

## 유카(*Yucca shidigera*)추출물의 첨가가 *Bacillus subtilis* p01을 이용한 청국장 품질 특성에 미치는 영향

인재평 · 이시경\*

건국대학교 응용생물화학학과

(2004년 2월 27일 접수, 2004년 5월 4일 수리)

*Bacillus subtilis* p01 균주를 사용한 청국장 제조 시 유카 추출물의 첨가가 청국장의 숙성중 품질 특성에 미치는 영향을 검토하고자 청국장 숙성 과정중의 아미노태 질소, 암모니아태 질소, amylase 활성, protease 활성, 유기산 성분의 변화, 향기성분의 변화를 조사하였다. 청국장의 숙성 중 아미노태질소 함량은 유카 첨가구에서 증가하였으며, 암모니아태 질소는 유카 첨가구에서 감소하였다. Amylase 활성은 유카 첨가구들이 대조구와 비교 시 높게 나타났으며, 유카 추출물을 0.5 mg/g 첨가 시 효소활성이 가장 높았다. Protease 활성 역시 유카 추출물 첨가구가 무첨가구보다 다소 높게 나타났다. 유기산은 유카 첨가구들에서 citric acid, acetic acid, malic acid가 검출되었고, 2,5-Dimethylpyrazine이 증가하였고, 불쾌취로 작용되는 cis-3-hexanol이 숙성 기간 중 감소함을 보였다.

**Key words:** 유카, 청국장, 효소활성, 아미노태질소, 숙성

### 서 론

장류는 옛부터 한국, 중국, 일본 등지에서 가공하여 이용해온 조미식품으로서 콩을 발효시켜 식염을 가미한다는 점에서는 비슷하지만 발효에 관여하는 미생물, 숙성과정, 전분질 원료의 혼합여부 등 국가나 지역마다 달라서 각각 독특한 제품으로서 전해 내려오고 있다. 청국장은 일반 장류와는 달리 증자한 대두에 청국장균을 접종해서 발효시킨 후 가미하여 식용할 수 있기 때문에 제조기간이 짧은 장점이 있다.

청국장을 콩 자체 성분과 비교해 보면 필수 아미노산, 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, 나이아신, 판토텐산 등을 더 많이 가지고 있고 청국장에는 각종 효소가 풍부하게 들어 있다. 따라서 소화흡수율도 매우 높으며 변비 개선에도 유효하다. 인체에 유익한 *Bacillus* sp.균이 부패균의 활동을 억제함으로써 부패균이 만드는 발암물질이나 암모니아, 인돌, 아민 등 발암 촉진물질을 감소시키고 이러한 유해물질을 흡착하고 배설시키는 작용을 하기도 한다. 대개 유해물질은 간에서 해독되지만 청국장에 의해 유해물질의 생성이 감소되면 간의 부담이 가벼워져 피로 회복이나 피부의 거칠어짐을 막는 효과도 커진다. *Bacillus subtilis*는 유기산도 생성하므로 장을 자극해 소화 활동을 활발하게 해준다. 청국장의 미생물은 protease와 amylase를 분비하는데, 이 효소들에 의해 대두는 분해 되어 아미노산과 당 산물이 생성된다.

유카(*Yucca shidigera*)는 꽃, 줄기, 뿌리를 포함하는 유카 식물의 모든 부분이 식품에 이용되고 있고 미국의 남부지방과 멕시코에 서식하는 식물이다. 유카는 다양한 종류의 steroidal sarsaponin<sup>1,2)</sup>과 polysaccharide들을 함유하고 있어 항진균성,<sup>3)</sup> 항균성,<sup>4)</sup> 항원충제의 가능성을 나타내고 있다. 유카 추출물은

관절염, 당뇨 등의 치료제로도 사용되며, 또한 혈압과 혈 중 콜레스테롤도 저하시키고 두통을 완화시키며, 순환계 질환도 향상시키는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 특히 유카 추출물을 투여한 그룹에서 혈 중 콜레스테롤이 평균 22%나 감소된 것으로 보고되었으며, 축산 폐수 처리 시 미생물 활성제로 사용 되어지며, 병원성 세균을 억제하는 기능도 있다고 보고 되었다.<sup>3)</sup> 또한 유카가 첨가된 사료 투여 시 가축의 분노에서의 암모니아 감소 효과가 있다는 보고<sup>1,4)</sup>와 이에 따른 가금류에서의 계란 생산량 증가<sup>5)</sup>가 보고되었다. 따라서 본 연구에서는 청국장의 저장 중에 발생하는 이취와 풍미저하의 문제점을 개선하고 기능성을 강화하기 위하여 steroidal sarsaponin이 풍부한 유카 추출물의 첨가량을 달리하고 *Bacillus subtilis* p01균주를 이용하여 청국장을 제조하고 저장 기간에 따른 암모니아태 질소, 아미노태 질소, 비휘발성 유기산, 그리고 숙성중의 amylase와 protease 효소 활성, 향기성분의 변화를 조사하였다.

