

청국장에 관한 연구(I)

청국장 제조과정에 있어서 콩단백질의 변화에 관하여

李啓瑚 · 李孝枝 · 鄭文教*

서울대학교 농과대학 · 예산 농업전문학교*

(1971. 12. 1. 수리)

Studies on Chung-Kook-Jang (Part I)

—On the changes of soy-bean protein in manufacturing Chung-Kook-Jang—

Ke Ho Lee, Hyo Ji Lee, Moon Kyo Chung*

College of Agriculture, Seoul National University. Yesan Agricultural Professional School

(Received Dec. 1, 1971)

SUMMARY

As a series on the soy-bean protein and their related substances 9 samples were collected from 9 places such as straws (Rice) to obtain bacterial strains which produce protease. From these samples total of 23 strains were isolated by the use of dilution pour plate method.

For all isolated strains primary screening of productivity of protease was performed and useful strains with regard to protease productivities were identified.

Optimum conditions for enzyme action of protease from isolates D₉, F₂₀ strains were pH 7.5 and 40°C.

Chung-Kook-Jang is one of the characteristic foods in Korea made from soy-bean by fermentation. The chief bacterium is *Bacillus subtilis* and the chief change which takes place in soy-bean during fermentation is degradation of protein.

Three kinds of Chung-Kook-Jang were prepared using three different strains of *Bacillus natto*, D₉ and F₂₀ from isolated. Water soluble-N, TCA soluble-N, amino-N and peptide-N were measured about the steamed soybean, Chung-Kook-Jang prepared with three strains of bacteria. Water soluble-N decreased very largely in steamed soybean, but in Chung-Kook-Jang it increased to 85% of raw soy-bean.

I. 緒 論

우리나라를 비롯하여 동양여러나라는 고래로 동물성 단백질보다는 식물성단백질인 콩을 가공하여 단백질 급원 식품으로 하여 왔다.

콩은 그 조직이 견고하고 단백질소화흡수를 저해하는 trypsin inhibitor와 적혈구 응집소인 hemagglutinin 등이 함유되어 있어서 이것들을 가열처리, 기타 여러 가공방법에 따라서 용이하게 파괴시켜 각 민족의 기호에 맞는 독특한 콩가공식품들이 제조되어 식용화하고 있다. 우리나라는 옛부터 장류를 제조하였던바 장류중 된장, 고추장, 간장, 청국장은 주요한 조미료이며 부식이기도 하며 각종 필수 amino 산이 고르게 함유되어⁽¹⁷⁾ 그 영양학적 가치와 식품학적 견지에서 기호성으로서 불가결한 존재임은 주지의 사실이다. 장류의 고유한 맛은 소금에서 오는 짠맛 탄수화물의 가수분해산물인 당에서 오는 단맛, 단백질의 가수분해산물인 amino 산에서 오는 구수한 맛 그리고 고추장은 고추에서 오는 매운맛들의 조화에서 오는 것이다. 맛과 영양이 좋은 품질이 우수한 장류는 그들의 원료들이 강력한 효소에 의하여 가수분해가 잘 되어야 함으로 장류제조에서 가장 중요한 것은 protease 또한 amylase를 강력히 생성하는 특유한 미생물⁽¹⁸⁾들에 의하여 제조되어야 하는 것이다.

간장, 된장, 고추장 제조에서는 장기간 숙성의 대두 발효 식품인 것으로 국내외에서 수백편의 연구보고가 되어 있고 그 제조과정에서 공헌하고 있는 곰팡이종류, 효모종류, 세균등 수십내지 수백종의 미생물들에 의하여 수개월 내지 수십개월간에 이루어지고 있어 품질에 여러가지 factor가 있음이 알려지고 있다.

청국장의 유래를 보면 1715년 洪萬選著⁽¹⁾ 山林經濟中の 煎鼓醬法에 戰國醬이라는 명칭을 쓰고 그 제조 방법이 소개되어 있다. 戰時副食으로서 短期熟成의 이점이 필요하였기 때문에 시급히 요청될때 단기간에 제조할 수 있으므로 戰國醬이란 용어를 사용한것 같이 추정되며 당시의 戰國醬이 淸나라로부터 전래 되었다는 의미에서 현세에 이르러 청국장이라 한것이 아닌가 추측된다. 그 제조 방법은 간단하여 삶은콩을 벗질이나 멍석등으로 써서 따뜻한 방에서 수십시간 발효하여 점질물질에 의한 실이 발생할 정도에 이르러면 加鹽調味하고 마쇄하여 식용케 하였다.

그런데 우리나라에서 청국장에 대한 연구로는

일본 natto 균을 이용한 몇가지 단편적인 보고⁽⁷⁻⁹⁾가 있거나 또 *Bac. subtilis*¹⁰⁾에 의하여 단기숙성으로 이루어지는 것이라 보고 하고 있을 뿐이다.

