

Bacillus sp. CS-17로 제조한 청국장 발효기간별 품질변화

손동화¹ · 권오진² · 지원대 · 최응규 · 권오준 · 이은정 · 조영제³ · 차원섭³ · 정영건*

영남대학교 식품가공학과, ¹대구산업정보대학 조리과, ²대경대학 호텔제과제빵과, ³상주대학교 식품공학과

초 록 : *Bacillus* sp. CS-17를 이용하여 청국장을 제조한 후 발효기간별 특성을 조사하였다. pH는 발효가 진행됨에 따라 점차 알카리화하였다. 색도를 조사한 결과 명도는 숙성이 지속될수록 낮아졌으며, 황색도는 약간 증가하였다. 적색도는 차이가 없었다. 지용성 갈변물질은 거의 생성되지 않았으며, 수용성 갈변물질은 많은 양이 생성되었다. 강도와 경도는 발효초기부터 급격히 감소하였다. 아미노산 총 함량은 8274.7~9301.4 mg%이었고 phenylalanine, lysine, leucine, tyrosine이 많이 함유되어 있었다. 총 필수아미노산의 함량은 총 아미노산에 대해 66.6~71.8%였다. 관능검사를 실시한 결과 향기를 제외한 모든 영역에서 숙성이 지속되어도 그 기호도가 감소하지 않았으며, 시판청국장과도 차이가 없었다. (1999년 9월 28일 접수, 2000년 1월 20일 수리)

서 론

청국장은 전통 대두발효식품 중 가장 짧은 3일 이내에 완성할 수 있으면서 독특한 맛, 향 및 색을 가지고 있고 단백질을 비롯하여 유기산 및 비타민을 풍부하게 함유하고 있는 발효식품이다.¹⁾ 청국장의 제조는 증자대두에 *Bacillus subtilis*, *Bacillus natto* 등을 접종하여 40~50°C의 온도와 85~90%의 습도에서 2~3일 정도 발효시키는 원리로 제조되고 있으나 미생물을 이용하는 관계로 원료의 종류, 사용균주, 발효온도 및 시간 등 발효조건의 차이에 따른 특유의 풍미가 청국장의 품질을 결정하는 가장 큰 요인이 되고 있다.¹⁾

청국장에 관한 연구로서 등^{2,3)}은 증자대두에 *B. subtilis*, *B. natto*와 벗짚 및 균을 달리하여 제조한 청국장의 성분변화를 비교하였으며 그 외 많은 연구자들이 청국장 발효 중 유지성분의 변화,⁴⁾ 향기성분의 변화,⁵⁾ 점질성 고분자물의 생성,⁶⁾ 물성변화⁷⁾ 등을 보고한 바 있으나 기능성을 부여한 청국장을 제조하고자 하는 연구는 이루어지지 않고 있다.

본 연구자들은 기능성 청국장을 제조할 목적으로 벗짚에서 *Bacillus* sp.를 분리하고 색소생성능을 확인한 후, 분리균주의 색소생성조건과 그람양성균 5주 및 그람음성균 6주에 대하여 색소농축액의 항균활성을 조사한 결과 *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus* 및 *Aeromonas hydrophila*의 성장에 대한 항균효과를 확인하였으며,⁸⁾ 이 균주에 의해 생성된 색소의 항산화성을 확인한 바 있다.⁹⁾

본 연구에서는 본 연구실에서 분리한 색소생성균 *Bacillus* sp. CS-17를 이용하여 청국장을 제조한 후 발효기간별 특성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

원료대두

본 실험에 사용된 대두는 수분 12.4%, 회분 6.9%, 조단백 37.6%, 조지방 15.9%, 조섭유 4.8%, 가용성 무질소물이 22.4% 인 1996년 충북 청주산 백태(*Glycine max* L.)를 사용하였다.

사용균주

본 실험에 사용된 균주는 본 실험실에서 분리한 *Bacillus* sp. CS-17을 사용하였다.⁸⁾

종균 제조

정선한 원료대두를 18시간동안 침지하고 물빼기를 한 다음, 121°C에서 50분간 가압살균하고 50°C정도로 냉각시킨 후 *Bacillus* sp. CS-17 균주를 접종하여 40°C에서 48시간 동안 배양한 것을 종균으로 사용하였다.