### 재료 및 방법

**재료 및 균주.** 유카 추출물로는 미국 Desert King International사(Chula Vista, CA, USA)의 yucca ultra를 사용하였다. 원료 대두(*Glycine max.* L.)는 1998년 수확된 건국대 실습농장 생산 황대두를 시료로 구입하였다. 실험에 사용한 균주는 건국대학교 응용생물화학학과 식품발효화학 연구실에 분리하여 보관 중인 *Bacillus subtilis* p01를 사용하였다.

**중균배양.** 탈지 대두 분말 10g, Nutrient broth 0.8g를 증류수 100ml에 녹여 300ml erlenmeyer flask에 넣고 autoclave (1.5 kg/cm<sup>2</sup> 121°C 15분간)에서 살균한 후 *Bacillus subtilis* p01 배양액(균수 1×10<sup>9</sup> CFU/ml) 4%를 접종한 후 40°C의 incubator에서 48시간 배양한 것을 중균으로 하였다.

**청국장 제조.**<sup>6)</sup> 선별한 대두 2.4kg을 수세하여 12시간 물에 침지하고 약 1시간 동안 수질한 후 autoclave에서 1.5 kg/cm<sup>2</sup>로

\*연락처

Phone: 82-2-450-3759; Fax: 82-2-456-7183

E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr

50분간 증자하였다. 이를 용기에 담고 증자 콩을 50°C까지 냉각한 후 *Bacillus subtilis* p01 배양액을 4% 수준으로 균일하게 집중하고 40°C(습도 80~90%)에서 48시간 배양하였다. 발효된 청국장 메주에 식염을 각각 증량대비 6% 넣고 절구로 마쇄한 후 메주와 콩 비율이 1:1 수준으로 만든다. 만들어진 청국장에 유기추출액 0 mg/g, 0.2 mg/g, 0.3 mg/g, 0.4 mg/g, 0.5 mg/g, 1 mg/g씩 첨가하여 균일하게 혼합한 후 숙성용기에 400 g씩 담고 20°C에서 20일 동안 숙성시켰다.

**아미노태 질소 측정.**<sup>6)</sup> 시료 10 g을 100 ml의 열수로 용해한 후 1분간 약하게 가열하고 250 ml가 되도록 증류수로 세척하고 이를 잘 혼합하여 여지(Whatman No. 2)로 여과한 후, 그 여액 250 ml를 취하고, 0.5% phenolphthalein을 2~3방울 넣은 후 0.1 N-NaOH 용액으로 미홍색이 될 때까지 적정하여 A용액으로 하였다. 중성 Formalin 용액(35%)에 0.5% phenolphthalein을 2~3방울 넣은 후 0.1 N-NaOH로 미홍색이 될 때까지 적정하여 B용액으로 하였다. 위 A용액과 B용액을 20 ml씩 정확히 취하여 잘 혼합한 후 0.1 N-NaOH용액으로 적정하여 아미노태 질소함량을 산출하였다.

**암모니아태 질소(NH<sub>3</sub>-N) 측정.**<sup>4)</sup> 아미노태 질소측정과 동일한 시료액 0.1 ml 취한 후 Phenol-hypochloride 반응에 의하여 A용액과 B용액을 각각 2 ml씩 넣어 37°C에서 20분간 반응시켜 630 nm에서 흡광도를 측정하였다.

A solution: Phenol 10 g and Sodium nitroprusside dihydrate 0.05 g in distilled water 1000 ml

B solution: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 9 g, NaOH 6 g and NaOCl 10 ml in distilled water 1000 ml

**효소활성 측정.** 효소액은 시료중량의 12배가 되도록 증류수를 넣고 상온에서 3시간 동안 진탕, 추출한 후 여과(Toyo 여과지 No. 2)시켜 그 여액을 표준 효소액으로 사용하였다. Amylase 활성 측정은 D.U.N.(Dextrinogenic Unit of Nagase)법<sup>7)</sup>에 준하여 측정하였다. Protease 활성 측정은 Anson 변법<sup>8)</sup>으로 측정하였다.