일본의 natto¹²⁻¹⁶⁾는 순수하게 분리 배양된 *Bac. natto*인 세균을 삶은콩에 접종하여 일정한 온도에서 일정기간 발효시켜 그대로 식용하고 있는 것이다. 우리나라의 청국장은 삶은콩을 시루속의 벗질 위에 넣고 또 다시 벗질로 덮고 그 시루채 따뜻한 방에서 48시간 내외로 단기간 발효숙성시켜 加鹽 마쇄한후 각종 향신료를 첨가하고 가열조리하여 식용하는 자가용 방법인 것인데 독특한 맛과 정취를 갖는다. 그러나 자가용 방법으로 제조되는 현재의 우리나라 청국장은 각지방, 또는 제조한 집집마다 일정하지 못한 것을 알수 있는데 이 까닭은 starter 격인 벗질에 부착되고 있는 枯草菌의 종류에 따라 달라지는 것이라고 생각된다. 즉 벗질에 protease 활성이 강력한 枯草菌이 많이 있는 벗질로 담글때는 청국장 맛이 좋을 것이고 벗질에 protease 활성이 강력하지 못한 균만이 있는 벗질로 담글때는 청국장 맛은 나빠질뿐만 아니라 부패변질하게도 되는 것이라고 생각된다.

이상과 같이 구태의연한 원시적인 자가용 방법은 후진성을 번키 어려운 것이다. 현재 우리나라의 식품과학의 발전이 절실히 요청되고 있는 이때 획일적인 일정한 제품으로 품질이 우수한 청국장을 제조하기 위하여는 생물화학적 방법을 모색하는 기초적 연구가 앞서 이루어져야 한다고 믿고 본인은 청국장 제조에서 가장 중요한 protease 활성이 우수한 세균을 탐색하고 그 균의 특성을 검토하여 균이 생산하는 protease의 작용특성을 구명하여야 하기 때문에 전국 9개도에서 각각 벗질을 수집하여 protease 생산 세균을 순수분리하는 분리근원으로 하였으며 수집된 각 벗질에서 세균을 분리하여 protease 생산능을 screening 하여 protease 생산능이 강력한 우수세균을 선별하였다. 우수 균주에 의하여 청국장 제조방법을 개선하기 위한 최적조건을 검토한다는 청국장 제조과정에 있어서 단백질 및 그 밖에 질소의 소장을 검토한바 흥미있는 결과들을 얻었으므로 여기 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 재 료

a) 벗질: 전국 각도마다 (A:제주, B:경남, C:경북, D:전남, E:전북, F:충남, G:충

북, H: 강원, I: 경기) 1개 처씩 9개 지역을 선정하고 1970년산 볏짚을 수집하여 protease 생산 세균의 분리 근원으로 하였으며 볏짚의 길이에서 상중, 하부위 마다 3~4cm 길이로 절단한 다음 상, 중, 하 세부위의 것들을 서로 혼합시켜 이것을 삶은 콩에 starter 로 접종하여 청국장을 발효시키게 하였다.

b) 콩: 본 시료용 콩은 1970년산 장려품종인 장단백목을 농촌진흥청에서 분양 받았으며 이것은 단백질 함량이 다른 품종보다 높은 이점이 있다.

c) 공시용 대조균주로서 *Bac. natto* IAM 1017 를 서울대 농대 식품공학과에서 분양 받음.

2. 실험

실험 1. Protease 생산균주의 분리

a) 균분리 시료용 청국장 조제

콩을 18°C 물에서 16시간 담그었다 소쿠리에 옮겨 물기를 빼고 1 beaker (100ml용)씩 취하여 면진된 1L용 Fernbach flask 에 넣고 autoclave 에서 121°C, 100 분간 가압 증열살균하여 콩을 삶고 여기에 starter 격인 준비된 볏짚을 첨가하여 잘 혼합시킨 후 37°C incubator 에서 정지 배양을 72 시간 하여 발효숙성시키면서 24, 36, 48시간 경과시마씩 꺼내어 여기에 saline 60ml를 가하여 마쇄한후다 20g 냉장고에서 2시간 효소를 침출시키고 원심

분리한 후 그 상등액을 조효소액으로 하여 protease-활성 screening하여 protease생산 세균분리용 시료 청국장으로 조제하였다.

b) Protease 활성 1차 Screening

지역별 볏짚으로 제조한 청국장에서 protease 활성이 강력한 것을 선정하여 protease 생산균주를 쉽게 순수분리할 수 있으므로 우선 볏짚으로 제조된 청국장의 protease 활성을 비교하였다. 실험 1, a)에서의 24, 48, 72 시간간 때 취하여 조제한 조효소액을 가지고 protease력 측정은 modified Fuld-Gross method¹⁷⁾에 의하여 시행하였으며 기질은 buffered 0.2% casein solutin(Mc. Ilvaine buffer PH 7.0)을 사용하였다.