청국장 제조

청국장은 서 등²⁾의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 정선한 대두를 18시간 동안 침지하여 물빼기를 한 다음, 121°C에서 50분간 증자살균하였다. 이것을 50°C 정도로 냉각한 후, 미리 준비된 종균을 원료의 2%가 되도록 접종하여 40°C에서 96시간 동안 발효시켰다.

pH 측정

청국장의 pH는 청국장을 분쇄하여 동량의 증류수를 가하고 교반한 다음 12,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 얻어진 상등액을 pH meter [Digital pH meter DP-215M(DMS, Korea)]로 측정하였다.

색도와 텍스처 측정

청국장의 색도는 Chromameter CR 300(Minolta, Japan)를 사용하여 직경 5 cm의 petridish에 paste상으로 만든 시료를 넣고 Hunter의 L, a, b값을 측정하였다. 이때 사용한 표준관은

찾는말 : 청국장, *Bacillus* sp. CS-17, 유리아미노산, 시판청국장
*연락처 : Tel : 053-810-2951, Fax : 053-815-1891

L = 97.51, a = -0.18, b = +1.67의 값을 가진 백색판이었다. 발효 중에 생성된 갈변물질은 Toyomizu와 Chung의 방법¹⁰⁾에 따라 n-hexane으로 탈지한 시료 3g에 chloroform-ethanol(2:1, v/v) 혼합용액 6ml를 가하여 추출한 것을 지용성 갈변물질로 하였고, 지용성 갈변물질을 추출하고 남은 잔사에 동량의 증류수를 가하여 5°C에서 120분 동안 추출한 것을 수용성 갈변물질로 하여 각각 390 nm에서 흡광도를 측정하였다⁸⁾.

청국장 발효과정 중 대두입자의 강도와 경도는 Sun rheometer compac-100을 사용하여 측정하였다. Rheometer의 조건은 table speed가 200, graph speed가 20, road cell이 10 kg, critical diameter가 1 mm, sample height가 1 mm, sample width가 1 mm, sample length가 1 mm로 하였으며 각 시료 당 30회 반복하여 측정하였다.

휘발성 유기산 분석

청국장 10g을 파쇄하여 3차 증류수를 20 ml 넣어 200 rpm에서 진탕한 후 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 membrane filter(ϕ : 0.45 μ m, Millipore)로 여과한 분석용 시료 5.7 ml에 2% H₂SO₄ 0.3 ml를 첨가하여 5.0 μ l를 gas chromatograph(GC)에 주입하였다. 이때 사용한 GC는 Shimadzu GC 8A(Japan)이고, 검출기는 FID이었으며, 분석칼럼은 10% PEG 6,000(3 mm \times 1 m, stainless)이었다. 오븐온도와 검출기의 온도는 각각 150°C와 200°C이었고 carrier gas는 N₂(40 ml/min)을 사용하였다.

유리 아미노산, 비휘발성 유기산 및 유리당 분석

제조한 청국장 200g을 800 ml의 ethanol로 85°C에서 2시간 동안 환류추출한 후 여과한 여액을 감압건조시킨 다음 3차 증류수를 첨가하여 100 ml로 정용하여 amberlite IR-118H와 amberlite IRA-400이 각각 충전된 칼럼에 연속 통과시켰다. 양이온 교환수지에 흡착된 아미노산은 5% NH₄OH 용액 300 ml로 용출시켜 감압농축한 후 0.2 N sodium citrate(pH 2.2)로 5배 희석한 다음 membrane filter(0.2 μ m)로 여과한 액 20 μ l를 아미노산 자동분석기로 분석하였다. 음이온 교환수지에 흡착된 유기산은 6 N-formic acid 300 ml로 용출시켜 감압농축하고 5 ml로 정용한 후 membrane filter(0.45 μ m)로 여과하여 20 μ l를 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 이때 사용한 HPLC는 Young-In HPLC 9500 system을 사용하였고 column은 Supelco gel C-610H이었다. 유리당은 양이온교환수지와 음이온교환수지

가 각각 충전된 칼럼을 모두 통과한 액을 감압농축하여 membrane filter(0.2 μ m)로 여과하여 HPLC로 분석하였다. 이때 사용한 HPLC는 Young-In HPLC 930 pump이었고, column은 Rezex RNM, RPM(7.8 \times 300 mm, Phenomenex, U.S.A.)를 사용하였다.

