료를 증류수로 10배 희석하여 그 희석액을

pH meter(M220, Corning, MA, USA)로 측정하였다(Lee 등, 2021). 산도는 시료를 20배 희석하여 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.4가 될 때까지 적정하여 소비된 0.1 N NaOH의 양(mL)으로 나타내었다. 적정값은 유산의 함량 %로 환산하여 나타내었다(Hong 등, 2021).

$$\text{Acidity (\%)} = \frac{\text{mL of 0.1 N NaOH} \times 0.1 \times \text{dilution rate} \times 0.09^*}{\text{Weight of sample (g)}} \times 100$$

*0.09: Conversion factor

2.4. 염도 측정

염도는 간장 시료를 증류수로 10배 희석하여 그 희석액을 염분측정기(Takemure TM-30D, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다(Lee, 2018).

2.5. 아미노태 질소(NH₂-N)와 암모니아태 질소(NH₃-N) 측정

아미노태 질소는 formol법을 사용하여 간장 시료를 증류수로 10배 희석하고, 희석한 시료액 20 mL에 중성 formalin 용액 20 mL를 가해 pH 8.4가 될 때까지 0.1 N NaOH로 적정하여, 소비된 mL 수를 측정하였다(Park 등, 2015a).

암모니아태 질소는 시료에 증류수를 가하여 10배 희석한 후 AM505-K kit(Asan Pharmaceutical Co., Dongdaemoon, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였다(Lee 등, 2013).

2.6. 미생물 균수 측정

미생물은 곰팡이와 효모, 유산균수, 총균수(일반 세균수)를 확인하였으며, 모든 균수 측정은 평판계수법을 이용하여 측정하였다. 곰팡이와 효모수는 단계별로 희석한 시료를 potato dextrose agar(PDA) 배지(Difco, Sparks, MD, USA)에 접종하여 25°C에서 48시간 배양한 후 집락수를 측정하였다. 유산균수 역시 멸균 증류수로 단계별 희석한 다음, 그 용액을 sodium azide MRS(Difco, Sparks, MD, USA) 배지에 접종하여 37°C에서 48시간 배양한 후 집락수를 계수하였고, 측정된 미생물균의 집락수는 log값으로 표시하였다(Lee 등, 1992; Lee 등, 1996).

총균수는 간장 시료 1 mL를 멸균 증류수로 단계별로 희석하고, 이 희석된 용액을 0.1 mL씩 취하여 plate count agar(Difco Co, Detroit, MI, USA) 배지에 접종하고, 37°C에서 3일간 배양한 후 집락수를 측정하였다(Park 등, 2000).

2.7. DPPH radical 소거(항산화) 효과 측정

농도별로 메탄올에 용해시킨 시료 100 μL와 150 μM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 100 μL를 96-well plate에 혼합하여 30분간 실온에 방치시킨 후, 540 nm에서 분광광도계(UV/VIS Spectrophotometer, Jasco, Japan)로 흡광도를 측정하였다(Park 등, 2015b).

2.8. 항돌연변이 효과 측정

Salmonella typhimurium LT-2 histidine 영양요구성인 *Salmonella typhimurium* TA100은 미국 캘리포니아 대학의 B. N. Ames 박사로부터 제공받아 실험에 사용하였으며, 이들 실험균주들은 새로운 frozen permanent가 준비되었을 때나 매 실험 직전 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 간접돌연변이원인 aflatoxin B₁(AFB₁)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)사에서 구입하여 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 사용하였다. 돌연변이원을 활성화시키기 위하여 간의 microsomal enzyme mixture인 S9 mixture를 이용하였다(Chung 등, 1997; Maron과 Ames, 1983). 본 실험에서 주로 이용하였던 preincubation test는 S9 mix 0.5 mL, phosphate buffer, 하룻밤 배양된 균주(1-2×10⁹ cells/mL) 0.1 mL, 희석된 시료(50 μL)와 돌연변이 유발물질(50 mL)을, ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex한 후 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2 mL씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고, 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀 돌연변이 숫자를 계수하여 돌연변이 억제효과를 측정하였다(Hwang 등, 2007).

2.9. 인체 암세포에서의 in vitro 항암 효과 측정

HCT-116 인체 대장암세포는 American Type Culture Collection(Rockville, MD, USA)에서 분양받아 배양하면

서 실험에 사용하였다. 세포배양을 위해 RPMI 1640, fetal bovine serum(FBS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA, 100 units/mL penicillin-streptomycin을 GIBCO(Grand Island, NY, Forma, Marietta, OH, USA)로부터 구입하여 사용하였고, 세포배양은 5% CO₂ incubator(Forma, model 311 S/N29035, Waltham, MA, USA)를 사용하였다.

배양된 암세포는 일주일에 2-3회 refeeding하고 6-7일 후에 PBS로 세척한 후, 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 배양된 암세포는 96 well plate에 well당 1×10⁴ cells/mL가 되도록 180 μL씩 분주하고, 시료를 일정 농도로 20 μL 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 72 시간 배양하였다(Ko 등, 2005). 여기에 인산생리식염수에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT 용액 20 μL를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 배양하였다. 이때 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader (model 680, Bio Rad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(Bocca 등, 2004).