**유기산 정량 및 향기성분 분석.** 유기산 정량은 Liquid chromatography(Sisedo, Japan)를 이용하여 분석하였다.<sup>9)</sup> 향기성분 분석은 SE-54칼럼을 이용한 GC(Hewlett Packard 5890 series II, USA)를 사용하여 분석 확인하였다.<sup>10,11)</sup>

### 결과 및 고찰

**아미노태 질소 생성에 미치는 영향.** 유카 추출물을 첨가하여 제조한 청국장의 숙성 기간 중 아미노태 질소함량의 변화는 Fig. 1과 같다. *Bacillus subtilis* p01균주를 이용하여 제조한 청국장은 숙성 기간 동안 아미노태 질소함량이 증가하였으며 0.4 mg/g의 유카 추출물을 첨가한 청국장에서 가장 많은 아미노태 질소함량의 증가를 보여 숙성 6일만에 800 mg% 이상의 아미노태 질소를 생성하였고, 전체적으로 대조구에 비해 유카 첨가구들의 아미노태 질소 함량이 증가함을 보였다. 다만, 0.2 mg/g 유카 추출물 첨가구는 무첨가구와 비교 시 차이가 거의 보이지 않았다. 최근 In 등<sup>6)</sup>도 *Bacillus* sp.균주를 이용하였을 때 유카를 첨가한 청국장이 무첨가구보다 아미노태 질소의 생성이 많았으며 일정기간 동안 증가함을 보였다고 하였다. Lee 등<sup>12)</sup>은

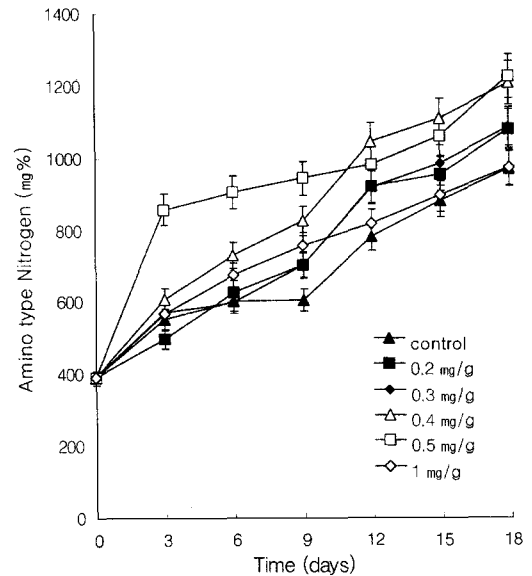


Fig. 1. Changes of amino-type nitrogen content in Chungkookjang with Yucca extract fermented by *Bacillus subtilis* p01. \*mg/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g.

*B. subtilis*와 *B. natto*의 혼합 균주를 이용하여 청국장을 제조 시 사용 균주에 따라 아미노태 질소의 생성에 차이가 있음을 보고하였다. 또한 Choi<sup>11)</sup>도 *B. subtilis*를 이용한 청국장을 40°C에서 숙성 시 아미노태 질소함량이 숙성 60시간에 576 mg%까지 증가하였으나 그 이후 감소하였다고 보고하여 숙성온도와 사용균주에 따라 아미노태질소의 생성이 상이함을 알 수 있었다.

이상의 실험에서 청국장의 숙성중 발효 18일까지 아미노태 질소량은 증가하였으며, 또한 청국장 제조시 유카 추출물의 첨가는 숙성기간중 아미노태 질소의 증가를 가져왔다.

**암모니아태 질소 생성에 미치는 영향.** 유카 추출물 첨가에 따른 청국장 숙성 중 암모니아태 질소 생성에 미치는 효과를 측정할 결과는 Fig. 2와 같다. *Bacillus subtilis* p01 균주를 사용한 청국장의 암모니아태 질소의 양은 숙성기간 동안 증가함을 보인 후 숙성 6일 이후 급격히 감소하였다. 또한 유카 추출물을 각각 0.2 mg/g 및 0.3 mg/g을 첨가하였을 때에도 암모니아태 질소의 양은 숙성 6일 까지 증가하였으나, 함량은 대조구에 비해 낮았다. 그러나 유카 추출물을 0.4 mg/g 이상 첨가한 경우 숙성 3일째 최고치를 보이다 서서히 감소하였으며, 1.0 mg/g 첨가구는 숙성 초기부터 가장 낮은 값을 보이며 감소폭이 가장 크게 나타났다. 이상과 같이 청국장 제조 시 유카 추출물 첨가에 의한 암모니아태 질소의 변화에 관한 실험에서 청국장에 유카 첨가량이 증가할수록 암모니아태 질소량이 현저히 감소함을 보였다.