관능검사

관능검사는 7점 기호 척도법¹¹⁾을 이용하여 색, 향기, 단맛, 쓴맛, 구수한 맛 및 종합적 기호도에 대하여 훈련된 13명의 관능요원에 의하여 평가하였다. 즉, 지극히 좋다(7점), 매우 좋다(6점), 약간 좋다(5점), 보통이다(4점), 약간 싫다(3점), 매우 싫다(2점), 지극히 싫다(1점)로 하였으며, 관능검사 결과의 통계 처리는 ANOVA test¹¹⁾를 이용하였고, Duncan's Multiple Range Test¹¹⁾로 유의성을 검정하였다. 또, 시판 청국장과의 관능검사에 의한 품질차이를 규명하기 위하여 경산시장에서 시판 청국장을 구입하여 관능검사를 행하였으며, 관능검사에 의한 품질차이는 모평균간의 차이검정을 통하여 T검정¹¹⁾을 행하였다.

결과 및 고찰

pH

Bacillus sp. CS-17로 제조한 청국장 발효과정 중 pH 변화를

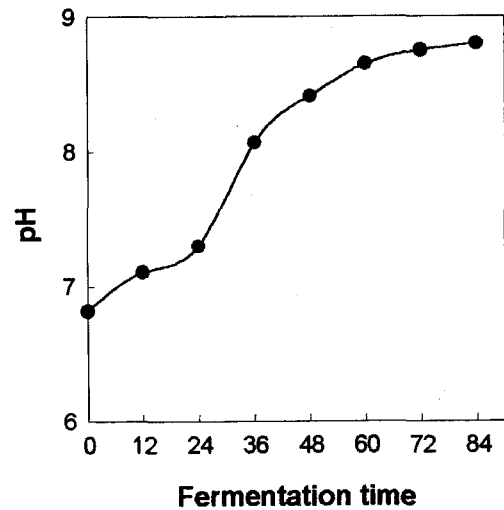


Fig. 1. Changes in pH of chunggugjang fermented with *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time.

Table 1. Color degree, lipophilic and hydrophilic coloring of chunggugjang fermented with *Bacillus* sp. CS-17

Color	Fermentation time(hrs)							
	0	12	24	36	48	60	72	96
L	63.99	59.81	58.55	57.52	59.84	58.87	57.18	52.61
a	+6.77	+7.18	+6.32	+7.28	+6.72	+5.90	+6.44	+7.99
b	+26.47	+26.55	+26.0	+26.82	+27.42	+27.02	+27.83	+28.78
a/b	0.26	0.27	0.24	0.27	0.25	0.22	0.23	0.28
Lipophilic coloring ¹⁾	0.06	0.07	0.08	0.08	0.06	0.08	0.08	0.08
Hydrophilic coloring ²⁾	0.16	0.39	0.58	0.95	1.06	1.15	1.51	1.85

^{1,2)}Lipophilic coloring, Hydrophilic coloring are tested by O.D. at 390 nm.

Table 2. Compression intensity of chunggugjang fermented with Bacillus sp. CS-17 during fermentation time at 40°C unit : dyne/cm²

Compression intensity	Fermentation time(hrs)							
	0	12	24	36	48	60	72	96
Strength	88.96	78.04	70.24	70.23	59.31	57.75	56.18	48.25
	87.41	79.60	71.79	70.04	62.43	60.87	59.31	48.36
Hardness	6.34	5.01	3.71	3.41	3.35	2.76	2.56	2.51
	6.26	4.94	3.69	3.41	3.18	2.97	2.67	2.59

측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 증자대두의 경우 pH는 6.8을 나타내었으며, 발효가 진행됨에 따라 점차 알칼리화하여 발효 96 시간째에는 pH 8.9를 나타내었다. 청국장 발효과정 중의 pH 변화에 관한 보고는 많은 편이며, 증자대두(pH 6.25~6.84)에 *B. subtilis*를 접종하여 40°C내외에서 72시간 발효시켜 청국장을 제조하였을 때, 서 등³⁾은 pH 8.26을 나타내어 알칼리성화 하였다고 보고하고 있으나 그 원인에 대하여는 분명하게 언급된 바 없다. 김 등¹²⁾의 보고에서는 전통식으로 제조한 청국장 발효과정 중 발효초기 pH가 6.46에서 발효 24시간 이후 7.12로 상승하였는데, 이는 발효온도가 높았던 관계로 생각되며 또한 빛질 속에 자연적으로 생육하고 있는 미생물 중 활성이 강한 *B. natto*의 작용에 기인된 것으로 사료된다고 하였다.