2.10. 통계분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과는 발효 기간 40 일을 시료로 사용하여 이를 중심으로 분산분석을 수행한 후, p<0.05 수준에서 Duncan’s multiple range test를 실시하여 유의성을 검정하였다. 그 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 모든 통계 분석은 SAS system(v8.2

SAS Institute Inc., Chicago, Cary, NC, USA)을 이용하였다(Hayashi 등, 1994).

3. 결과 및 고찰

3.1. 간장의 pH 및 산도

37°C에서 40일 동안 발효시키면서 10일 간격으로 pH를 측정된 결과는 Fig. 1(A)에 나타내었다. 옹기에서 발효한 간장이 5.30-5.38로, 일반 옹기에서 발효한 간장(5.10-5.23)에 비해 낮은 pH 감소율을 보였다. 특히 유리병에서 발효한 간장은 5.10으로 급격히 pH가 감소하는 것을 확인할 수 있었지만, OWOG의 pH는 5.38로 발효기간 동안 서서히 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. Lee 등(2020)은 다양한 옹기에서 40일간 된장을 발효한 결과, 도자기, 스테인레스 스틸, 유리병에서 발효한 된장은 pH 5.10-5.30을 나타냈지만, 옹기에서 발효한 된장은 5.67-5.73으로 pH가 천천히 감소한다고 보고한 바 있으며, Jeong 등(2011)의 연구에서도 4°C에서 4주간 옹기에 김치를 보관할 경우, 일반옹기(플라스틱 옹기, 김치냉장고 옹기, 스테인레스 스틸, 유리병)에 비해 pH 및 산도가 완만한 변화 양상을 나타내, 옹기에 김치를 발효할 경우 기공에 의한 공기순환이 적숙기를 오래 유지시켜 주는 것으로 나타났다고 하였다.

초기 산도는 0.33-0.35%로 모든 옹기의 간장에서 비슷하게 나타났지만, 숙성 기간에 따라 증가하였다(Fig. 1(B)). 발효 40일 후, GLA의 산도는 0.84±0.05%로 급격히 증가

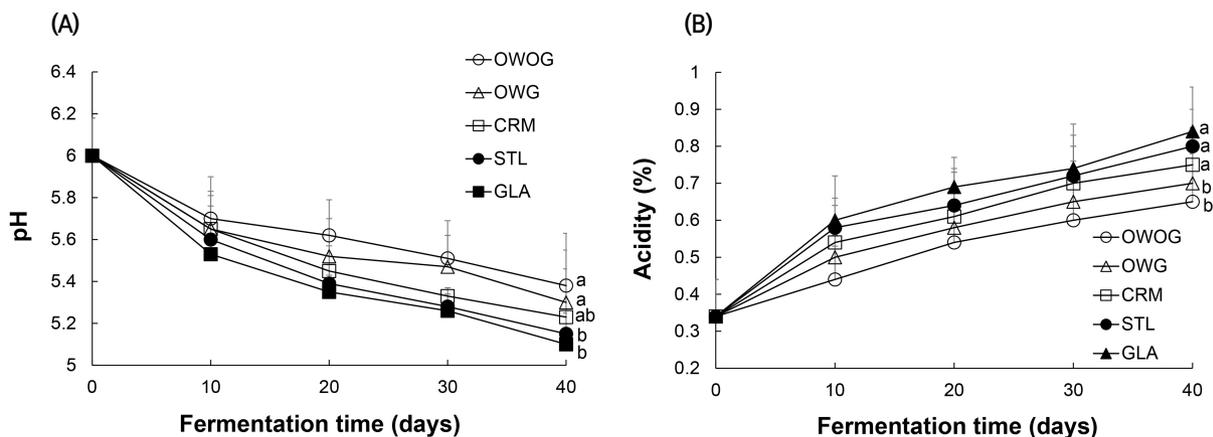


Fig. 1. pH (A) and acidity (B) changes of ganjang fermented in different containers at 37°C for 40 days. OWOG, onggi without glaze; OWG, onggi with glaze; CRM, ceramics; STL, stainless steel; GLA, glass. ^{a,b}Means with the different letters on the 40 day of fermentation are significantly different (p<0.05) by Duncan’s multiple range test.

하였지만, OWOG군은 $0.65 \pm 0.05\%$ 로 서서히 증가한 것을 확인하였다. 특히 OWOG에서 산도가 낮은 증가율을 나타냈었고, GLA가 가장 높은 증가율을 보였다. Chung 등(2005)의 연구 결과에서도 용기에서 발효시킨 고추장이 유리병, 플라스틱 용기와 같은 일반 용기보다 발효기간 동안 적당한 산도를 유지한다고 보고하였다.

따라서, 간장 발효 시 용기를 사용하면 장기간 보관할 수 있으며, 용기 중에는 시유용기보다 무유용기를 사용할 경우 품질이 가장 안정적인 간장을 제조할 수 있을 것으로 생각된다.

