Factors affecting to the Quality of Korean Soybean Paste, *Doenjang*

Hye-Jeoung Shim¹ · Jeong-hyun Yun² · Kyung-Hee Koh¹

한국 된장의 품질에 영향을 미치는 요인

심혜정¹ · 윤정현² · 고경희¹

Received: 28 August 2018 / Accepted: 28 October 2018 / Published Online: 31 December 2018
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

Abstract The quality of Korean *doenjang*, which was traditionally made for this study, was monitored for physicochemical properties, antioxidant capacity, and sensory properties at six months intervals for three years. The collected data were comprehensively analyzed using the *k*-means clustering via principal component analysis (PCA) to determine the optimal intake duration and sensory factors associated with acceptance. *Doenjang* samples were classified with every year interval based on PCA, and then the classified *doenjang* samples were further grouped into cluster one, two, and three based on the *k*-means clustering. In Cluster three, *doenjang* that was aged for thirty and thirty-six months, respectively, showed high total phenolic content, antioxidant capacity, superoxide dismutase like activity, and 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical scavenging capacity. Interestingly, along with acceptance, the levels of free amino acids and organic acids were higher in Cluster 3. The sensory factors found to be associated with acceptance included umami taste and brown color. In conclusion, this study proposes the intake of *doenjang* aged for thirty months based on its antioxidant activity and sensory properties although *doenjang* is usually ready after twelve months of aging.

Keywords Antioxidant capacity · *Doenjang* · Korean soybean paste · Sensory evaluation · Quality factors

서론

한국의 전통발효식품인 된장은 기원전 550년경 중국의 「제민요술(*Qimin Yaoshu*)」에 두장(豆醬)으로 기록되어 있으며, 한국의 「삼국사기(*Samguk Sagi*)」에는 683년 신문왕의 혼수 품목으로 장(醬)이 기록되어 있다[1]. 한국인이 오랫동안 섭취해 온 된장과 관련된 *in vitro* 연구에서, 된장의 물 추출물은 human gastric adenocarcinoma cell (AGS) human colon cancer cell (HT-29)과 human hepatocellular carcinoma cell (Hep 3B)에 항암효과를 나타내었다[2,3]. Jung들의 *in vivo* 연구에서, 된장의 물 추출물은 고형 종양을 주입시킨 mice colon 26-M3.1 cell의 대장암 억제 효과를 발표하였다[4]. 또한 된장에서 추출된 7,3,4-trihydroxyisoflavone은 고지방 식이를 한 쥐의 3T3-L1 cells에서 항 비만 효과와 된장 발효 중 isoflavone의 아그리콘인 genistein과 daidzein, 그리고 amino acids와 peptides 등의 항산화 작용을 시사하였다[5,6]. 된장의 숙성기간과 관능적 특성에 관한 연구에서, 중추신경계의 억제성 신경전달물질인 γ -aminobutyric acid (GABA)의 함량은 10년 숙성된 시판 된장이 숙성 전 보다 77배 증가하였다[7]. 또한 시판 된장의 총 페놀 화합물 함량 및 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity 등은 5년 동안 지속적으로 증가하였고, 이후 30년 동안에도 높은 항산화 활성이 유지되었다고 보고하였다[8].

최근에는 주성분 분석(principal component analysis, PCA)방법으로 된장의 품질을 평가하는 연구들이 발표되었다. Ku 등[9]은 9년 숙성된 구입 된장을 정량적 묘사분석과 군집 분석으로

Kyung-Hee Koh (✉)
E-mail: verokoh@catholic.ac.kr

¹Department of Food Science and Nutrition, The Catholic University of Korea, 43 Jibong-ro, Wonmi, Bucheon, Gyeonggi 14662, Republic of Korea

²Department of Food Biotechnology, Korea University of Science and Technology, Daejeon 34113, Republic of Korea

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.

관능적인 품질을 평가하였다. Tian 등과 Lee 등의 연구는 된장의 이화학적 성분과 관능 특성, 그리고 당과 아미노산 등과의 관련성을 종합적으로 분석하여 된장의 품질을 평가하였다[10, 11]. 이들 선행연구들의 경우 대부분 숙성기간이 다른 시판 된장을 각각 구입하여 실험한 연구로, 일관성 있게 발효 초기부터 숙성기간 동안 된장 성분들의 총체적인 변화를 모니터링한 분석이 아니므로 이들을 비교하기에는 한계를 가지고 있다.

본 연구에서는 전통적인 방법으로 직접 제조한 된장을 6개월 간격으로 채취하여 3년 동안 모니터링 하였다. 된장의 이화학적 성분, 항산화력과 관능평가를 통하여 된장의 최적 섭취시기를 설정하였고, 서로 관련성이 있는 요인들을 밝히고자 하였다. 우선 된장의 아미노산, 유리당, 유기산, 지방산과 무기질 등의 이화학적 성분 분석과 총 페놀, DPPH, ABTS 라디칼 소거력, SOD 유사활성 등의 기능성과 관련된 항산화력을 실험하였다. 다음으로 기호도에 영향을 주는 관능 요인들을 다중회귀분석(multiple-regression analysis)으로 선별하여 기호도를 예측하는 주요 요인들을 밝혔다. 마지막으로 주성분 분석과 *k*-평균(*k*-means cluster analysis)으로 숙성 기간 동안 된장의 종합적인 품질을 분석하고 평가하여, 된장 품질에 영향을 주는 요인들을 도출하였다.

재료 및 방법

실험재료

된장은 Park 등[12] 방법의 전통 된장 표준제조방법을 따라 대두 (*Glycin max* L.)를 사용하여 직접 제조하였다. 된장은 옹기에 넣어 자연조건에서 36개월 동안 연평균 13.4 ± 0.2 °C에서 발효 저장하면서 6개월 간격으로 시료를 채취하여 분석하였다. 본 연구의 항산화력 실험을 위해 사용된 ABTS, DPPH, ferrous chloride, Folin-Ciocalteu's reagent는 Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) 제품을 사용하였다. Aluminum nitrate, gallic acid and pyrogallol은 Sigma (St. Louis, MO, USA) 제품을, 1-Naphthylamine은 Sigma (Tianjin, China) 제품을, Linoleic acid은 Sigma (Steinheim) 제품을 사용하였다. Sugars, ascorbic acid, organic acids, amino acids은 Sigma-Aldrich (St. Lou, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였다.