색도와 텍스처

Bacillus sp. CS-17로 제조한 청국장의 숙성 시간별 색도를 Hunter의 L, a, b값으로 나타낸 결과는 Table 1에 나타내었다. L값은 흑색의 0에서 백색의 100까지의 범위를 갖는 것으로 제조직후에는 63.99를 나타내었으며, 숙성이 지속될 수록 낮아져서 발효 96시간째에는 52.61을 나타내었다. a값은 녹색이 -80이고 적색이 +100으로 나타내어지는데 청국장의 a값은 대체로 +6.8~8.0사이로 약간의 적색이 있음을 알 수 있었고, 시간이 경과함에 따라 비슷한 정도의 적색을 띄는 것으로 조사되었다. b값은 황색이 진해질 수록 0에서 +70으로 증가하는데 청국장의 b값은 +26.0~+28.8사이로 나타났으며, 발효시간이 경과함에 따라 약간 증가함을 알 수 있었다. 적색도와 황색도의 비로 청국장의 적색도를 판단할 수 있는데, a/b값이 높을 수록 적색도가 커진다. 본 실험에서는 a/b값이 큰 변화를 보이지 않았는데, 이는 가장 큰 변화를 보인 L 값이 배제되었기 때문으로 사료된다.

청국장 제조과정 중에 있어서의 갈변도를 측정하기 위하여 수용성 및 지용성 갈변물질의 갈변도 변화를 측정한 결과는 Table 1과 같았다. 지용성 갈변물질은 거의 생성되지 않는 것으로 나타났으나, 수용성 갈변물질은 발효 12시간째부터 많은 양이 생성되었고 발효시간이 경과함에 따라 계속 생성되었다. 청국장 발효과정 중의 갈변물질 생성에 관한 보고는 찾아 볼 수 없으나 간장 및 된장에 있어서의 갈변물질 생성은 주로 amino-carbonyl 반응에 의해서 생성되는 melanoidin에 기인하는 것으로 알려져 있으며, Toyomizu 와 Chung¹⁰⁾은 어류를 건조할 때의 갈변은 당류와 아미노산 및 지질이 공존하는 환경하에 일어나는 amino-carbonyl 반응이 주 반응이고, 산화된 지방이 amino-carbonyl 반응을 촉진하는 것으로 인정된다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서의 색소는 *Bacillus sp.* CS-17이 생성하

는 물질로 추측됨으로 앞으로 이 색소에 대한 보다 구체적인 연구가 더 필요하다고 사료된다.

청국장 발효과정 중의 압축강도 변화를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 증자대두의 경우 강도는 87.41~88.96 dyne/cm²로 나타났고 경도는 6.26~6.34 dyne/cm²로 나타났으며, *Bacillus sp.* CS-17로 제조한 청국장은 발효 12시간부터 strength가 감소하기 시작하여 발효 96시간에서는 48.25~48.36 dyne/cm²의 강도를 나타내어 발효속도가 매우 빠름을 알 수 있었다. 경도의 경우도 발효 12시간부터 경도가 감소하기 시작하여 발효 48시간을 지나면서 절반 이상 감소하였으며 발효 96시간에서는 2.51~2.59 dyne/cm²의 경도를 나타내어 발효속도가 빠름을 알 수 있었다. 최¹⁴⁾는 *B. subtilis* DC-2를 이용하여 청국장을 제조한 후 텍스처를 조사한 결과, 발효 96시간째에는 강도가 39.02~45.26 dyne/cm², 경도가 2.09~2.35 dyne/cm²로 본 실험의 결과와 유사한 결과를 보고한 바 있다.

유기산

1) 휘발성 유기산 : 청국장의 발효 중 휘발성 유기산 함량의 변화를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 사용한 증자대두에서는 acetic acid만이 확인되었으며, *Bacillus sp.* CS-17을 이용하여 제조한 청국장의 경우, acetic acid는 발효초기에는 그 함량이 증가하여 48시간에서는 36.8 mg%를 나타내다가 72시간부터 감소하는 것으로 나타났으며, propionic acid는 발효 24시간에서 136.2 mg%가 검출되기 시작하였고 48시간에서는 168.0 mg%의 함량을 나타내다가 발효가 지속됨에 따라 점차 감소하여 96시간에서 13.2 mg%의 함량을 나타내었다. Propionic acid는 안식향산, dehydroacetic acid, sorbic acid와 더불어 활성이 강한 산형 보존료로 알려져 있어 청국장의 정균 및 보존효과를 기대할 수 있으리라 사료된다. 3-Methyl-butyric acid의 경우 발효 24시간에 1.2 mg%가 검출되기 시작하였으며, 시간이 경과함에 따라 그 함량이 계속 증가하여 96시간에서는 13.2 mg%의 함량을 나타내었다. Butyric acid는 발효 48~72시간에서, hexanoic