3.2. 염도

발효 용기별 간장의 초기 염도는 17.0%였으며, 발효 10일째부터 각 용기별로 차이를 나타냈다(Fig. 2). 발효 40일에는 GLA와 STL의 염도가 21.8-21.9%로 가장 높았으며, 용기에서 발효된 간장은 17.7-19.0%로 낮은 증가율을 나타내었다. 특히, OWOG가 17.7%로 OWG(19%)보다 더 낮은 증가율을 보였다. Lee 등(2020)의 연구에서는 용기에서 된장을 발효하였을 때 낮은 염도를 나타냈다고 하였으며, Chung 등(2004)의 연구에서도 발효 기간에 따라 어간장의 염도가 점차 증가하였으며, 스테인레스 용기에서 가장 높은 염농도를 나타내었다. 하지만 용기에서 발효할 경우 낮은 염농도를 나타내었고, 물의 증발량이 증가하여 용기

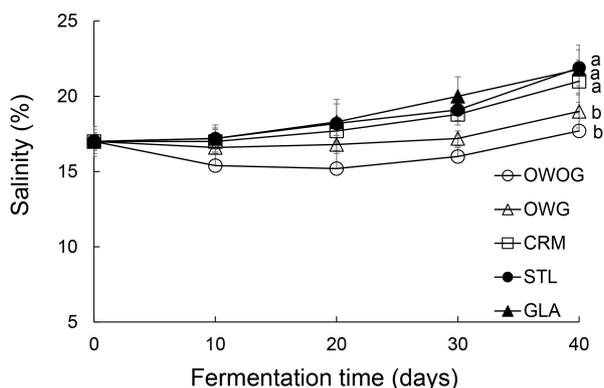


Fig. 2. Changes of salinity in *ganjang* fermented in different containers at 37°C for 40 days. OWOG, *onggi* without glaze; OWG, *onggi* with glaze; CRM, ceramics; STL, stainless steel; GLA, glass. ^{a,b}Means with the different letters on the 40 day of fermentation are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

벽면 기공에 소금의 석출을 볼 수 있었다. 이는 염이 수분과 함께 기공을 투과하는 것으로 보이며, 이로 인해 다른 용기에 비해 용기에서 발효할 경우 다소 낮은 염도의 간장이 제조될 수 있다.

3.3. 아미노태 질소 및 암모니아태 질소 함량

발효 40일 후 각 용기별로 발효된 간장의 아미노태 질소와 암모니아태 질소 함량을 측정된 결과는 Fig. 3(A)에 나타내었다. OWOG군이 600 ± 30 mg%를 나타내었고, OWG는 580 ± 20 mg%로 CRM은 560 ± 25 mg%, STL은 460 ± 25 mg%, GLA는 460 ± 30 mg%를 생성하여 용기에서 발효한 간장이 다른 용기에 비해 높은 아미노태 질소 함량을 나타내었다.

아미노태 질소는 숙성 정도 및 보존기간 중의 품질평가의 지표가 되는 성분이라고 하였고, 간장의 맛에 기여하는 중요한 요인으로 아미노태 질소 함량이 높을수록 맛과 성분면에서도 우수하다고 하였다(Kim, 2004). 특히 무유용기에서 발효한 간장의 아미노태 함량이 다른 용기에 비해 유의적으로 높게 나타났는데($p < 0.05$), 기공을 갖는 용기의 특성으로 인해 공기가 순환하며 미생물의 생육에 영향을 미쳐 콩 단백질 성분들의 분해가 활발히 일어나, 다른 용기에 비해 아미노태 질소 성분을 많이 생성된 것으로 보인다.

반면, 과량 발생할수록 불쾌취를 유발하여 부패 혹은 변패의 지표로 사용되는 암모니아태 질소(Ahn 등, 2012)는 용기에서 발효한 간장이 다른 용기에 비해 낮은 함량을 보였다(Fig. 3(B)). 특히, OWOG는 365 ± 15 mg%로 CRM(488 ± 10 mg%)에 비해 0.74배, STL(527 ± 25 mg%)은 0.69배, GLA(575 ± 20 mg%)에 비해 0.63배 낮은 함량을 보였으며, 시유용기(396 ± 20 mg%)에 비해서도 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). Lee 등(2020)도 무유용기에서 발효한 된장이 유의적으로 아미노태 질소량이 높은 값을 나타내 된장의 맛과 품질이 높아지는 이상적인 발효 용기라고 보고하였다.

본 실험 결과에서도 용기에서 발효한 간장이 다른 용기에서 발효한 간장에 비해 우수한 품질을 나타내었으며, OWOG가 OWG에 비해 우수한 품질의 간장을 제조하는 데 적합한 용기인 것으로 나타났다.