일반성분, pH와 적정산도

일반성분은 식품공전[13]을 따라 분석하였다. pH와 총산도는 Chang 등의 방법[14]을 응용하였다. pH는 시료 4 g에 증류수 40 mL를 넣고 측정하고, 0.1 N NaOH 표준용액으로 적정산도를 구하였다.

유리당 분석

유리당은 식품공전의 당류 분석 방법[13]을 응용하였다. 된장은 증류수 추출물을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 실험용액으로 만들었다. 유리당은 Refractive Index detector (RI, Agilent, Palo Aito, CA, USA)가 장착된 HPLC (Agilent 1200 series, Palo Aito, CA, USA)로 carbohydrate high performance column (250 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 4 μ m, Waters, Milford, USA)을 사용하여 분석하였다. 이동상은 distilled water : acetonitrile = 17:83 (v:v)

로, 속도는 1.0 mL/min으로 분석하였다. 실험 용액 및 표준 용액을 각각 10 μ L씩 주입하였다.

유기산 분석

유기산 분석은 Do 등의 방법[15]을 변형하여 사용하였다. 된장 시료는 증류수로 추출하여 Sepak C18 cartridge로 정제하고 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 UV-DAD가 장착된 HPLC (Agilent 1200 series, Palo Aito, CA, USA)로 분석하였다. 이때 column은 ZORBAX SB-Aq (C18 Column, 4.6 mm $\times$ 150 mm $\times$ 5 μ m, Alltech, Deerfield, IL, USA)를 사용하였다. 이동상은 pH 2.0인 20 mM aqueous phosphate buffer: acetonitrile = 99:1 (v:v)이었으며, 주입량은 10.0 μ L이었다. 속도는 1.0 mL/min, 칼럼의 오븐 온도는 25 °C, 흡광도는 210 nm에서 측정하였다.

지방산 분석

지방산은 Kang 의 방법[16]을 응용하여 분석하였다. 지방산 분석에는 flame ionization detector가 장착된 Gas Chromatography (Agilent 6890, Waldbronn, Germany)를 사용하여 DB wax capillary column (0.25 μ m $\times$ 30 m, 0.32 mm)으로 분석하였다. 주입부의 온도는 230 °C, 검출기의 온도는 250 °C로 설정하였다. 오븐 온도는 165 °C에서 1분간 유지한 후 2 °C/min의 비율로 200 °C까지 상승시켜 25분 유지시켰다. Carrier gas는 N₂를 사용하였다. 시료의 속도는 1.0 mL/min, 주입량은 1 μ L였다. 지방산 함량은 Supelco Co. (St. Louis, Mo, USA)의 Fatty Acids Methyl Esters mix를 사용하여 지방산의 규정화된 면적 보정백분법(normalized area %법)으로 계산하였다.

유리아미노산 분석

유리아미노산은 식품공전의 방법[13]을 응용하였다. 시료는 0.1 N HCl에 용해하여 0.45 μ m membrane filter (Millipore Co., Billerica, MA, USA) 로 여과하여 UV-DAD가 장착된 Agilent 1100 series HPLC (Waldbronn, Germany)로, ZORBAX column (4.6 mm $\times$ 150 mm $\times$ 3.5 μ m)을 사용하여 분석하였다. 유리아미노산은 *o*-Phthal dialdehyde로 자동 유도체화되어, 338 nm의 UV에서 검출되었다. 이동상 A용액 40 mM phosphate buffer (pH 7.8)와 B용액 methanol : acetonitrile : water = 45:45:10 (v:v:v)으로, 초기에 A와 B의 비율을 100%:0%로 시작하여 1.9 min에 43%:57%, 18.1 min에 0%:100%, 22.3 min에 100%:0%로 설정하고 26분까지 100%:0%의 비율로 분석하였다. 속도는 2.0 mL/min였고, 시료의 주입은 0.5 μ L이었다.

항산화력

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu method을 사용하여 gallic acid equivalents (GAE) mg/L로 나타내었다[17]. DPPH 라디칼 소거력은 Kang 등[16], ABTS 라디칼 소거력은 Verzelloni 등의 방법[18], 환원력은 Xu 등의 방법[19]을 응용하여 사용하였다. 지질과산화 억제력은 ferric thiocyanate 방법으로 측정하였다[20]. 아질산염 소거력은 pH 1.2, 3.0, 6.0에서 Griess test로 분석하였고, SOD (superoxide dismutase) 유사 활성은 pyrogallol을 사용하여 Lim 등의 방법[21]을 응용하여 측정하였다.

관능검사와 색도

숙성 기간 동안 된장의 관능적 품질 평가는 훈련된 패널 15명을 대상으로 용어를 선정하였다. 정량적 묘사분석(quantitative descriptive analysis, QDA)과 기호도 측정은 15cm 선 척도의 방법으로 항목 특성의 강도를 표시하도록 했다[22,23]. 색도는 Hutchings의 방법을 따라 Hunter value로 나타냈다[24].

통계분석

데이터의 유의성 검증은 SAS (SAS 9.3, Cary, NC, USA)와 SIMCA (SIMCA, version 12, Umetrics, Umea, Sweden)을 이용하여 ANOVA (one-way analysis of variance) 분석 후 Duncan's multiple range test로 $p < 0.01$ 수준에서 검증하였다. 모든 분석 결과는 주성분분석과 k -means 군집분석(k -means clustering)을 하였다[25]. PCA 로 여러 개의 변수를 2개의 중요한 주성분(principle component, PC)으로 축소하여 데이터의 전체 변수 사이의 관계를 분석하였다. k -means는 비계층적 군집(nonhierarchical clustering) 방법으로 36개월 동안 숙성한 된장에서 얻은 데이터를 클러스터(cluster)로 분류하였다.