Table 3. Volatile organic acid identified in chunggugjang fermented with Bacillus sp. CS-17 during fermentation time at 40°C unit : mg%

Components	Fermentation time (hrs)				
	0	24	48	72	96
Acetic acid	9.6	33.0	36.8	19.0	14.0
Propionic acid	-	136.2	168.0	59.2	13.2
Butyric acid	-	-	6.6	9.2	-
3-Methylbutyric acid	-	1.2	6.4	12.0	13.2
Hexanoic acid	-	-	-	5.8	5.4

Table 4. non-volatile organic acid identified in chunggugjang fermented with *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time at 40°C
unit : mg%

Components	Fermentation time (hrs)				
	0	24	48	72	96
Oxalic acid	28.4	20.5	17.3	13.7	23.9
Citric acid	22.5	28.4	9.9	4.4	19.5
Tartaric acid	1.8	1.2	-	-	-
Malonic acid	4.1	7.9	5.6	4.2	3.5
Lactic acid	-	37.5	30.2	10.8	19.7
Fumaric acid	0.2	-	0.1	-	0.1

acid는 발효 72~96시간에서 미량이 검출되었다. 확인된 휘발성 유기산 중 acetic acid와 propionic acid 및 butyric acid는 한국 채래식 간장의 풍미에 큰 영향을 미치는 주요성분으로 butyric acid, 3-methylbutyric acid는 간장을 밀폐시켜 실온 이상에서 저장할 때 함량이 증가하여 변패취를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이들 유기산은 *Bacillus* sp.에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. 이들 유기산도 청국장 숙성 중 양쪽 모두에서 생성되어 불쾌취를 나타내므로 청국장의 품질을 저하시키는 요인이 되는 것으로 사료된다. 김 등¹⁵⁾은 *B. subtilis* PM3로 제조한 된장의 휘발성분 중 중성획분에 acetic acid가 존재하는 것으로 보고하였는데, 이 성분은 한국 전통 간장과 된장 및 일본식 간장과 된장에도 존재하는 성분인 것으로 알려졌다.

2) 비휘발성 유기산 : 청국장의 발효 중 비휘발성 유기산 함량의 변화를 측정 한 결과, Table 4와 같이 증자대두에서는 oxalic acid, citric acid, malonic acid, tartaric acid 및 fumaric acid가 각각 28.4, 22.5, 4.1, 1.8 및 0.2 mg% 함유되어 있었으며 lactic acid는 함유되어 있지 않은 것으로 나타났다. *Bacillus* sp. CS-17을 이용하여 제조한 청국장에서 lactic acid의 경우 증자대두에서는 검출되지 않았으나 발효 24시간에서는 37.5 mg%로 가장 많은 양이 함유되어 있는 것으로 확인되었고 그 후 점차 감소하였다. Oxalic acid는 발효가 지남에 따라 함량이 점점 감소하다가 발효 72시간에 13.7 mg%가 검출된 후 함량이 증가하여 96시간에서는 23.9 mg%를 나타내었고, citric acid도 역시 발효 72시간까지는 점점 감소하여 4.4 mg%로 최소의 함량을 나타내다가 그 이후 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Tartaric acid의 경우 발효 24시간에 미량이 검출되었을 뿐 발효가 진행되면서 검출되지 않았다. Malonic acid는 발효 24시간에 7.9 mg%로 최대의 함량을 보인 후 발효가 지속되면서 점차 감소하였다. Fumaric acid는 모든 시험구에서 미량이 검출되었다. 청국장 제조과정 중 북¹⁶⁾은 증자대두에 *B. natto*를 접종하여 38°C, 20시간 동안 발효시켰을 때 증자대두 중에는 citric acid만 검출되었다고 보고하였으며, 발효 8시간부터 citric acid가 급격히 감소하였다고 보고하여 본 실험의 결과와는 조금 차이를 보였고, 최¹⁴⁾는 *B. subtilis* DC-2를 증자대두에 접종하여 96시간 동안 발효시켰을 때 증자대두에서 oxalic acid, citric acid, tartaric acid, malonic acid, fumaric acid가 골고루 검출되었으며, 발효시간에 따라 본 실험의 결과와 유사한 감소 패턴을 보이는 것으로 보고하였다.