시험관(12×120)10개에 Mc. Ilvaine buffer soln. 1ml씩 분주한후 No.1 tube에 enzyme soln. 1ml를 넣고 pipette로 혼합 희석한 다음 혼합액 1ml를 취하여 No.2 tube에 옮기고 혼합 희석하여 상기한바 같은 조작으로 No.10 tube까지 완료한 다음 40°C waterbath에 넣고 0.2% casein soln.(기질) 1ml씩 가하여 30분간 digestion한 다음 꺼내서 ice bath속에서 ppt reagent 0.11M CCl₃COOH, 0.22M CH₃COONa, 0.33M CH₃COOH mix.)를 dropping 할때 白濁生成 여부로서 확인하였다. (표 1)

Table 1. Protease activity by modified Fuld-Gross method

tube No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dilution ratio	1:4	1:6	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
Enzyme soln. content. ml./tube	0.25	0.125	0.0625	0.0313	0.0156	0.0078	0.0039	0.0019	0.001	0.0005
Activity unit*	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048

* Activity는 Enzyme solution 1ml가 casein 1mg를 분해 할 수 있는 황성도를 protease activity unit. 1로 표시하였다.

c) Protease 생산세균의 순수분리

볶짚으로 제조한 청국장 중에서 protease 활성이 강력한 것을 선정하여 saline에 의하여 10 진법으로 희석한 다음, 세균분리배지는 buffered 0.2% casein agar를 사용하고 dilution pour plate method로서 37°C에서 30시간 배양한 다음 독립 colony가 돌아난 것들을 Replica method로서 다른 petri dish에 printing 하고 배양된 petri dish에 0.4 MTCA soln.을 주가한 다음 투명부위의 직경크기로 비교하여 protease 활성이 우수한 세균의 colony만을 printing 되었던 petri dish에서 순수분리 하였다.

실험 2. 순수분리된 균주에 의한 청국장 제조 및 2차 Screening

a) Protease 생산세균에 의한 청국장 제조. Protease 활성이 강력하여 순수분리된 균주를 TGY media¹⁷⁾에서 37°C에서 24 시간 배양한 배양액 (turbidity 0.08, 450m/μ) 1ml를 실험 1. a)에서같이 증열살균된 콩에 각각 starter 로 접종 면진하여 37°C에서 72시간 발효숙성시키고 꺼내서 진기한바와 같이 처리한 조효소로서 Folin method¹⁸⁾에 의한 Protease 활성을 비교케 하였다.

b) Protease 활성 2차 Screening

순수분리된 세균에 의하여 제조된 청국장의 protease 활성을 2차 screening하기 위하여 청국장을 마쇄, 원심분리한 상등액을 조효소액으로 하고 기질조제는 萩原¹⁸⁾ 방법에 따라 N.B.C 계의 milk casin 5g을 McIlvain buffer(PH7.0) 250ml에 녹여 2% casein 용액으로 하였다. protease 측정은 기질액 2ml에 효소액 1ml 가하여 40°C water bath에서 30분간 반응시킨 다음 0.1M TCA 5ml를 가하고 35°C에서 20분간 방치하여 protease를 실험케 하고 제단백 한 상등액 1ml와 0.4M Na₂CO₃ 5ml와 1ml의 Folin phenol reagent¹⁹⁾을 가하여 35°C water bath에서 25분간 작용시킨 후 실온으로 한 다음 Spectronic 20 spectrophotometer로서 620m/μ에서 optical density (O.D)를 측정하고 blank 값을 뺀 효소 작용액의 O.D를 standard curve에서 tyrosine(μg/ml)으로 환산하여 protease 활성으로 표시하였다.

c) 선정된 우수균주의 Protease의 작용 최적조건 검토.

우수균주가 생성한 protease optimum pH를 검토하고자 효소기질의 pH를 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10으로 조정하여 활성을 비교하고 optimum

temperature를 검토하고자 효소작용온도를 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90°C로 조정하여 비교하고 아울러서 pH 안전성과 열에 대한 안전성에 대하여도 검토하였다.

실험 3. 최우수 균주에 의한 청국장 제조 과정에서 질소의소장 검토

Protease 활성 2차 screening에서 선정된 우수균주와 control 균주인 *Bac. natto*균과를 발효균주로 하고 청국장 제조과정중 배양개시후 24, 36, 48, 60시간인때 sampling하여 protease 활성을 측정 비교하고 원료인 삶은콩과 우수균주로 제조된 청국장을 Fig. 1의 방법에 의하여 시료를 처리하여 각 형태별 질소 성분을 측정하였다. 총질소, 비수용성질소는 semi-micro-kjeldahl법, trichloro acetic acid (TCA) 가용성질소는 micro kjeldahl법, amino태질소는 Folin phenol법으로 정량하고 ammonia태질소는 Nessler reagent에 의하여 정량하였다.

수용성질소는 수용성단백태질소와 TCA 가용성질소의 합한 값, peptide태질소는 염산 가수분해 후의 amino태질소에서 염산분해전의 amino태질소를 뺀 값, 잔여질소는 TCA 가용성질소에서 amino태질소와 peptide태질소를 뺀값으로 표시하였다.