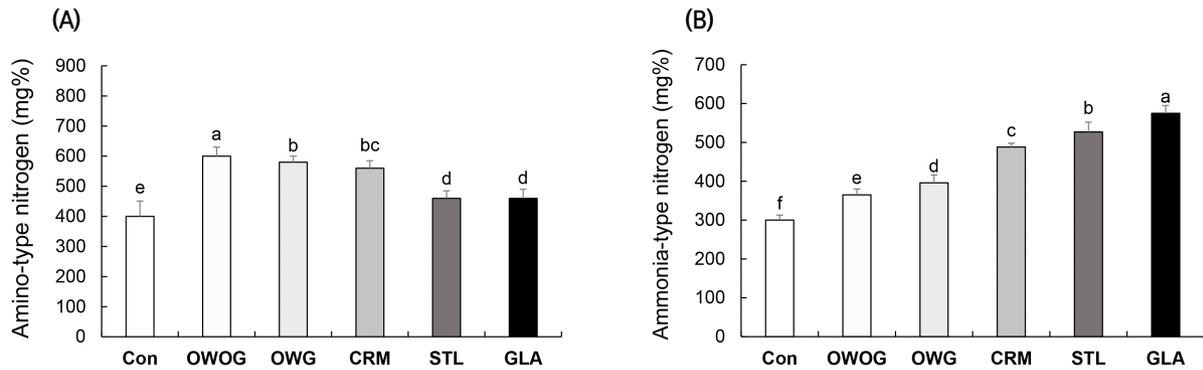


Fig. 3. Amino-type nitrogen content (A) and ammonia-type nitrogen content (B) in *ganjang* fermented in different containers at 37°C for 40 days. Control, *meju*. OWOG, *onggi* without glaze; OWG, *onggi* with glaze; CRM, ceramics; STL, stainless steel; GLA, glass. ^{a-f}Means with the different letters on the 40 day fermentation time are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

3.4. 미생물 수

37°C에서 40일간 각 용기에서 발효한 간장의 미생물 수 변화를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 간장의 곰팡이, 효모의 변화는 발효 10일부터 용기별로 급격한 차이를 보였으며, 발효 40일 후 OWOG와 OWG는 8.2-8.25 log CFU/mL를 보이지만, CRM, STL, GLA는 7.1-7.3 log CFU/mL를 보여 유의적으로 차이를 나타내었다(Fig. 4(A)) ($p < 0.05$). 유산균의 경우에도 발효 20일부터 용기별로 차이를 보였으며, 발효 40일 후에는 OWOG, OWG와 CRM, STL, GLA 사이에 급격한 차이를 보였다. 특히, OWOG의 경우 5.98 log CFU/mL로, 다른 용기(4.1-5.5 log CFU/mL)에 비해 10-100배의 많은 유산균 수를 확인할 수 있었다(Fig. 4(B)). 이는 용기가 가지는 미세 기공을 통해 일정량의 공기가 유입되며, 유산균의 성장과 활성화에 유리한 조건

을 제공하여(Velraj 등, 2012) 다른 용기에 비해 곰팡이, 효모, 유산균 등 발효에 필요한 미생물의 성장을 촉진시키는 것으로 보인다(Yoo 등, 2001).

한편, 일반 세균수는 OWOG나 OWG의 경우 7.2-7.3 log CFU/mL를 보이지만 다른 용기에서는 8.2-8.4 log CFU/mL를 나타내어, 용기에서 간장을 발효할 경우 일반 세균수는 유의적으로 감소하는 것을 알 수 있었다(Fig. 4(C)) ($p < 0.05$). 유약의 유무에 따라서는 무유용기의 일반 세균수가 시유용기에 비해 더 낮음을 확인할 수 있었다. Chung 등(2006)의 기공이 없는 용기에서 간장을 발효할 경우, 높은 식염 함량이 균의 성장에 부정적인 영향을 끼쳐 총균수가 증가한다고 보고한 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 또한, Han 등(2013)은 용기에서 김치를 발효시킬 경우, 발효 초기의 호기적이던 환경이 발효가 진행되면서 혐

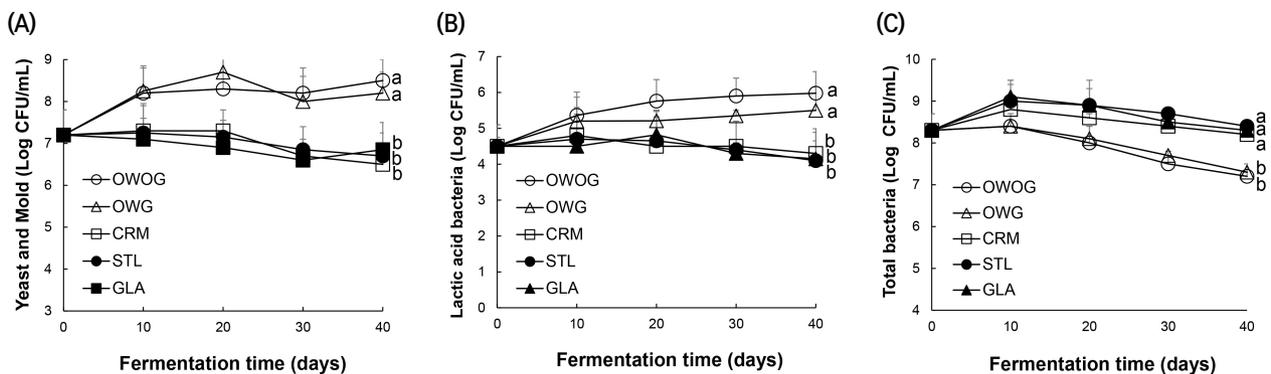


Fig. 4. Changes of the yeast and mold (A), lactic acid bacteria (B) and total bacteria (C) in *ganjang* fermented in different containers at 37°C for 40 days. OWOG, *onggi* without glaze; OWG, *onggi* with glaze; CRM, ceramics; STL, stainless steel; GLA, glass. ^{a,b}Means with the different letters on the 40 day fermentation time are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

기적 조건으로 변하여 호기성균의 성장은 억제되고, 곰팡이, 효모, 유산균 등의 성장은 높아졌다고 하였다. 따라서, 간장의 경우에도 용기에서 발효할 경우, 유산균을 비롯한 통성 혐기성균이나 효모, 곰팡이 등이 우점종으로 성장하여 일반 세균과 같은 호기성균의 성장은 상대적으로 억제되는 것으로 생각된다.