Table 5. Free sugar identified in chunggugjang fermented with *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time at 40°C
unit : mg%

Components	Fermentation time (hrs)				
	0	24	48	72	96
Stachyose	617.4	2.9	t ¹⁾	t	t
Raffinose	132.8	569.1	282.9	39.6	28.0
Sucrose	1031.7	54.9	t	t	t
Glucose	25.9	t	t	-	-
Fructose	41.8	73.4	t	t	t

¹⁾t : trace.

Table 6. Free amino acid identified in chunggugjang fermented with *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time at 40°C
unit : mg%

Components	Fermentation time (hrs)				
	0	24	48	72	96
Aspartic acid	13.6	53.3	56.0	55.1	37.9
Threonine	13.9	37.8	123.8	136.5	106.3
Serine	13.5	33.7	43.4	49.2	34.0
Glutamic acid	76.6	523.7	536.1	477.8	345.7
Proline	41.6	245.0	239.3	249.8	174.4
Glycine	16.0	84.1	96.6	105.1	66.4
Alanine	43.2	201.6	199.9	210.4	133.3
Valine	11.9	407.3	451.7	491.2	359.1
Cysteine	32.1	66.5	50.8	31.3	41.8
Methionine	9.7	40.3	48.5	110.8	72.8
Isoleucine	9.8	705.5	733.3	777.5	534.6
Leucine	23.4	1363.2	1492.2	1581.2	1092.1
Tyrosine	33.8	1104.2	593.2	1342.6	889.4
Phenylalanine	52.4	1552.3	1663.7	1800.7	1233.3
Lysine	27.3	1408.6	1484.8	1619.1	1070.7
Histidine	6.8	229.2	343.4	381.1	250.5
Arginine	37.2	218.4	193.4	162.8	137.4
Essential A. A.	32.1	66.6	71.8	67.0	67.9
Essential A. A.(%)	148.4	5515.0	5998.0	6236.2	4468.9
Total A. A.	462.8	8274.7	8350.1	9301.4	6579.7

유리당

청국장의 발효 중 유리당 함량의 변화를 측정 한 결과, Table 5와 같이 증자대두의 유리당의 함량은 sucrose가 1031.7 mg%, stachyose가 617.4 mg%, raffinose가 132.8 mg%, fructose가 41.8 mg% 및 glucose가 25.9 mg%의 순으로 각각 나타났으며, *Bacillus* sp. CS-17을 이용하여 제조한 청국장의 경우 stachyose, sucrose와 glucose가 모두 발효초기에 급격히 소비되었고, fructose는 발효 48시간에서 급격히 소모되는 것으로 나타났고 raffinose는 발효 24시간에 그 함량이 급격히 증가한 후 48시간부터 점차 감소하는 경향을 보였다. 김 등¹³⁾은 *B. subtilis*를 증자대두에 접종하고 42°C에서 24시간 발효시켰을 때 fructose와 glucose는 발효 4시간에 최고치를 보인 후 점차 감소하였고 sucrose는 발효가 진행되면서 급격히 감소되었다고 보고하였다. 북¹⁶⁾은 *B. subtilis*를 증자대두에 접종하고 40°C에서 72시간 발효시킨 청국장에서 raffinose가 2배 이상 증가하였다고 보고하였는데, 이는 본 실험결과와 유사하였다.

Table 7. Sensory evaluation of chunggugjang fermented with Bacillus sp. CS-17

Parameter	Fermentation time (hrs)			
	24	48	72	96
Color	4.23 ^a	4.00 ^a	4.38 ^a	4.31 ^a
Odor	4.54 ^a	3.77 ^b	3.85 ^{ab}	4.15 ^{ab}
Sweet taste	4.23 ^a	4.08 ^a	3.92 ^a	4.46 ^a
Savory taste	4.23 ^a	4.31 ^a	4.00 ^a	4.46 ^a
Bitter taste	4.08 ^a	4.15 ^a	3.92 ^a	4.31 ^a
Overall	4.31 ^a	4.15 ^a	4.08 ^a	4.23 ^a

Each value indicates average of the sensory scores with range from 1(dislike extremely) to 7(like extremely).The number of panels are 13 people.In a column, values with different letter are significantly different at the 5% level.