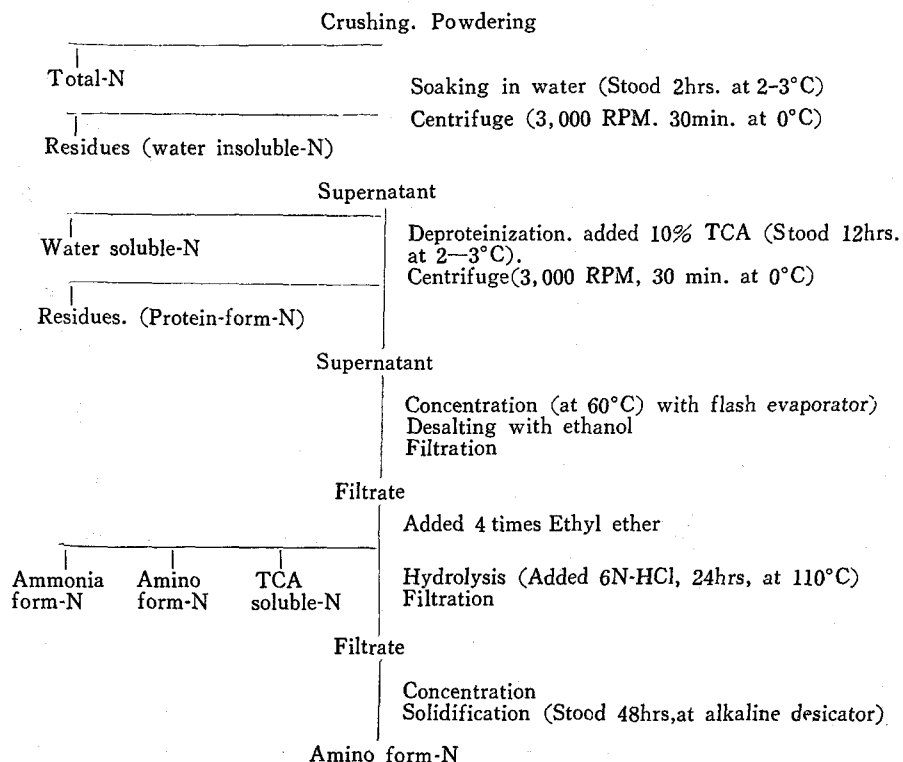


Fig. 1. Preparation of sample for determination in various nitrogen form on Chung-Kook-Jang

Ⅲ. 結果 및 考察

청국장제조에서 가장 중요한 protease 활성이 강력한 세균을 분리하고자 실험 1. a, b에서 같이 각지방의 도별로 수집한 볏짚을 증균 starter격으

로 하여 청국장을 조제하고 이들에 대하여 속성과 정중 경시적으로 protease 활성을 측정한다 Table 2에서와 같은 결과를 얻었다. 청국장 제조과정중 48시간 경과했을때 전남, 충남, 강원 등 3개소에 서 수집된 볏짚으로 된 청국장이 protease 활성이

Table 2. Protease activity of straw added crude Chung-Kook-Jang

	Protease activity*			Odor
	24 hrs.	36 hrs.	48 hrs.	
A. Che-Ju	32	64	128	same as meju
B. Kyung-Nam	32	64	128	same as meju
C. Kyung-Pook	<32	<64	64	same as meju
D. Chun-Nam	32	128	256	same as meju & NH ₃
E. Chun-Pook	<16	<64	64	same as meju
F. Choong-Nam	32	128	256	same as meju & NH ₃
G. Choong-Pook	<32	64	128	same as meju
H. Kang-Won	32	<128	256	same as meju & NH ₃
I. Kyung-Ki	<16	64	64	same as meju

* Protease activity is Fuld-Gross Unit.

Table 3. Protease activity of Chung-Kook-Jang from isolated strains

Origine	No. of isolates	Protease activity (age:36hrs)		Odor
		Clear zone by 0.4 M TCA (mm)	Fuld-Gross Unit	
Chun-Nam straw	D ₁	12~14	—	—
	D ₂	15~17	128~<256	same as meju
	D ₅	13~15	—	—
	D ₆	12~15	—	—
	D ₉	26~30	512	same as meju & NH ₃
	D ₁₄	12~16	—	—
	D ₁₅	17~20	256	same as meju
	D ₁₉	18~23	256	same as meju
	D ₂₅	15~19	128~<256	same as meju
Choong-Nam straw	F ₅	19~23	256~<512	same as meju
	F ₈	13~16	—	same as meju
	F ₁₀	18~24	256~<512	same as meju
	F ₂₀	24~29	512	same as meju & NH ₃
	F ₂₁	12~17	—	—
	F ₂₄	13~18	—	—
	F ₂₇	15~20	128~<256	same as meju
Kang-Won straw	H ₃	14~19	128~<256	same as meju
	H ₅	12~17	—	—
	H ₁₁	11~16	—	—
	H ₁₆	13~18	—	—
	H ₂₂	15~20	128~<256	same as meju
	H ₃₀	20~26	<512	same as meju & NH ₃
	H ₃₈	16~20	128~<256	same as meju

두드러지게 강력한 것임을 알았으므로 이 결과로 1차 선별을 하였다. 이 결과를 바탕으로 하여 세 가지 청국장에서 본실험의 가장 중요한 목적인 protease 생성 우수균주를 순수 분리하고자 실험 1. c를 수행하여 Table 3과 같은 결과를 얻었다.