따라서 용기는 다른 용기에 비해 간장 발효 시 발효에 필요한 곰팡이, 효모, 유산균 등의 미생물이 잘 생육할 수 있는 보관 및 발효 용기인 것을 확인하였다. 이것은 간장을 장기간 발효 및 보관하였을 때 품질 특성 변화를 안정적으로 유지시켜 줄 수 있을 것으로 생각된다. 이는 용기에 김치를 보관할 경우, 총균수는 비교적 억제되고, 유산균은 잘 증식되어 김치 발효가 적절하게 이루어졌다는 결과와 유사하였다(Jeong 등, 2011).

3.5. DPPH radical 소거 효과

용기를 달리하여 40일 동안 발효시킨 간장들의 DPPH를 이용한 항산화 효과 차이를 측정된 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 발효가 진행됨에 따라 간장의 free radical 소거능이 모든 용기에서 발효한 간장 시료가 Control(발효 0주차)에 비해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 특히 용기는 발효가 진행됨에 따라 발효 전에 비해 free radical 소거능이 4배 이상 증가하였고, 일반용기에서 발효한 간장보다 약 1.5배 이상 높은 항산화 효과를 나타내었으며, OWOG가 OWG에 비해 더 높게 나타났다. 한편, STL의 free radical 소거능은 25%로

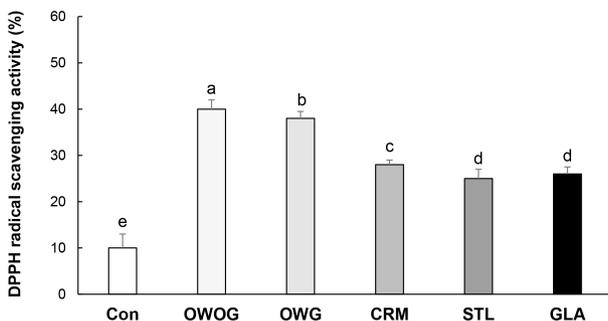


Fig. 5. DPPH radical scavenging activity of *ganjang* extracts (2 mg/mL) fermented in different containers at 37°C for 40 days. Control, *meju*; OWOG, *onggi* without glaze; OWG, *onggi* with glaze; CRM, ceramics; STL, stainless steel; GLA, glass. ^{a-e}Means with the different letters on the bars are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

유의적으로 낮았으며($p < 0.05$), CRM, GLA 역시 28%, 26%로 STL과 비슷한 free radical 소거능을 나타내었다.

발효 중 미생물의 활성에 의해 콩 단백질이 분해되면서 아미노산과 같이 항산화에 관여하는 대사산물들의 생성이 증가하고, 간장에 함유된 항산화 물질들이 더욱 활성화된 형태로 전환되어 항산화 효과가 증가하는 것으로 알려져 있다(Bowey 등, 2003; Lee 등, 2009). 또한, 발효가 잘 되면 postbiotics(발효산물)의 많은 생성으로 건강 기능성도 증가되는 것으로 알려져 있다(Peluzio 등, 2021). 결과를 보면, 다른 용기보다 용기에서 발효한 간장의 항산화 효과가 높게 나타났는데, 이는 용기의 산소 투과와 같은 특성으로 인해 발효에 유용한 미생물들의 활성이 높아지면서 발효 산물들의 항산화 효과에 영향을 미친 것으로 생각된다.

3.6. 항돌연변이 효과

간접돌연변이원인 아플라톡신 B₁(AFB₁)을 이용하여 용기별로 발효된 간장의 항돌연변이 효과를 비교하였다. 그 결과, 모든 군에서 농도 의존적으로 항돌연변이 효과가 증가하였다. Table 1의 결과를 보면, 2.5 mg/plate 농도에서 CRM, STL 및 GLA에서 발효된 간장의 경우 각각 7-10%의 항돌연변이 효과를 나타내었지만, OWOG와 OWG에서 발효된 간장은 각각 20%, 17%로 유의적으로 높은 항돌연변이 효과를 나타냈다. 특히, OWOG의 경우 다른 용기에 비해 1.1-2.8배 높은 항돌연변이 효과를 나타냈다. 1.25 mg/plate 농도에서도 용기에서 발효한 간장의 경우 일반 용기에서 발효한 간장에 비해 높은 항돌연변이 효과를 나타냈는데, OWOG가 16%로 OWG에 비해서도 높은 항돌연변이 효과를 보였다.