Table 8. Differences of sensory evaluations between chunggugjang fermented with Bacillus sp. CS-17 and commercial chunggugjang

Parameter	Fermentation time(hrs)			
	24	48	72	96
Color	0.61	0.00	0.91	0.70
Odor	2.47 ^{**1)}	0.76	0.90	1.44
Sweet taste	1.41	0.93	0.73	1.90 ^{*2)}
Savory taste	0.44	0.68	0.00	0.85
Bitter taste	-0.19	0.40	-0.22	0.75
Overall	0.33	0.00	-0.13	0.15

¹⁾** : significant at 5% level.

²⁾* : significant at 10% level.

Each value indicates average of the sensory scores with range from 1(dislike extremely) to 7(like extremely).The number of panels are 13 people.The sensory evaluation values of commercial chunggugjang are as following; color: 3.92, odor:3.38, sweet taste: 3.62, savory taste: 4.00, bitter taste: 4.00, overall: 4.15.

유리 아미노산

Bacillus sp. CS-17을 이용하여 제조한 청국장의 발효 중 유리 아미노산 함량의 변화를 측정된 결과는 Table 6과 같다. 대두를 증자한 직후의 아미노산은 총 17종이 동정되었고 그 중 glutamic acid가 76.6 mg%로서 그 함량이 가장 많았으며, phenylalanine이 52.4 mg%, alanine이 43.2 mg%, proline이 41.6 mg%의 순으로 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

청국장 발효 전 과정을 통해 17종의 유리 아미노산이 동정되었으며, 총 함량은 8274.7~9301.4 mg%로 나타났다. 이 중 phenylalanine이 1233.3~1800.7 mg%로 가장 많이 함유되어 있는 것으로 조사되었다. 그 외 lysine(1070.7~1619.1 mg%), leucine(1092.1~1581.2 mg%) tyrosine(593.2~1342.6 mg%) 등이 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 총 필수아미노산의 함량은 4468.9~6236.2 mg%가 함유되어 있는 것으로 조사되어 총 아미노산에 대해 66.6%~71.8%로 비교적 많이 포함되어 있는 것으로 나타났다. 북¹⁰⁾은 *B. subtilis*를 이용하여 제조한 청국장 에서 많은 양의 valine이 함유되어 있음을 보고하였다. 김 등¹²⁾은 벗짚을 이용하여 제조한 청국장에는 arginine, glutamic acid, alanine 및 serine의 함량이 특히 많았으며, 서 등²⁾은 *B. subtilis*를 이용하여 제조한 청국장에서는 glutamic acid, leucine, isoleucine 및 alanine의 함량이 특히 많았음을 보고하여 본 실험

의 결과와 매우 유사하였다. 김 등¹³⁾은 *B. subtilis*를 42°C에서 24시간 동안 발효시켜 제조한 청국장에는 glutamic acid와 phenylalanine이 많이 함유되었다고 보고한 바 있다. 최¹⁴⁾는 *B. subtilis* DC-2를 이용하여 청국장을 제조한 후 발효시간별로 아미노산의 함량을 측정된 결과, 지미성분인 glutamic acid, alanine, threonine의 함량이 많았다고 보고하였다. 따라서, 이들의 보고와 본 실험을 비교하여 보면 glutamic acid의 함량이 공통적으로 많이 나타났으나, valine, phenylalanine, leucine의 함량은 다소 차이를 보이고 있다.

관능검사

Bacillus sp. CS-17을 이용하여 청국장을 제조한 후 훈련된 13명의 관능요원에 의해서 발효시간별 7점 기호척도법을 이용하여 색, 향기, 단맛, 쓴맛, 구수한 맛 및 종합적 기호도에 대하여 평가한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정한 결과는 Table 7과 같다.

Bacillus sp. CS-17을 이용하여 제조한 청국장의 경우, 냄새에서는 발효 24시간의 시료가 가장 높은 기호도를 가지는 것으로 나타났으나, 색, 단맛, 쓴맛, 구수한 맛 및 종합적 기호도에서는 5% 유의수준에서 차이를 나타내지 못하였다.