결과 및 고찰

일반성분 특성

된장의 일반성분은 Table 1에 제시하였다. 된장의 수분 함량은 숙성 전에는 58.4%이었으며, 숙성 후기인 36개월에는 38.8%로 감소하였다. 탄수화물은 12.8-16.6%, 조단백질은 13.1-14.9%, 조회분은 14.3-21.4%이었으며, 염도는 12.9-19.5%으로 나타났다. 숙성기간 동안 수분이 감소하는 경향을 나타내어, 수분을 제외한 건조물질량으로 구하였다. 탄수화물은 30.8-27.1%, 조단백질은 31.5-26.6%였고, 조회분과 염도는 숙성 기간에 따른 유의적인 변화가 없었다($p < 0.01$). 이는 Ku 등[9]이 1년에서 9년까지 숙성 기간별 일반성분을 분석한 결과 숙성 기간에 따른 경향은 보이지 않았다는 결과와 유사하였다. 된장의 전통식품품질 인증 규격 기준[26] 지표인 아미노데 질소 함량을 분석하였다. 숙성 전과 숙성 후의 아미노데 질소 함량은 각각 0.4%와 0.6%로 나타나 된장의 인증 규격인 0.3% 이상으로 품질 기준에 적합함을 확인하였다.

pH와 적정산도

Table 1에서 된장의 pH는 숙성 전 6.7 ± 0.1 에서 숙성 후기 36개월에 4.7 ± 0.0 이었다. 총산도는 숙성 전 $3.4 \pm 0.1\%$ 에서 숙성 후기 36개월에 $7.5 \pm 0.0\%$ 로 숙성기간이 길수록 증가하였다($p < 0.01$). pH의 감소와 총산도의 증가는 발효 숙성 중 미생물에 의한 유기산 생성에 기인하였다[27,28].

유리당, 유기산, 지방산과 유리아미노산

Table 1에서 된장의 유리당은 arabinose, glucose와 galactose가 검출되었다. 숙성과정 동안 미생물의 탄소원으로 사용된 유리당은 오탄당인 arabinose가 가장 먼저 소모되어 24개월 이후에는 검출되지 않았다. 육탄당인 glucose와 galactose의 경우에는 대두 탄수화물의 가수분해 및 합성 등으로 함량의 증감이 일정하지 않으나, 된장의 숙성 후기인 36개월 이후에는 검출되지 않

았다($p < 0.01$). 이들 유리당은 미생물의 탄소 영양원 및 된장의 갈색화 반응 등에 참여하여 감소한 것으로 보인다[29]. 유기산의 경우, 숙성 전 된장에서는 fumaric acid와 acetic acid가 검출되었다. malic acid는 숙성 후기인 36개월에 7257.1 ± 111.5 mg/100 g로 높게 나타났고, 36개월에는 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 반면에 lactic acid는 된장 숙성과정 중에 꾸준히 증가하여 숙성 36개월에 27597.2 ± 344.3 mg/100 g으로 나타났다($p < 0.01$). 이는 숙성 후기에는 된장과 관련된 lactic acid fermentation에 의한 lactic acid 생성, 그리고 malo-lactic fermentation으로 일부 malic acid가 lactic acid로 전환된 것으로 보인다. 된장의 주요 유기산은 lactic acid와 malic acid이 대부분을 차지하고 있는 것으로 나타났다. 대두 발효식품에서 lactic acid는 중요한 유기산으로, 한국의 전통 된장 뿐 만 아니라, 일본의 miso, 중국의 sufu 등에서도 주요 유기산으로 보고되었다[30,31]. 또한 Yoon 등은 lactic acid와 malic acid는 된장의 신맛에 영향을 줄 뿐만 아니라 pH를 낮추어 보존성에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다[32]. 지방산 조성에서 주요 불포화지방산인 linoleic acid와 linolenic acid는 숙성 기간 동안 전체 지방산의 60% 이상의 높은 비율을 나타냈다. 된장에서 이들 지방산의 조성은 10년 숙성기간 동안 60% 이상으로 거의 변화가 일어나지 않았으며 이는 된장의 항산화 활성과 관련이 있다고 하였다[7].

Table 2에서 20종의 유리아미노산 함량은 숙성 전 1291.5 ± 28.2 mg/100 g에서 숙성 후기 36개월에 29300.2 ± 169.0 mg/100 g으로 증가하였다($p < 0.01$). 라디칼 소거 아미노산인 cysteine, histidine, methionine, phenylalanine, tyrosine, tryptophane [33]의 함량은 숙성 기간 동안 15배 증가하였고, 필수 아미노산인 valine, leucine, isoleucine, methionine, threonine, lysine, phenylalanine, tryptophane과 histidine의 총 함량도 숙성기간 동안 20배 이상 증가하였다($p < 0.01$).

항산화력

된장의 항산화력은 Table 3에 제시하였다. 된장의 총 페놀 함량은 숙성 전에는 1912.6 ± 32.8 mg/L에서 숙성후기 5179.1 ± 197.3 mg/L으로 증가하였다($p < 0.01$). Kwon 등은 된장의 총 페놀에 의한 항산화 효과는 발효 과정 중 isoflavone의 배당체가 β -glucosidase에 의해 aglycone 형태인 genistein과 daidzei의 함량이 증가하기 때문이라고 시사하였다[34]. ABTS 라디칼 소거력은 숙성 전 $93.4 \pm 0.6\%$ 였고, 숙성 후기 36개월에는 $89.7 \pm 0.1\%$ 으로 감소하였다($p < 0.01$). DPPH 라디칼 소거력, SOD 유사활성, 아질산염 소거력은 숙성 후기에 높게 나타났다. DPPH 라디칼 소거력은 숙성전 $95.1 \pm 0.5\%$ 에서 숙성 후기인 36개월에 $98.8 \pm 1.1\%$ 였고, SOD 유사활성은 $74.4 \pm 1.9\%$ 에서 $86.4 \pm 1.7\%$ 로 나타났다($p < 0.01$). 체내에서 nitrosamine 생성을 억제와 관련된 아질산염 소거력은 pH 1.2 > pH 3.0 > pH 6.0 순으로 pH가 낮을수록 높은 소거력을 나타내었다($p < 0.01$). Lim 등도 *Phyllostachys bambusoides*에서도 아질산염 소거력이 산성에서 높게 나타났음을 시사하였다[21]. 본 연구에서는 총 페놀 함량과 ABTS라디칼 소거력, DPPH 라디칼 소거력, 환원력과 지질과산화억제력은 상관성을 나타내지 않았으나 총 페놀 함량과 SOD 유사활성, 총 페놀 함량과 아질산염 소거력의 상관계수는 각각 0.792와 0.811로 유의성을 나타내었다($p < 0.05$). Chai 등의 연구에서도 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거력의 상관관계를 나타내