발육속도가 빠르고 protease활성이 강력한 것을 분리선정하고자 2% casein media로서 37°C incubator에서 30시간 배양시켰다. 발육속도가 빠르고 protease 생성능이 우수한 점을 동시에 비교할 수 있고 균 순수분리에 편리한 Replica 법으로서 순수분리한바 전남지방의 벗질을 starter로서 제조된 청국장에서 9균주를 순수분리하였고 충남지방의 벗질이 starter가 되어 제조된 청국장에서 7균주를 분리하였으며 강원지방의 벗질이 starter로서 제조된 청국장에서 7균주를 순수분리하여 총 23균주의 세균을 1차적으로 얻었다. 1차적으로 순수분리된 23균주를 각각 실험 1. a, b에 의한 처리방법으로 분리균주별로 TGY media에서 순수배양된 starter로서 청국장을 조제하여 이들에 대한 protease 활성을 측정 비교하여 0.4-M TCA에 의하여 clear zone의 직경이 15mm 이상인 것을 13주 선정하였!

다. Potease 활성을 재차 Fuld-Gross 법으로 측정 비교하였든바 13주중 전남지방 벗질에서 유래된 D_9 strain과 충남지방 벗질에서 분리된 F_{20} 균주 그리고 강원지방 벗질에서 유래된 H_{30} strain등 3균주를 prtease 생성능이 강력한 균주로 선정하였으며 이들 3균주에 의하여 제조된 청국장에서는 우리나라 고유한 메주냄새가 있었으며 또한 ammonia취를 발생함이 공통적인 특성이었음을 알았다.

실험 2. a, b에서 순수분리된 protease 생성우수균주와 control인 *Bac. natto* IAM 1017 strain으로서 청국장을 제조하여 정확하게 protease activity를 비교하기 위하여 Folin phenol법으로서 측정 한 결과는 Fig. 2에서와 같다. 청국장 제조에서 배양개시후 protease 활성이 점차 상승하는데 속도와 활성의 차이는 있지만 대략 36~50시간 경과시기에 가장 높은 값을 보이고 있음이 4균주 모두 공통적인 성질인 것을 알 수 있다. 가장 protease가 강력한 것은 D_9 와 F_{20} strain 이고 그다음이 H_{30} strain이며 control 균주가 가장 열세로 protease 활성이 약한 것임을 알 수 있어 흥미를 끌었다. 그러므로 분리선정된 균주중에서 D_9 와 F_{20} 두 strain을 최우수균주로 선정완료하고 이들 두균주가 생성하는 protease에 대하여 실험 2.c에서와 같이효

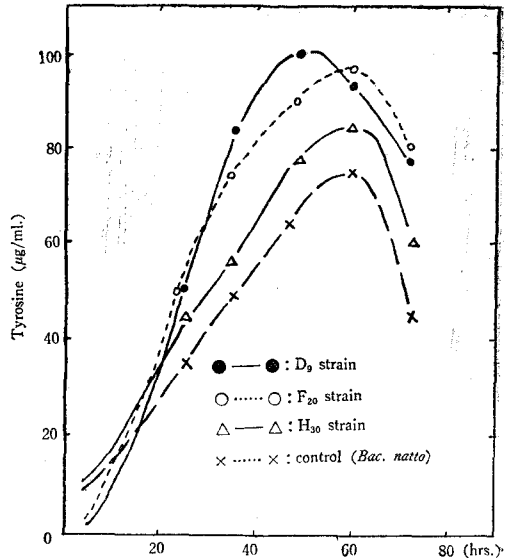


Fig. 2. Changes in protease activity of during the fermentation of Chung-KookJang.

소작용의 최적조건과 여러 특성을 검토한 결과 Fig. 3에서와 같다. Fig. 3-a에서 optimum pH를 보면 2 strain 모두 pH 7~8에 있으며 pH안정성을 보면 Fig. 3-c에서와 같이 pH 6~9에서 안정함을 알 수 있어 neutral protease, weak alkaline protease의 영역에 속함을 알 수 있다. 그리고 효소작용 최적온도를 검토한 결과는 Fig. 3-b에서와 같이 40°C에서 optimum temperature로 되어 있으며 또한 Fig. 3-d에서와 같이 열안정성을 보면 D_9 균주의 protease는 60°C까지는 저해율이 비교적 적은데 F_{20} 균주는 저해율이 D_9 균주보다 약간 크다는 점을 알 수 있었고 70°C 이상에서는 저해도가 격심하게 증가함을 보였는데 이들이 생성한 protease도 다른 일반 효소와 같이 단백질의 열변성에 의한 저해로 보여진다. 그러나 어떤 효소들은 mineral ion과 complex를 형성하여 내열성을 갖는 것도 있는데 mineral ion과의 영향에 대한것은 다음 기회의 실험에서 더욱 추구하기로 한다.