Bacillus sp. CS-17을 이용하여 제조한 청국장과 시판 청국장과의 관능검사에 의한 차이를 T-검정한 결과는 Table 8과 같이 검사 전 영역에서 유의적인 차이를 나타내지 않아 *Bacillus* sp. CS-17을 이용하여 청국장을 제조할 경우 시제품으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Cheong, D. H. and Shim, S. K. (1994) In 'Fermented Soy Food', 673-686, Jisungesaem, Korea.
- Suh, J. S., Lee, S. K. and Ryu, M. K. (1982) Effect of *Bacillus* strains on the chungkook-jang processing II. Changes of the components and enzyme activities during the storage of chungkook-jang. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **14**, 309-314.
- Suh, J. S., Ryu, M. K. and Hur, Y. H. (1983) Effect of *Bacillus* strains on the chungkook-jang processing III. Changes of the free amino acid contents and nitrogen compounds during chungkook-jang koji preparation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **15**, 385-391.
- Rhee, S. H., Kim, S. K. and Cheigh, H. S. (1983) Studies on the lipids composition during chungkook-jang fermentation I. Changes of lipids composition during chungkook-jang fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **15**, 399-403.
- Choi, S. H. and Ji, Y. A. (1989) Changes in flavor of chungkook-jang during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **21**, 229-234.
- Lee, Y. L., Kim, S. H., Choung, N. H. and Yim M. H. (1992) A Study on the production of viscous substance during the chungkook-jang fermentation. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **35**, 202-209.
- Lee, B. Y., Kim, D. M. and Kim, K. H. (1991) Studies on the change in rheological properties of chungkook-jang. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 478-484.

8. Son, D. H., Kwon, O. J., Choi U. K. and Chung, Y. G. (1998) Conditions for the pigment production by *Bacillus* sp. CS-17 and antibacterial activity of pigment concentrated extracts. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*. **41**, 213-218.
9. Son, D. H. (1997) The Property of *Chunggugjang* Fermented with *Bacillus* sp. CS-17. Ph. D. Thesis, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.
10. Toyomizu, M. and Ghung, C. Y. (1968) Studies on discolorization of fish products. V. Mechanism of rusting in amino acid-reducing sugar-lipid system. *Bull. Japan Soc. Fish* **34**, 857-862.
11. Kim, K. O., Kim, S. S., Seong, N. K. and Lee, Y. C. (1997) In 'Method and Application of Sensory Evaluation', Shinkwangchulpansa., Korea.
12. Kim, K. J., Ryu, M. K. and Kim, S. S. (1982) Chungkook-jang koji fermentation with rice straw. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **14**, 301-308.
13. Kim B. R., Han, Y. B. and Park, K. H. (1987) Changes of free sugar and free amino acid during the natto fermentation used by *Bacillus* sp. S.N.V 816. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **30**, 192-197.
14. Choi, U. K., Son, D. H., Ji, W. D., Im, M. H., Choi, J. D. and Chung, Y. G. (1997) Changes of taste components and palatability during *chunggugjang* fermentation by *Bacillus subtilis* DC-2. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 840-845.
15. Ji, W. D., Yang, S. H., Choi, M. R. and Kim, J. K. (1995) Volatile components of Korean soybean paste produced by *Bacillus subtilis* PM3. *J. Microbiol. Biotech.* **5**, 143-147.
16. Bok, J. Y. (1993) The Change of *Chunggugjang* with Fermentation Time. Ph. D. Thesis, Yeungnam University, Kyongsan, Korea.

The Quality Changes of *Chunggugjang* Prepared by *Bacillus* sp. CS-17 during Fermentation Time

Dong-Hwa Son¹, Oh-Jin Kwon², Won-Dae Ji, Ung-Kyu Choi, O-Jun Kwon, Eun-Joung Lee, Young-Je Cho, Won-Seup Cha and Yung-Gun Chung*(*Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749; ¹Dept. of Food Preparation, Taegu Polytechnic College, Taegu 706-020; ²Dept. of Hotel Baking Technology, Taekyeung Broadcasting C&D College, Kyongsan 712-850; ³Dept. of Food Engineering, Sangju National University, Sangju, Korea*)

Abstract : The quality changes of *chunggugjang* produced by *Bacillus* sp. CS-17 was investigated with fermentation time. The pH was gradually alkalized. L-value became low while b-value became high. Both strength and hardness extraordinarily decreased during fermentation. Total content of free amino acid was 8274.7~9301.4 mg% and phenylalanine, lysine, leucine and tyrosine were the most abundant components among the amino acids. The ratio of essential amino acid was 66.6~71.8%. As a result of sensory test, it was found that the *chunggugjang* fermented by *Bacillus* sp. CS-17 was suitable enough to be produced for commercial purpose.

Key words : *chunggugjang*, *Bacillus* sp. CS-17, free amino acid, commercial purpose

*Corresponding author