Table 1 Proximate compositions and physicochemical properties of *Doenjang*

	<i>Doenjang</i> (Aging period, month)						
	Before aging	Initial phase		Mid phase		Final phase	
		6	12	18	24	30	36
Proximate compositions (%)							
Moisture	58.4±0.1a	54.0±0.1c	55.2±0.1b	47.2±0.2d	40.2±0.2f	43.3±0.2e	38.8±0.3g
Carbohydrate	12.8±1.0d	14.4±1.2c	11.8±1.2e	16.6±0.2b	18.5±0.2a	14.8±0.0c	16.6±0.9b
Crude protein	13.1±0.8c	14.4±1.3b	13.4±1.3c	14.1±0.4b	14.9±0.1a	15.1±0.5a	14.9±0.9a
Crude lipid	1.3±0.1e	1.0±0.1e	2.5±0.1d	3.7±0.1c	3.9±0.2c	6.3±0.2b	8.3±0.3c
Crude ash	14.3±0.0g	16.1±0.0f	17.0±0.0e	18.4±0.1d	22.6±0.1a	20.5±0.2c	21.4±0.1b
Physicochemical properties							
pH	6.7±0.1a	4.9±0.0cb	4.8±0.0e	4.8±0.0d	5.0±0.0b	4.9±0.0cd	4.7±0.0e
Total acidity (%)	3.4±0.1d	6.9±0.6c	8.3±0.7a	7.3±0.5c	7.6±0.0b	7.5±0.0b	7.5±0.0b
Salinity (%)	12.9±0.0e	15.3±0.3d	18.2±1.6c	17.8±0.0c	21.5±0.1a	19.6±0.1b	19.5±0.0b
Free sugars (mg/100 g)							
Galactose	0.39±0.05cA	0.46±0.03cA	0.38±0.04cA	1.58±0.68bA	3.98±1.04aA	ND	ND
Glucose	0.45±0.02bBA	0.26±0.01cB	0.05±0.00dBC	0.53±0.06abB	0.41±0.00bB	ND	ND
Arabinose	0.16±0.02bB	0.05±0.01dC	0.08±0.01cB	0.91±0.00aAB	ND	ND	ND
Total	0.99±0.07c	0.76±0.04c	0.54±0.05c	3.01±0.74b	4.46±1.06a	ND	ND
Organic acids (mg/100 g)							
Citric acid	ND	ND	74.9±1.8bB	ND	ND	ND	ND
Malic acid	ND	ND	ND	ND	ND	7257.1±111.5aA	5807.3±7.4bB
Oxalic acid	ND	ND	ND	53.8±0.0aC	48.7±0.2bD	ND	ND
Succinic acid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Formic acid	ND	ND	ND	169.1±0.5aB	161.5±1.5bB	ND	ND
Lactic acid	ND	ND	451.8±11.2dA	977.6±5.6cA	861.2±4.4cA	22705.5±0.1bB	27597.2±344.3aA
Fumaricacid	29.9±1.2bB	36.6±1.6aB	ND	ND	ND	ND	ND
Acetic acid	148.0±5.2bA	316.4±10.4aA	ND	59.3±0.4cC	66.5±0.1cC	ND	ND
Total	178.0±4.9e	353.0±8.9de	526.7±9.6d	1259.8±5.7c	1137.9±5.8c	29962.5±111.6b	33404.5±351.7a
Fatty acids (peak area %)							
Palmitic acid	14.0±1.5aC	12.5±0.3bC	12.1±0.0bC	13.1±0.2abC	12.6±0.2bC	10.5±0.2cC	11.1±0.1cC
Stearic acid	4.6±0.3aD	4.2±0.1bcD	3.9±0.1cdD	4.3±0.0bD	4.1±0.1bcD	3.4±0.2eD	3.8±0.1dE
Oleic acid	20.0±1.0abB	19.9±0.1bB	20.7±0.1aB	20.4±0.1abB	19.9±0.1bB	18.9±0.3cB	18.7±0.0cB
Linoleic acid	61.0±2.8bA	63.1±0.4aAB	63.2±0.1aA	62.0±0.3abA	63.1±0.4aA	57.2±0.4cA	56.7±0.3cA
Linolenic acid	0.1±0.0cE	0.1±0.0cE	0.1±0.0cE	0.1±0.0cE	0.1±0.0cE	10.1±0.4aC	9.4±0.0bD
Arachidonic acid	0.2±0.0bE	0.2±0.0bE	ND	0.2±0.0bE	0.2±0.0bE	ND	0.4±0.0aF
Total	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0

ND not detected

Values are means ± SD (n=3). Means with different lower case letters (a, b, and c) are significantly different between fermentation periods and with different upper case letters (A, B, and C) are significantly different between compounds by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$

지 않았으나 Phenolic acids인 vanillic acid와 protocatechuic acid는 DPPH 라디칼 소거력과 상관성을 시사하였다[35].

관능검사와 색도

된장의 관능검사는 주관적인 방법인 QDA로 색, 향기, 맛과 관련된 항목을 평가하여 spider map으로 Table 4에 나타냈다. QDA에 의한 된장의 갈색도(brown color)는 숙성 초기 12개월 7.1±1.3에서 숙성 후기에 14.0±0.4로 높아졌다($p < 0.01$). 또한 된장의 색은 객관적인 방법인 Hunter 색차계를 사용하여 측정했다. 숙성기간 동안 된장의 L , a , b 값이 모두 감소하였다($p < 0.01$). 사진으로 제시한 것과 같이 된장의 밝기를 나타내는 L

값은 어두워지고, 적색의 a 값과 노란색의 b 값이 감소하여 이들의 색은 흐려져서, 총체적으로 된장의 색은 어두운 갈색을 나타내었다. Oh 등[36]은 이와 같은 된장 색의 변화는 저장기간 동안 된장의 성분들이 효소적·비효소적 갈색화 반응에 기인한 것이라고 하였다.

된장의 향기 평가에서 캐러멜 향기(caramel flavor)는 숙성 후기에 10.7±1.5로 높아졌다($p < 0.01$). 이런 캐러멜 향기는 마이알 반응에 의해 생성된 휘발성 향기성분으로 pyrazine류, aldehyde류와 furan류 등에 기인한 것이다[26]. 메주 특유의 자귀취를 측정한 콩발효 향기(fermented soybean flavor)는 숙성 전 5.1±1.8에서 숙성 중기 10.0±2.1로 높아졌다($p < 0.01$). 시큼한 발