실험 3에서 최우수균주인 D_9 , F_{20} 두균주와 control 균주인 *Bac natto*를 starter로 하여 청국장을 제조하고 제조과정에서 경시적으로 protease 활성을 측정 비교하고 또한 공원료에서 청국장 발효속성에 따른 질소화합물들의 변화를 검토한 결과는 Table. 4에서 표시하였다. protease 활성의 경

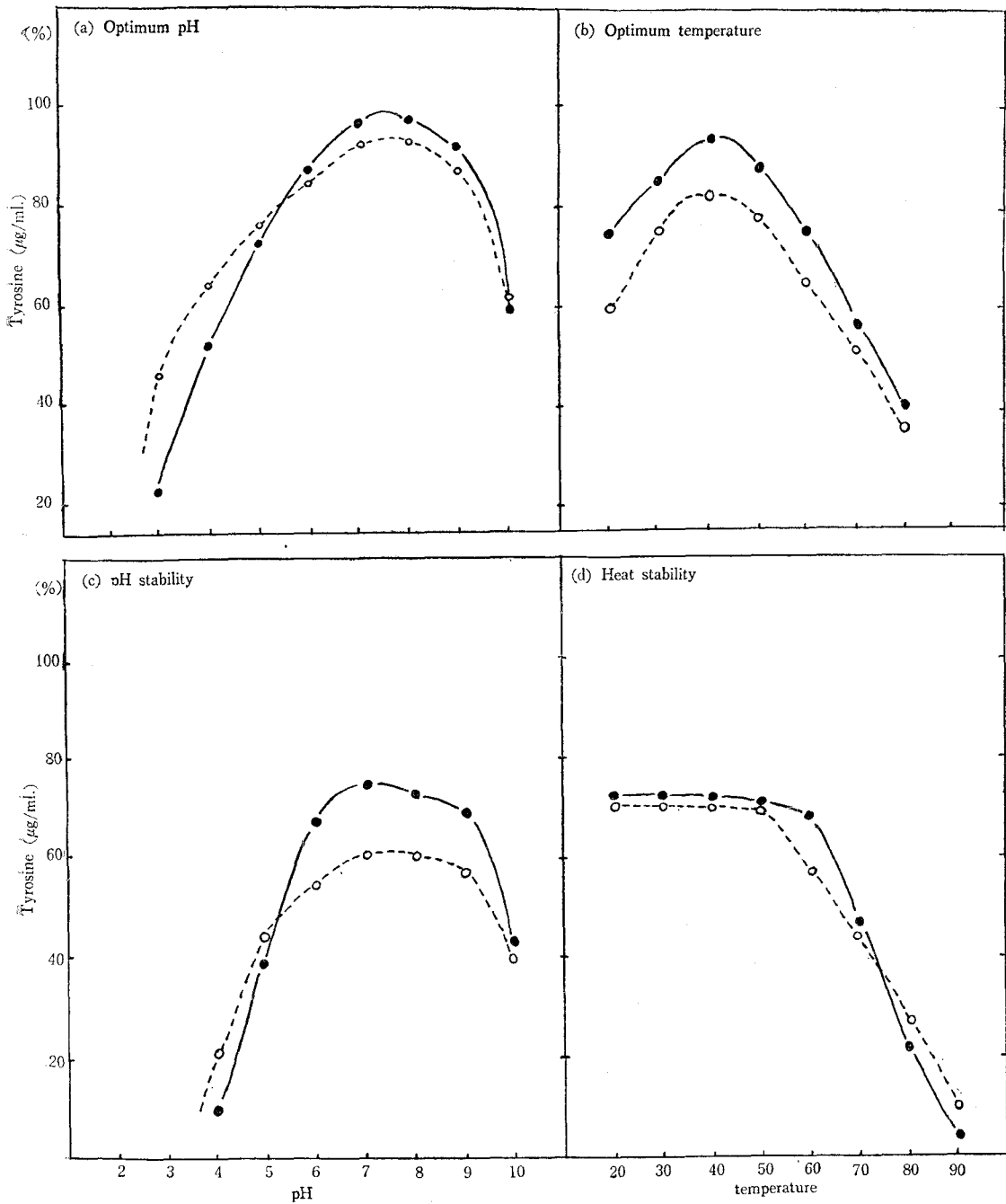


Fig. 3. Properties of the crude protease from isolates D₉ and F₂₀ strain.

- (a) Reaction mixture was incubated at 40°C for 30min.
 (b) Reaction mixture was incubated for 30min. at optimum pH.
 (c) Remaining protease activity was measured after the enzyme solution. was kept at 25°C for 24 hrs.
 (d) Remaining protease activity was measured after the enzyme solution was heated for 30min. at optimum pH

Legend : ● — ● Protease of D₉ strain
 ○ ····· ○ Protease of F₂₀ strain

Table 4. Changes in nitrogen forms of during the fermentation of Chung-Kook-Jang

		Steamed Soy bean				D ₀ strain				F ₂₀ strain				Control(<i>B. natto</i> IAM1017)			
Protease activity	tyrosin (μg/ml)	24 hrs	36 hrs	48 hrs	60 hrs	72 hrs	In total -N		In water soluble -N		In TCA soluble -N		In dry basis		In water soluble -N		
							dry basis	total	dry basis	total	dry basis	total	dry basis	total	dry basis	total	
							7.42	100	12.81	26.93	24.50	33.50	7.50	100	7.47	100	
Total-N		7.45	100				4.77	65.4	100	4.95	66.19	100	4.50	59.4	100		
Water soluble-N		1.63	23.81	100			2.65	34.95		2.61	34.81		2.97	40.60			
Water insoluble-N		5.82	76.19				1.28	12.81	26.93	3.01	14.46	47.80	3.30	44.11	74.10		
Water soluble fraction		0.88	13.23	55.56			3.49	47.58	73.07	1.92	50.73	52.20	1.20	15.29	25.90	100	
TCA soluble fraction		0.10	1.36	5.69	12.80		1.18	15.94	24.50	0.70	13.66	21.27	0.59	7.48	12.58	48.50	
		0.25	3.46	14.51	32.64		0.94	13.01	18.08	0.73	11.63	16.97	0.14	1.79	2.95	11.50	
		0.10	1.45	6.09	13.71		0.54	7.27	17.20	0.33	7.50	10.91	0.06	0.62	4.10	4.15	
		0.30	4.34	18.15	40.85		0.83	11.36	11.39	0.16	17.94	3.06	8.11	5.40	6.27	35.85	