모든 농도에서 용기에서 발효한 간장이 효과가 높았으나, 무유용기(OWOG)에 발효된 간장이 시유용기(OWG)에서 발효된 간장보다 높은 항돌연변이 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 용기에서 발효 시 기공을 통해 미생물이 효소계의 활성화에 관여하여 돌연변이 전구물질을 최종 돌연변이 물질로의 전환을 방지하였거나, 활성화 돌연변이 물질에 직접 반응하여 제거하였을 것으로 사료된다(Park 등, 1994).

3.7. 인체 대장암세포에서의 in vitro 항암 효과

용기 및 일반용기에서 발효한 간장의 HCT-116 인체 대

Table 1. Antimutagenic effect of the methanol extracts from fermented *ganjangs* at 37°C for 40 day in different containers against aflatoxin B₁ (AFB₁) in *Salmonella typhimurium* TA100

Specifications	Concentration (mg/plate)	
	Revertants/plate	
	1.25	2.5
Spontaneous ³⁾	139±14 ¹⁾	139±14
Control (AFB ₁) ⁴⁾	1,103±37 ^a	1,103±37 ^a
OWOG ⁵⁾	952±57 ^d (16) ²⁾	875±15 ^d (20)
OWG ⁶⁾	983±33 ^d (12)	881±27 ^d (17)
CRM ⁷⁾	1,049±15 ^c (6)	1,002±43 ^c (10)
STL ⁸⁾	1,081±49 ^b (2)	1,023±16 ^b (8)
GLA ⁹⁾	1,086±26 ^b (2)	1,035±21 ^b (7)

¹⁾Values are mean±SD.

²⁾The values in parentheses are the inhibition rates (%).

³⁾Spontaneous means the revertants naturally formed without AFB₁ and methanol extracts of *ganjang*.

⁴⁾Control means the revertants induced by AFB₁ without methanol extracts of *ganjang*.

⁵⁾OWOG, *onggi* without glaze.

⁶⁾OWG, *onggi* with glaze.

⁷⁾CRM, ceramics.

⁸⁾STL, stainless.

⁹⁾GLA, glass.

^{a-d}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

장암 세포 성장 저해 효과를 측정된 결과, 간장의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 암세포 성장 억제효과가 증가하는 것으로 나타났다. 초기 *meju* (control, con)의 상태보다 40일간 발효한 간장에서 높은 암세포 성장 억제율을 보였다(Table 2). 10%의 농도에서 일반용기(CRM, STL, GLA)에서 발효한 간장의 경우 19-23%의 성장 억제율을 보였지만, 용기에서 발효한 간장(OWOG, OWG)의 경우 37-45%로 유의적으로 높은 암세포의 성장 억제율을 보였다. 특히, OWOG의 경우 45%로, OWG의 1.2배, CRM의 1.9배, STL의 2.3배, GLA에 비해 2.2배 높은 암세포 성장 억제율을 나타냈다. 또한, 5%의 농도에서도 OWOG의 경우 24%의 암세포 성장 억제율을 보이며, 다른 용기에서 발효한 간장에 비해 1.2-2.4배 높은 성장 억제율을 나타냈다. 이는 무유용기가 가지는 기공에 의한 공기순환, 수분흡습과 탈습 등 용기의 물리적 특성에 의해 간장의 발효에 영향을 미치는 미생물의 생육이 활발해지며, 이로 인해 간장의 주재료인 콩의 isoflavone 배당체 성분들이 비배당체로 전환되어 기능성이 더 증진된 것으로 생각된다(Park 등, 2018).

간장을 발효할 때 여러 조건 중 용기의 종류는 발효 미생물, 발효 대사산물 등에 크게 영향을 끼치는 것으로 보인다. 특히 간장을 발효할 때 주 발효균인 곰팡이, 효모, 유산균 등의 성장은 공기가 통하지 않는 STL, CRM, GLA보다는 약간의 공기가 통하는 용기에서 발효될 때 맛과 건강기능성이 증진된다고 하겠다. 된장(Lee 등, 2020)과 김치(Jeong 등, 2011)도 용기에서 발효시키면 맛도 좋으면서 건강 기능성도 또한 높아지는 것으로 보고된 바 있다. 그러므로 전통적으로 사용해 온 용기가 한국 발효식품 제조에 적합한 용기라고 하겠다. 따라서 발효식품제조에 용기를 사용하는 것이 바람직하나 무겁고 잘 깨지는 단점이 있으므로, 용기와 비슷한 투과성을 지니며 가볍고 편리한 대체용 현대식의 용기의 개발이 필요하다고 사료된다.