Table 2 Free amino acids of *Doenjang*

Free amino acids (mg/100g)	Doenjang (Aging period, month)						
	Before aging	Initial phase		Midphase		Final phase	
		6	12	18	24	30	36
Aliphatic amino acids							
Glycine ^b	34.2±2.3fJK	87.4±2.0efHJ	382.8±6.6dH	1072.4±68.6aI	877.9±18.8bEF	762.0±29.2cI	706.8±28.0cIJ
Alanine ^b	77.9±7.4fDE	237.7±6.2eC	973.7±23.7dC	2662.4±88.0aB	2091.5±32.6bB	1960.2±19.5cDE	2143.5±98.0bD
Valine ^c	63.7±4.0gEHG	150.3±3.0fF	700.1±53.9eDE	1533.7±12.4cEF	1195.8±19.1dD	1744.9±9.6bEF	2054.2±102.2aD
Leucine ^c	143.3±13.3fB	304.4±1.9eB	1092.6±28.3dB	3826.2±39.8aA	3084.6±93.4cA	3407.9±34.9bB	3089.4±125.7cB
Isoleucine ^c	74.0±1.8fDEF	170.2±0.6eE	588.9±49.9dFG	1439.8±77.2bFG	1147.4±10.8cDE	1603.6±51.9aEF	1436.4±59.0bEF
Sum	393.0±19.7f	950.0±11.1e	3738.2±154.7d	10534.5±261.2a	8397.2±174.7c	9478.5±67.6b	9430.1±160.9b
Aromatic amino acids							
Tyrosine*	52.2±2.5eGH	81.7±2.2eIJ	81.8±11.9eKL	683.3±22.6cJK	534.5±5.5dGH	1192.3±66.3aGH	1030.1±5.1bHJ
Tryptophane* ^c	43.1±1.3cHIJ	99.0±7.3bH	192.3±49.9aJ	101.6±7.3bN	86.9±0.7bJ	ND	ND
Phenylalanine* ^c	111.8±7.9gC	222.8±5.4fD	649.8±14.1eDEF	1289.9±30.2cH	1025.1±6.4dDE	2275.4±33.9aD	2039.7±97.0bD
Sum	207.1±5.0g	403.6±10.5f	923.9±65.2e	2074.8±60.1c	1646.5±12.5d	3467.7±100.2a	3069.8±102.1b
Hydroxy amino acids							
Threonine ^b	46.3±4.1fHI	117.8±1.6fG	580.3±22.6eFG	1380.6±43.4aGH	1040.8±9.8cDE	1201.2±10.2bGH	769.2±97.6dIJ
Serine ^b	64.7±3.8fEFG	168.9±3.0eE	713.5±16.2dD	1572.9±61.2bE	1245.2±25.8cD	1661.1±133.5abEF	1697.4±26.0aE
Sum	111.0±4.8f	286.7±4.4e	1293.7±38.5d	2953.5±104.5c	2286.0±35.6a	2862.3±143.6a	2466.6±123.5b
Acidic amino acids							
Aspartic acid ^a	58.5±5.2fFGH	69.5±0.3fJK	291.6±14.0eI	652.4±30.5cIKL	476.3±8.8dGHI	1545.7±70.6aFG	1084.4±65.0bGH
Glutamic acid ^a	190.5±7.4fA	399.7±7.9fA	1716.2±62.7eA	3773.0±25.7cA	2895.2±31.4dA	6818.1±462.8aA	6487.2±7.9bA
Asparagine	18.1±1.4eKLM	57.8±0.6dK	313.8±20.2cHI	739.0±23.7aJ	616.8±38.1bFG	45.3±0.4deJ	47.3±0.5deK
Glutamine	16.7±1.4dLM	19.6±1.1dM	143.4±5.3cJK	575.5±22.4aKL	428.2±4.7bGHI	ND	ND
Sum	283.8±6.3f	546.5±9.8f	2465.1±98.3e	5739.9±102.3c	4416.6±83.0d	8409.2±533.7a	7618.9±72.5b
Basic amino acids							
Histidine* ^c	27.1±0.7eJKL	55.7±1.3eK	179.9±4.7dJ	552.4±28.5cL	443.0±21.9cGHI	842.0±4.7aHI	673.7±164.4bJ
Arginine	82.4±5.3eD	56.9±2.0eK	308.7±3.4dHI	672.5±36.6bJK	502.2±18.9cGHI	1201.5±103.4aGH	1303.2±142.7aFG
Lysine	85.1±7.8eD	171.3±3.4eE	621.6±14.3dEF	1954.3±32.8bD	1622.7±98.2cC	2710.0±5.6aC	2039.7±97.0bD
Sum	194.6±4.8f	283.9±4.4f	1110.2±16.7e	3179.2±97.9c	2567.9±139.1d	4753.5±104.3a	4016.6±210.0b
Sulfur-containing amino acids							
Cysteine* ^a	6.8±0.0dM	6.9±0.3Dm	22.6±1.3cL	243.9±15.7aM	196.9±5.1bIJ	ND	ND
Methionine* ^c	17.4±1.5eLM	35.9±1.1eL	164.7±34.5cIK	331.5±17.9aM	282.5±2.1bHIJ	ND	97.9±6.7dK
Sum	24.2±1.5e	42.7±1.4e	187.4±35.5c	575.4±33.6a	479.4±7.2b		97.9±6.7d
Imino amino acid							
Proline ^b	77.8±4.4dDE	222.1±14.0dD	523.5±20.9cG	2405.5±13.6aC	1691.6±414.6bC	1919.0±23.5bDEF	2600.8±73.4aC
Sum	77.8±4.4d	222.1±14.0d	523.5±20.9c	2405.5±13.6a	1691.6±414.6b	1919.0±23.5b	2600.8±73.4a
TOTAL	1291.5±28.2g	2735.5±10.2f	10241.9±415.3e	27462.8±673.1c	21485.3±866.7d	30890.2±972.9a	29300.6±169.0b
RSA*	258.4±4.0g	502.0±8.1f	1291.2±104.4e	3202.6±122.1c	2568.9±41.6d	4309.7±95.5a	3790.0±158.0b

ND not detected. Values are means ± SD (n=3). Means with different lower case letters (a, b, and c) are significantly different between fermentation periods and with different upper case letters (A, B, and C) are significantly different between amino acids by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$

*RSA (Radical scavenging amino acids): adapted from Elias et al. (2008)

^aUmami, ^bSweetness, ^cSourness: adapted from Yang et al. (1992) and Lee et al. (2003)