우 D_0 의 균주에 의한 청국장은 배양속개시후 48 시간 경과한때 가장 peak를 보였고 F_{20} 균주와 control 균주에 의한 청국장은 배양개시후 60 시간 경과인때 가장 peak를 보였다. D_0 균주는 F_{20} 균주와 control 균주보다 fast growth type가 아닌가 추측되며 protease 생성속도도 빨리 생성됨을 알 수 있었다. 이상 3균주에 의한 청국장제조 과정에서 최고의 peak를 경과한 다음부터 배양개시후 72시간에 이르는 동안 protease 활성이 감소하고 있음을 알 수 있다. 그리고 원료인 삶은 콩과 3균주에 의하여 제조되는 청국장과의 수용성질소와 비수용성질소를 비교한바 배양개시후 36시간 경과인 때 D_0 과 F_{20} 균주에 의하여 제조된 청국장의 수용성질소가 65% 전후이고 비수용성질소가 35% 내외인데 control에 의하여 제조된 청국장의 경우는 수용성질소가 약간 떨어져서 60%정도이고 비수용성질소가 40%인 것을 알 수 있는데 이것은 단백질이 강력한 protease에 의하여 가수분해가 왕성하여 잘된 것일수록 수용성질소가 많아지기 때문이다.

이것은 protease 활성이 클수록 비례하여 단백질 가수분해도도 높아지고 따라서 수용성질소가 많아지며 반대로 비수용성질소는 감소하는 경향이 있는 것이다. (도 4)

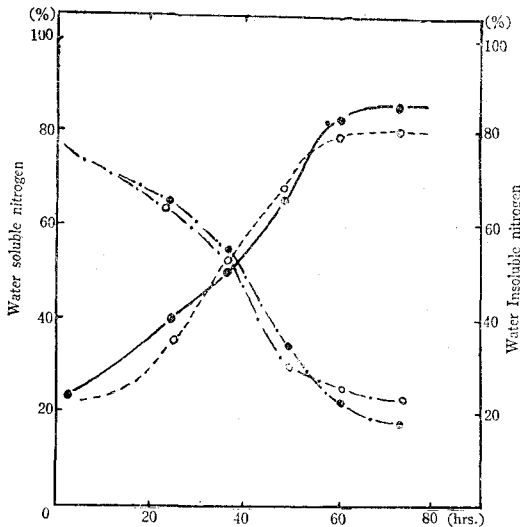


Fig. 4. Changes in water soluble & insoluble nitrogen of during the fermentation of Chung-Kook-Jang.

Legend: ●—● Water soluble-N of D_0 strain
○····○ Water soluble-N of F_{20} strain
●- - -● Water insoluble-N of D_0 strain
○- · - ○ Water insoluble-N of F_{20} strain

삶은 콩의 경우는 수용성질소가 23%이고 비수용성질소가 77%인데 청국장의 경우 수용성질소가 많은 것은 청국장 발효속성균이 생산분비하는 protease 활성에 의하여 단지 30여시간동안에 콩단백질을 가수분해한 산물이 수용성질소인 까닭이라 생각된다. 이와 같이 청국장 발효속성은 40~60시간 동안에 콩의 단백질을 가수분해하여 수용성질소가 85%에 이르게 하는 것으로 短期熟成의 이로운 점에 반하여 간장 된장 등은 같은 원료콩을 가지고 미생물에 의하여 발효속성하지만 長期熟成의 불리한 점이 있는 것이다.

즉 콩단백질의 소화흡수율을 보다 좋게 하기 위하여는 수용성질소의 형태로 함이 가장 원하는 것인데 이같은 청국장은 콩단백질의 영양학적 이용 효율에서 중요한 존재로 이바지할 수 있을 것이다

또한 수용성질소 중에서도 D_0 균주와 F_{20} 균주에 의한 청국장의 경우 단백질태질소회분이 12~14%이고 TCA가용성회분이 48~51%임을 알 수 있다. 더욱이 TCA 가용성회분중에서도 amino 태질소가 D_0 균주의 청국장은 25%, F_{20} 균주의 청국장은 21%이고 control 균주에 의한 청국장의 경우는 13%임을 알 수 있어 최우수균주로 순수분리된 D_0, F_{20} 두균주에 의하여 제조된 청국장이 control의 청국장에 함유하는 amino 태질소보다 약 70~80%가 더 많은 amino 태질소를 함유하고 있음은 여러가지 유리 amino산이 고루 존재함과 많은 양의 amino산이 함유되고 있음을 시현하고 있으므로 맛과 풍미도 더 향상될 것으로 보여주어 흥미를 끌었다.