4. 요약

본 연구에서는 간장을 20 L 크기의 용기(무유용기, 시유용기)와 일반용기(도자기, 스테인레스 스틸, 유리병)에서 각각 발효하면서 품질특성 및 건강기능성을 확인하였다. 이화

Table 2. Anticancer effects of the methanol extracts from fermented *ganjangs* at 37°C for 40 days in different containers on HCT-116 human colorectal cancer cells in MTT assay

Specifications	Concentration (%)	
	OD ₅₄₀	
	5	10
OWOG ³⁾	0.42±0.01 ^{1)g} (24) ²⁾	0.31±0.00 ^g (45)
OWG ⁴⁾	0.45±0.01 ^f (19)	0.35±0.00 ^f (37)
CRM ⁵⁾	0.49±0.01 ^e (13)	0.43±0.01 ^e (23)
STL ⁶⁾	0.55±0.02 ^c (10)	0.46±0.01 ^c (19)
GLA ⁷⁾	0.50±0.02 ^d (11)	0.45±0.00 ^d (20)
Control (<i>meju</i>) ⁸⁾	0.56±0.02 ^a	0.56±0.02 ^a
0 day ⁹⁾	0.51±0.01 ^b (9)	0.48±0.01 ^b (14)

¹⁾Values are mean±SD.

²⁾The values in parentheses are the inhibition rates (%).

³⁾OWOG, *onggi* without glaze.

⁴⁾OWG, *onggi* with glaze.

⁵⁾CRM, ceramics.

⁶⁾STL, stainless.

⁷⁾GLA, glass.

⁸⁾Control, *meju*.

⁹⁾0 day, fermentation 0 day.

^{a-g)}Means with the different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

학적 특성을 살펴보면 용기에서 발효한 간장의 경우 pH가 서서히 감소하고, 산도도 완만하게 증가하는 등 발효 기간 동안의 변화가 천천히 일어났지만, 도자기, 스테인레스 스틸, 유리병의 경우 그 변화가 급격하게 일어났다. 또한, 미생물 변화에 있어 용기에서 간장을 발효할 경우 발효에 관여하는 곰팡이, 효모와 유산균 등의 미생물이 잘 증식되는 것으로 나타났다. 반면, 일반 호기성 세균의 증식은 감소하였다. 그리고 용기에서 발효한 간장이 높은 아미노태질소 함량을 보였으며, 암모니아태 질소는 낮은 함량을 보여 품질이 우수한 것으로 나타났다. 염도 역시 용기에서 발효한 간장이 다른 용기에 비해 낮은 함량을 나타내었다. 항산화 효과 역시 용기에서 발효한 간장에서 높게 나타났고, 항돌연변이 및 항암효과도 무유용기에서 발효된 간장이 가장 우수하였다. 이를 통해 간장 발효 시 용기 특히, 무유용기를 사용할 경우 품질과 건강기능성이 증진된 제품을 제조할 수 있는 것을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 경기도의 지역협력연구센터 사업의 일환으로

수행하였으며(GRRC-CHA2017-B03, 기능성 김치 및 태명청 음료의 건강기능식품 개발), 이에 감사를 드립니다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Lim YL. Methodology: Lee JH. Formal analysis: Hong GH. Validation: Kim JH. Writing - original draft: Lee SY. Writing - review & editing: Park KY.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

So Young Lee (First author)

<https://orcid.org/0000-0001-5859-6108>

Geun Hye Hong

<https://orcid.org/0000-0001-6571-1100>

Kun-Young Park (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0002-2674-0715>

References

- Ahn JB, Park JA, Jo H, Woo I, Lee SH, Jang KI. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial *Doenjang* and traditional *Doenjang* in Korea. *Korean J Food Sci Nutr*, 25, 142-148 (2012)
- Bocca C, Gabriel L, Bozzo F, Miglietta A. A sesquiterpene lactone, costunolide, interacts with microtubule protein and inhibits the growth of MCF-7 cells. *Chem Biol Interact*, 147, 79-86 (2004)
- Bowey E, Adlercreutz H, Rowland I. Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: A study in germ-free and human flora associated rats. *Food Chem Toxicol*, 41, 631-636 (2003)
- Choi KS, Choi JD, Chung HC, Kwon KI, Im MH, Kim YH, Kim WS. Effects of mashing proportion of soybean to salt brine on *Kanjang* (soy sauce) quality. *Korean J Food Sci Technol*, 32, 174-180 (2000)
- Choi NS, Chung SJ, Choi JY, Kim HW, Cho JJ. Physico-chemical and sensory properties of commercial Korean traditional soy sauce of mass produced vs. small scale farm produced in the Gyeonggi area. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 26, 553-564 (2013)
- Chung SK, Kim YS, Lee DS. Effects of vessel on the quality changes during fermentation of *Kochujang*. *Korean J Food Preserv*, 12, 292-298 (2005)
- Chung SK, Lee KS, Cho SH. Effect of fermentation vessel on quality of anchovy soy sauce. *Korean J Food Preserv*, 11, 233-239 (2004)
- Chung SK, Lee KS, Lee DS. Fermentation of *kanjang*, Korean soy sauce, in porosity-controlled earthenwares with changing the mixing ratio of raw soils. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 215-221 (2006)
- Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. Hydroxyl radical scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci Biotech Bioch*, 61, 118-123 (1997)
- Han DH, Park JM, Bae DH. Changes in microflora and flavor of soy sauce (Ganjang) according to the salt concentration. *Food Eng Prog*, 18, 248-255 (2014)
- Hayashi M, Tice RR, MacGregor JT, Anderson D, Blakey DH, Kirsh-Volder M, Oleson FB, Pacchierotti F, Romagna F, Shimada H, Sutou S, Vannier B. *In vivo* rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutat Res-Envir Muta*, 312, 293-304 (1994)
- Hong GH, Lee SY, Park ES, Park KY. Changes in microbial community by salt content in kimchi during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 50, 648-653 (2021)
- Hwang KM, Jung KO, Lee KB, Park KY. Studies on the standardization of Doenjang (Korean soybean paste) 1. Standardization of manufacturing method of Doenjang by literatures. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 31, 343-350 (2002)
- Hwang KM, Oh SH, Park KY. Increased antimutagenic and *in vitro* anticancer effects by adding green tea extract and bamboo salt during doenjang fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 36, 1-7 (2007)
- Jeong JK, Kim YW, Choi HS, Lee DS, Kang SA, Park KY. Increased quality and functionality of Kimchi when fermented in Korean earthenware (Onggi). *Int J Food Sci Technol*, 46, 2015-2021 (2011)
- Kang MJ, Kim SH, Joo HK, Lee GS, Yim MH. Isolation and identification of microorganisms producing the soy protein-hydrolyzing enzyme from traditional mejus. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 43, 86-94 (2000)
- Kim JG. Changes of components affecting organoleptic quality during the ripening of Korean traditional soy sauce - amino nitrogen, amino acids, and color. *Korean J Environ Health*, 30, 22-28 (2004)
- Kim YW. Studies on excellent qualities of Kimchi