Table 3 Antioxidant capacities of *Doenjang*

	<i>Doenjang</i> (Aging period, month)						
	Before aging	Initial phase		Midphase		Final phase	
		6	12	18	24	30	36
Total phenolic content (mg/L)	1912.6±32.8d	2185.9±14.8d	8992.2±276.5a	5597.3±166.9b	5203.3±186.4c	5767.0±81.5b	5179.1±197.3c
ABTS Radical scavenging capacity (%)	93.4±0.6b	93.5±0.1b	94.0±0.4a	89.5±0.1c	89.6±0.0c	89.7±0.1c	89.7±0.1c
DPPH Radical scavenging capacity (%)	95.1±0.5d	99.3±0.2a	96.1±0.1cd	96.5±0.6bc	97.4±0.7b	99.4±0.5a	98.8±1.1a
Reducing power (%)	1.2±0.2b	1.3±0.0a	1.3±0.1a	0.9±0.0c	0.9±0.0c	0.9±0.0c	0.9±0.0c
Lipid peroxidation inhibition (%)	94.3±1.1b	93.9±0.4bc	95.3±0.3a	94.2±0.1b	93.6±0.1bc	93.2±0.1c	93.9±0.1bc
SOD-like activity (%)	74.4±1.9c	77.7±5.0c	85.6±1.6b	84.6±2.0b	91.8±3.2a	87.1±3.5ab	86.4±1.7a
Nitrite scavenging capacity (%)							
pH 1.2	82.3±4.5b	98.3±0.3a	97.1±0.2a	97.0±0.2a	97.3±0.1a	97.4±0.1a	97.5±0.1a
pH 3.0	74.6±1.1e	87.6±2.1d	97.3±1.2a	95.8±0.0ab	92.2±0.2c	94.4±0.1b	95.2±0.3b
pH 6.0	40.1±3.7b	43.9±3.6a	46.1±1.0a	9.3±0.1d	13.3±0.2c	12.1±0.2cd	11.2±0.3cd

Values are means ± SD (n = 3). Means with different (a, b, and c) are significantly different between fermentation periods by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$

Table 4 Spider map of *Doenjang* showing by quantitative descriptive analysis and Hunter value

	Aging period (month)			
	Before aging	Initial phase	Midphase	Final phase
		12	24	36
Quantitative Descriptive Analysis				
Hunter Value	 L: 32.8±0.0 a a: 6.8±0.0 b b: 12.9±0.0 b	 L: 29.2±0.0 b a: 8.9±0.0 a b: 13.9±0.0 a	 L: 15.8±0.8 c a: 5.7±0.8 c b: 5.6±0.3 c	 L: 16.0±0.5 c a: 5.2±0.6 cd b: 5.8±0.3 c

Each value was expressed as means±sdof triplicates. Different letters (a, b, and c) are significantly different between sample by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$

Fig. 1 Acceptance of *Doenjang*. Data ($n=12$) are presented in a box. The gray bars represent the 25th to 75th percentiles. Center horizontal solid line and dotted line indicate median and mean. The closed dot represents outliers. Whiskers show the range of the observed values that fell within 1.5 times the interquartile range. Different letters (a, b, and c) are significantly different between samples by Duncan's multiple range test at $p < 0.01$.

호 향기를 측정하기 위한 치즈 향기(cheese flavor)는 숙성 중기 이후부터 9.1 ± 1.8 로 높게 나타났다($p < 0.01$).

된장의 맛에 대한 평가에서 단맛은 숙성 전 1.2 ± 0.7 에서 지속적으로 높아져서 숙성 후기에 6.0 ± 1.5 의 높은 값으로 평가되었다($p < 0.01$). Sousa 등[37]은 단맛의 경우에는 대두의 탄수화물이 당화효소의 가수분해로 생성된 당분과 단맛을 가진 아미노산인 glycine, alanine, serine, lysine, proline, threonine 등의 증가하여 생성된 것이라고 하였다. 신맛도 숙성 전 2.4 ± 1.5 에서 숙성 후기에 9.4 ± 2.3 로 높아졌다($p < 0.01$). 이는 Table 2의 유기산 분석에서도 숙성 후기에 lactic acid, malic acid가 증가한 것을 확인할 수 있었다. Park 등[38]은 된장의 신맛은 젖산균에 의해 생성된 lactic acid, malic acid 등의 유기산에 의한 영향이라고 하였다. 짠맛은 숙성 전 10.9 ± 2.0 에서 숙성 후기에 8.5 ± 1.5 로 감소하는 경향을 보였으며, 감칠맛은 숙성 기간 동안 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다($p < 0.01$).

Fig. 1은 된장의 기호도를 상자모양으로 나타냈다[37]. 기호도는 된장의 숙성기간이 길어질수록 높아졌고, 숙성 후기에는 기호도의 분포가 좁아졌다($p < 0.01$). 이는 된장의 기호도는 숙성 후기에 선호도가 높고, 관능검사자 개인 별 기호도의 차이에 의한 오차가 크지 않다는 것을 뒷받침해 주고 있다. 기호도와 갈색도, 콩발효 향기, 치즈 향기, 캐러멜 향기, 단맛, 신맛, 감칠맛 등의 모든 관능 평가 결과와 숙성 기간은 높은 양의 상관관계를 보였다($p < 0.01$). 된장에 기호도를 예측하는 맛 성분 반응 변수에 관한 선행 연구에서 Park 등[40]은 단맛과 쓴맛이, Byun 등[41]은 pH와 짠맛이 된장의 기호도에 영향을 미치는 것으로 보고 된 바가 있으나, 본 연구의 다중회귀분석 결과에서는 감칠맛과 갈색도가 기호도에 가장 큰 영향을 주는 요인으로 나타났다. 숙성 초기에는 된장의 짠맛이 강하지만 숙성이 진행됨에 따라 짠맛을 제외한 다른 관능적인 항목의 값이 증가하여 최종적으로는 맛의 균형이 조화로워진다. Table 3의 유리 아미노산 분석에서도 감칠맛과 관련된 glutamic acid, cysteine이 숙성기

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) score plot (A) and loading plot (B) of *Doenjang*. The variables consist of proximate composition, physicochemical properties and antioxidant capacity. Cluster 1: D0 (Before aging), D6 (6 months aging), D12 (12 months aging); Cluster 2: D 18 (18 months aging), D 24 (24 months aging); Cluster 3: D 30 (30 months aging), D36 (36 months aging)

간 동안 증가하는 것을 확인할 수 있다. 특히 감칠맛과 갈색이 된장의 기호도에 가장 큰 영향을 주는 요인으로 나타났다($p < 0.01$). 본 연구에서 숙성초기에는 된장의 향기와 관련된 항목인 콩발효 향기, 치즈 향기, 캐러멜 향기에서 유의적인 변화를 보였고, 숙성 중기에는 된장의 색과 맛을 평가한 항목인 갈색도, 단맛, 신맛, 감칠맛에서 유의적인 차를 나타냈다. 이와 같은 된장의 색, 향기와 맛의 조화가 완성되는 숙성 중기인 24개월이 관능적으로 섭취하기 가장 적합한 시기로 나타났다.