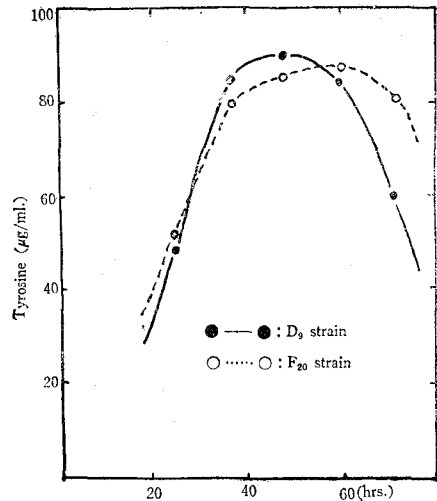


Fig. 5. Changes in amino nitrogen during the fermentation of Chung-Kook-Jang.

그런데 ammonia 태질소를 보면 D_9 , F_{20} 두균주에 의하여 제조되는 청국장이 11~17%인데 비하여 control에 의한 청국장은 불과 4% 정도로서 1/3~1/4 밖에 되지 않는다. 즉 ammonia가 많다는 사실은 수용성질소에서 더욱 분해가 계속되어 amino 산을 거쳐서 deamination이 일어나서 ammonia로 되고 ammonia가 발산하면 막대한 질소의 손실을 가져오기 때문에 이것을 저지하여야 한다.

D_9 , F_{20} 두균주가 분비하는 강력한 protease 활성으로 amino 태질소에서 deamination이 일어나지 않게 하기 위하여 발효숙성기간을 단축하여 일정 기간에서 발효원료케 하거나 또는 deaminase 저해제 등에 의한 방법을 구명하여 deamination을 예방할 것도 주목할만한 과제라 생각된다.

IV. 要 約

콩 및 장류 연구의 일환으로서 세균효소에 의하여 콩단백질을 분해하는 강력한 protease 생산균주를 얻기 위하여 전국 9 개도에서 벗질을 수집하였다.

수집시료로부터 Dilution pour plate에 의하여 protease 생산성 균주 총 23 균주를 순수 분리하였다.

순수분리된 전균주에 대하여 protease 생산성을 screening하고 protease를 강력히 생산하는 우수균주를 선정하였다.

우수균주인 D_9 및 F_{20} strain이 생성한 protease의 최적작용조건을 검토한 결과 optimum pH가 7.5이고 optimum temperature는 40°C임을 알았다. 청국장은 다른 장류와는 달리 세균으로서 단시간 동안에 단백질을 분해시켜 만들므로 특유한 식품인 것이다.

우수균주로 분리 선정된 D_9 와 F_{20} strain과 *Bac. natto* strain을 starter로 하여 청국장을 제조하는데 세균의 protease에 의하여 콩단백질의 분해로 수용성질소화합물이 증가함을 알았다.

삶은 콩과 우수균주로 선정된 균주에 의하여 제조된 청국장에 대하여 질소형태의 변화를 보면 청

국장 제조과정에서 수용성질소가 85%, TCA가용성질소, amino 태질소, peptide 태질소는 두드러지게 증가하고 반대로 삶은콩은 수용성질소가 감소하였다.

參 考 文 獻

1. Yoshi, H. & Ishihara, A.: J. Ferment. Tech. (Japan) 37, 110 (1959)
2. Susukida, W.: J. Ferment. Tech. (Japan) 39, 1(1961)
3. 金浩植, 李瑞來: 서울대 論文集(生農系) 9. 1 (1959)
4. Tomomura, K.: Agri. Biol. Chem. (Japan) 25. 1(1961)
5. 李啓瑚, 張建型, 朴性五: 기술연구보고 1. 40 (1962)
6. 李啓瑚, 張建型: 한국미생물학회지 2, 17(1964) 3, 9 (1965)
7. 李泰寧, 鄭泰錫, 尹斗石: 科彙報 3, 75. 83 (1958) 4, 41 (1959)
8. 朴泰源, 黃圭晟, 金燦祚: 科彙報 4, 31. (1959)
9. 朱鉉圭: 한국식품과학회지 3, 64 (1971)
10. 朴啓仁, 成綯淳: 한국미생물학회지 9, 74(1971)
11. 洪萬選: 山林經濟(1715)
12. 失部規矩治: 日農會 24, 3(1894)
13. 井口重次: 日札農林, 9, 195 (1971)
14. 阿部久三: 日農化 10, 545 (1934)
15. 林右一: 日榮養と食糧 4, 188 (1952)
16. 草野愛子: 日榮養と食糧 22, 615 (1969)
17. Hayes, W.C. & Wickerham: J. Appl. Microbiol. 3, 6(1955)
18. 萩原文二: 標準生化學實驗(東京, 文光堂)p. 207 (1953)
19. Colowick, S.P. & Kaplan, N.O: Methods in Enzymology, Vol. III (Academy press)p. 469 (1957)