- fermented in Onggi. MS Thesis, Pusan National University, Korea, p 52-54 (2010)
- Lee CW, Ko CY, Ha DM. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolates. *J Microbiol Biotechnol*, 20, 102-109 (1992)
- Lee JH, Lim YI, Lee SY, Kim JH, Park KY. Increased qualities and *in vitro* anticancer effects of 'Doenjang' fermented in 'Onggi'. *Korean J Food Preserv*, 27, 346-355 (2020)
- Lee JJ, Cho CH, Kim JY, Kee DS, Kim HB. Antioxidant activity of substances extracted by alcohol from Chungkookjang powder. *Korean J Microbiol*, 37, 177-181 (2001)
- Lee MK, Park WS, Kang KH. Selective media for isolation and enumeration of lactic acid bacteria from Kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 25, 754-760 (1996)
- Lee NR, Go TH, Lee SM, Hong CO, Park KM, Park GT, Hwang DY, Son HJ. Characteristics of Chungkookjang prepared by *Bacillus amyloliquefaciens* with different soybeans and fermentation temperatures. *Korean J Microbiol*, 49, 71-77 (2013)
- Lee SH. Quality characteristics of bulgogi soy sauce seasoned with using red ginseng tail root extract powder. *Food Serv Ind J*, 14, 103-124 (2018)
- Lee SY, Park ES, Hong GH, Kim JH, Park KY. Anti-colorectal cancer effect of ganjang prepared with washed-dehydrated solar salt on C57BL/6 mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 50, 636-642 (2021)
- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the salmonella mutagenicity test. *Mutat Res*, 113, 173-215 (1983)
- Park ES, Lee JY, Park KY. Anticancer effects of black soybean doenjang in HT-29 human colon cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 1270-1278 (2015a)
- Park KY, Moon SH, Lee SH. Antimutagenic effect of doenjang (Korean soy paste) - inhibitory effect of doenjang stew and soup on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁-). *Environ Mutagen Carcinog*, 14, 145-152 (1994)
- Park KY, Park ES. Health benefits of Doenjang (soybean paste) and Kanjang (soybean sauce). In: *Korean Functional Foods*, Park KY, Kwon DY, Lee KW, Park SM (Editors), CRC Press, New York, USA, p 101-144 (2018)
- Park S, Lee S, Park S, Kim I, Jeong Y, Yu S, Shin S, Kim M. Antioxidant activity of Korean traditional soy sauce fermented in Korean earthenware, *Onggi*, from different regions. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 847-853 (2015b)
- Park SK, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH. Quality characteristics of home-made doenjang, a traditional Korean soybean paste. *Korean J Soc Food Sci*, 16, 121-127 (2000)
- Peluzio MDCG, Martinez JA, Milagro FI. Postbiotics: Metabolites and mechanisms involved in microbiota-host interactions. *Trends Food Sci Technol*, 108, 11-26 (2021)
- Seo KH, Yun JH, Chung SK, Park WP, Lee DS. Physical properties of Korean earthenware containers affected by soy sauce fermentation use. *Food Sci Biotechnol*, 15, 168-172 (2006)
- Shao LN. Studies on physicochemical changes and cancer preventive effects of fermented soy sauces during ripening period. MS Thesis, Pusan National University, Korea, p 17-23 (2009)
- Velraj G, Ramya R, Hemamalini R. FT-IR spectroscopy, scanning electron microscopy and porosity measurements to determine the firing temperature of ancient megalithic period potteries excavated at Adichanallur in Tamilnadu, South India. *J Mol Struct*, 1028, 16-21 (2012)
- Yoo SM, Kim JS, Shin DH. Quality changes of traditional Doenjang fermented in different vessels. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol*, 44, 230-234 (2001)