주성분 분석과 k-means cluster analysis

된장의 이화학적 성분과 항산화력의 데이터를 기반으로 한 PCA와 k-means clustering 결과를 Fig. 2에 제시하였다. 데이터의 전체 변동은 숙성 기간을 설명하는 PC1이 51.6%였고, 된장의 구성성분의 변화가 어느 시기에 높은지 설명하는 PC2는 22.3%로 분석되었다. Fig. 2의 score plot (A)에서 k-means는 숙성 0-12개월이 제1사분면과 제3사분면에 걸쳐 위치하는 cluster 1, 숙성 18-24개월이 2사분면에 위치하는 cluster 2, 30-36개월이 제4사분면에 위치하는 cluster 3의 세 개 그룹으로 구분되었다.

Fig. 2의 score plot (A)의 cluster를 loading plot (B)에 대응하여 숙성기간 별 된장의 품질 특성의 요인들을 확인하였다. 먼저 제1사분면과 제3사분면에 걸쳐 위치하는 된장의 cluster 1은 숙성 초기인 0-12개월 된장으로 수분, pH, ABTS 라디칼 소거력과 환원력이 분포되었다. 다음으로 제2사분면에 있는 숙성 중기 18-24개월의 cluster 2에서는 라디칼 소거 아미노산인 cysteine, glutamic acid, tryptophane, 그리고 된장의 맛과 관련된 galactose, glucose, arabinose 와 총산도 등이 분포되었다. Kang 등[42]은 일반적으로 발효 과정 중 된장의 아미노산의 함량이 높을수록 된장은 품질과 맛이 뛰어나다고 평가하는 경향이 있다고 하였다. 숙성 중기에는 감칠맛이 10점으로 가장 높은 평가를 나타냈고, 신맛과 향기 항목의 평가에서 9점 이상의 높은 점수를 Table 4의 QDA 관능검사에서 확인할 수 있다. 이는 숙성 18개월에 된장의 맛이 좋아지기 시작하여 숙성 중기인 24개월에는 된장의 색, 향기와 맛의 조화가 완성되는 시기로 섭취하기 가장 적합한 시기라는 것을 알 수 있다. 마지막으로 제4사분면에 있는 숙성 후기 30-36개월의 cluster 3은 aspartic acid, glycine, valine 등의 아미노산, 그리고 맛과 저장에 영향을 미치는 lactic acid, malic acid가 분포되었다. Table 2의 아미노산 분석에서 이들 아미노산들은 숙성 기간 동안 계속적으로 증가하여 숙성 후기에는 높은 함량을 나타냈다. Table 1의 유기산 분석에서 lactic acid, malic acid의 함량이 36개월에 33404.5 mg/100 g으로 증가했다. 그리고 관능검사에서 감칠맛, 신맛, 향기 항목 등에서 10점 이상의 높은 평가 점수를 보였다. 숙성 후기인 제4사분면에서는 관능적 측면 이외에도 건강기능성과 관련된 총 페놀 함량, SOD 유사활성, DPPH 라디칼 소거력, 라디칼 소거 아미노산인 tyrosine, phenylalanine, histidine, aspartic acid 요인들이 분포되어 있다. 이상의 주성분 분석과 k-means clustering의 종합적인 결과를 보면 숙성 중기인 24개월에는 된장의 색, 향기와 맛의 조화가 완성되는 시기로 섭취하기 가장 적합한 시기라는 것을 알 수 있다. 그리고 된장의 맛과 건강 기능적 측면을 동시에 고려한다면 숙성 30개월 이후가 된장의 최적 섭취 시기라고 할 수 있다. 본 연구에서 한국 전통 된장을 제조하여 3년 동안 자연조건에서 저장하면서 관능적인 요인과 건강기능성 요인들을 관찰하였다. 본 실험에서 도출하지 못한 한계를 가진 부분과 3년 이상 숙성한 한국 전통 된장에 관한 연구는 차후의 연구과제로 남기고자 한다.

초 록

된장의 최적 섭취 기간을 판단하기 위해 원료 대두로부터 3년 동안 발효 숙성 하면서 6개월 단위로 시료를 채취하여 분석하였다. 이화학적 분석, 항산화력과 관능 검사를 주성분분석과 k-평균 군집 분석하여 종합적인 품질 특성을 평가하였다. 된장의 품질 특성은 PCA에 의해 1년 간격으로 큰 변화가 확인되었고, 군집 분석에 의해 숙성 기간에 따라 각각 cluster 1, 2, 3의 군집으로 분류되었다. 건강기능성과 관련된 항산화력으로 총 페놀 함량, SOD 유사활성, DPPH 라디칼 소거 능력은 cluster 3에서 높았다. Cluster 3에서는 맛과 관련된 관능 평가 항목과 유리아미노산, 유기산 등도 높게 나타났다. 기호도 평가도 cluster 3에서 높게 나타났고 기호도에 가장 큰 영향을 준 관능 항목 요인

은 감칠맛과 갈색이었다. 따라서 된장은 숙성 12개월 이후부터 섭취 가능하지만 된장의 맛과 건강 기능적 측면을 동시에 고려한다면 숙성 30개월 이후가 된장의 최적 섭취 시기라고 할 수 있다.

Keywords 관능평가 · 된장 · 품질특성 · 항산화력

감사의 글 이 논문은 2017년도 가톨릭대학교 교내연구비 지원으로 수행된 연구입니다.

References

1. Yoon DI (2007) Study on the Asian fermented soybean sauce culture. *Asian Comp Folk Soci* 34: 155–215
2. Lim SY, Rhee SH, Park KY (2005) Effect of solvent fractions from methanol extract of *Doenjang* on inhibition of growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J Life Sci* 15: 685–691
3. Lee SM, Chang HC (2009) Growth-inhibitory effect of the solar salt-*Doenjang* on cancer cells, AGS and HT-29. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1664–1671
4. Jung KO, Park SY, Park KY (2006) Longer aging time increase the anticancer and antimetastatic properties of *Doenjang*. *Nutrition* 22: 539–545
5. Roh CH, Lee SJ, Nasir Uddin SM, Kim JK, Kan CK (2015) Characterization of antiobesity compounds from soybean paste. *Eur Food Res Technol* 240: 865–869
6. Park KY, Jung KO (2005) Fermented soybean products as functional foods: functional properties of *Doenjang* (fermented soybean paste). In: Shi J, Ho CT, and Shahidi F (ed) *Asian Functional Foods*, CRC Press, Boca Raton
7. Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Choi KK, Kim HK, Yang H, Lee KW (2011) Changes in contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean *Doenjang* by ripening periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 557–564
8. Oh SJ, Lee HJ, Lee SJ, Chung SH, Nak JS (2014) Evaluation of Quality Characteristics and Antioxidant Activities from *Doenjang* Ripened for 30 Years. *J of Agri & Life Sci* 48: 265–283
9. Ku KK, Park KM, Kim HJ, Kim YS, Koo MS (2014) Quality characteristics of *Doenjang* by aging period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 720–728
10. Tian T, Jun-rui WU, Xi-qing YUE (2014) Study on the texture change and correlation of soybean paste during natural fermentation. *Food and Fermentation Industries* 40: 27–31
11. Lee SM, Lee S, Singh D, Oh JY, Jeon EJ, Ryu HS, Lee DW, Kim BS, Lee CH (2017) Comparative evaluation of microbial diversity and metabolite profiles in *Doenjang*, a fermented soybean paste, during the two different industrial manufacturing processes. *Food chem* 221: 1578–1586
12. Park KY, Hwang KM, Jung KO, Lee KB (2002) 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
13. Ministry of food and drug safety (MFDS) (2012) Korean food standards codex, CheongJu
14. Chang M, Kim IC, Chang HC (2010) Effect of solar salt on the quality characteristics of *Doenjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 116–124
15. Do YS, Whang HJ, Ku JE, Yoon KR (2005) Organic acids content of the selected Korean Apple Cultivars. *Korean J Food Sci Technol* 37: 922–927
16. Kang YH, Park YK, Lee GD (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28:

- 232–239
17. Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, Nury FS (1990) Production wine analysis. Van Nostrand Reinhold, New York
 18. Verzelloni E, Tagliazucchi D, Conte A (2007) Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. *Food Chem* 105: 564–571
 19. Xu Q, Tao W, Ao Z (2007) Antioxidant activity of vinegar melanoidins. *Food Chem* 102: 841–849
 20. Zin ZM, Abdul-Hamid A, Osman A (2002) Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Food Chem* 78: 227–231
 21. Lim JA, Na YS, Beak SH (2004) Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of ethanol extract from *Phyllostachys bambusoides*. *Korean J Food Sci Technol* 36: 306–310
 22. Choi JH, Kwon SH, Lee SW, Nam SH, Choi SD, Park SK (2003) Quality properties of capsule type Meju prepared with *Aspergillus oryzae*. *Korean Journal of Food Preservation*. 10: 339–346
 23. Park GS, An SH, Choi KH, Jeoung JS, Park CS, Choi MA (2003) Preparation of the functional beverages by fermentation and its sensory characteristics. *Korean J Soc Food Sci* 16: 663–669
 24. Hutchings JS (1994) Instrumental specification. In *Food Color and Appearance*. Blackie Academic & Professional, Bedford
 25. Lawless HT, Heymann H (1998) Sensory evaluation of food (Principles and practices): Data relationships and multivariate applications. Aspen Publishers Inc., New York
 26. Kim HK (2010) Sensory characteristics and consumer acceptability of fermented soybean paste (*Doenjang*) products. Dissertation, Ewha Womans University
 27. Kwak EJ, Park WS, Lim SI (2003) Color and quality properties of *Doenjang* added with citric acid and phytic acid. *Korean J Food Sci Technol* 35(3): 455–460
 28. No JD, Lee DH, Lee DH, Choi SY, Kim NM, Lee JS (2006) Changes of Quality and Physiological Functionality during the Fermentation of *Doenjang* Made by Isolated Nuruk Mold and Commercial Nuruk Mold. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35(8): 1025–1030
 29. Lee JS, Kwon SJ, Chung SW, Choi YJ, Yo JY, Chung DH (1996) Changes of microorganisms, enzyme activities and major components during the fermentation of Korean traditional *Doenjang* and *Kochujang*. *J Korea Appl Microbiol Biotechnol* 24: 247–253
 30. Oh GS, Kang KJ, Hong YP, An YS, Lee HM (2003) Distribution of organic acids in traditional and modified fermented foods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1177–1185
 31. Chung HY, Fung PK, Kim JS (2005) Aroma impact components in commercial plain sufu. *J Agr Food Chem* 53: 1684–1691
 32. Yoon WJ, Lee SW, Moon HK, Moon JN, Kim BG, Kim BJ, Kim GY (2011) Quality characteristics of traditional Soybean Paste (*Doenjang*) manufactured with mixed beans. *J East Asian Soc Dietary Life* 21: 375–384
 33. Elias RJ, Kellerby SS, Decker EA (2008) Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48: 430–441
 34. Kwon SH, Shon MY (2004) Antioxidant and anticarcinogenic effects of traditional *Doenjang* during maturation periods. *Korean J Food Preserv* 11: 461–467
 35. Chai C, Ju HK, Kim SC, Park JH, Lim JH, Kwon SW, Lee JM (2012) Determination of bioactive compounds in fermented soybean products using GC/MS and further investigation of correlation of their bioactivities. *J Chromatogr B Analyst Technol Biomed Life Sci* 880: 42–49
 36. Oh HJ, Kim CS (2007) Antioxidant and Nitrite Scavenging Ability of Fermented Soybean Foods (*Chungkukjang*, *Doenjang*). *Korean Soc Food Sci Nutr*. 36: 1503–1510
 37. Sousa MJ, Ardo Y, Mcsweeney PLH (2001) Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11: 327–345
 38. Park SK, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH (2000) Quality characteristics of home-made *Doenjang*, a traditional Korean soybean paste. *Korean J Soc Food Sci* 16: 121–127
 39. Larsen RD (1985) Box-and-whisker plots. *J Chem Educ* 62: 302–312
 40. Park HK, Kim JK (2008) Optimal manufacturing conditions for Korean soybean paste and soy sauce, using *Aspergillus oryzae* AJ 100 as a flavor improver. *Food Soc Biotechnol* 17: 208–211
 41. Byun MW, Nam TG, Lee GH (2015) Physicochemical and sensory characteristics of *Doenjang* made with various concentrations of salt solution. *J Korean Soc Food Sci Nut* 44: 1525–1530
 42. Kang HJ, Kim JH, Kim RR, Kim KS, Hong SP (2016) Quality characteristics and composition profile of Traditional *Doenjang* and Manufactured *Doenjang* during storage time. *Korean J Food Nut* 29: 785–794