In 등<sup>6)</sup>은 균주를 달리한 청국장 제조실험에서 발효 18일까지 암모니아태 질소량의 감소가 거의 없었으나 유카추출물을 첨가한 시험구에서 암모니아태 질소생성량이 감소하였다고 하였다. 그러나 *Bacillus subtilis* p01균주를 이용한 본 실험에서는 배양 3-6일에 암모니아태 질소가 가장 많이 생성되었고, 그후 감소하는 경향을 보여 사용 균주에 따라 암모니아태 질소 생성에 현저한 차이를 보였으며, 유카 추출물을 첨가한 청국장에서 암모

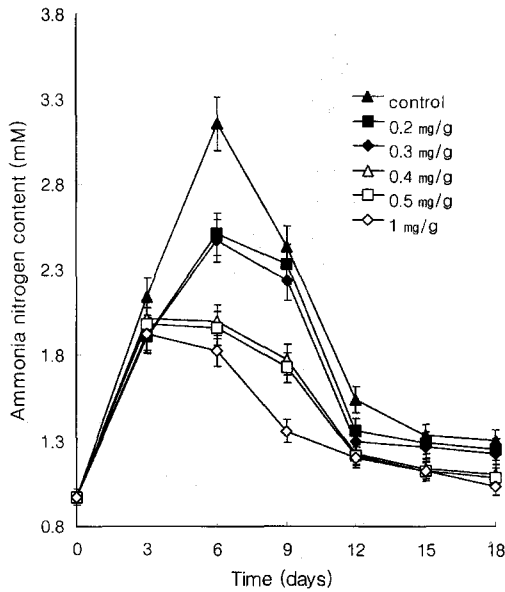


Fig. 2. Changes of ammonia-type nitrogen content in Chungkookjang with Yucca extract fermented by *Bacillus subtilis* p01. \*mg/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g.

니아태 질소의 생성이 낮게 나타났다.

이는 Wallace 등<sup>4)</sup>이 유카 추출물이 ammonia binding capacity가 있어 유카 첨가 시 rumen에서의 암모니아 양을 줄였다고 보고 한 바와 같이 청국장에서 생성되는 암모니아를 감소시킨 결과라 생각된다. Wang 등<sup>13)</sup>은 유카 첨가 시 rumen 내의 암모니아가 현저하게 감소하였다고 보고하였다. Makkar 등<sup>14)</sup>도 rumen내 yucca steroid saponins를 투여할 경우 rumen 발효 시 암모니아 가스의 발생이 30~63% 정도의 감소를 보였다고 보고하였다. Piya 등<sup>15)</sup>의 실험에서도 유카의 첨가가 반추위에서의 암모니아태 질소의 양을 감소시켰다고 하였다. 이상의 연구에서 유카의 첨가는 암모니아 질소의 생성을 감소시킬 수 있었다.

**효소 활성에 미치는 영향.** 유카 추출물의 첨가가 청국장의 amylase 효소 활성에 미치는 효과를 조사하기 위하여 유카첨가량을 달리했을때의 결과는 Fig. 3과 같다. *Bacillus subtilis* p01 균주로 제조된 청국장에서 amylase 활성은 숙성 12일 까지 증가를 보이다 그 후 다소 감소하였다. 유카 추출물 첨가구의 경우 대조구에 비해 효소활성이 높았으며, 특히 0.5 mg/g 첨가 시 가장 높게 나타났으며 효소 활성의 감소도 가장 적었다. 그러나 유카 추출물을 1.0 mg/g첨가한 청국장은 대조구나 다른 시험구보다 효소활성이 높았으나, 0.5 mg/g을 첨가한 경우 보다는 낮았으며 숙성 9일 이후에 효소 활성이 감소함을 보였다. 이상에서와 같이 유카 추출물 첨가 시 높은 효소 활성을 나타내는 것은 유카 추출물을 일정량 사용 시에는 *Bacillus subtilis* p01의 생육을 촉진시켜 효소생성의 증가에 기인하는 것으로 생각된다.

Masazumi 등<sup>15)</sup>은 유카에서 추출한 사포닌을 이용한 항 미생물에 관한 실험에서 *Bacillus subtilis*는 1000 µg/ml일 때 저해를 받았으며, *Staphyococcus aureus*의 그람 양성균과 *Proteus*

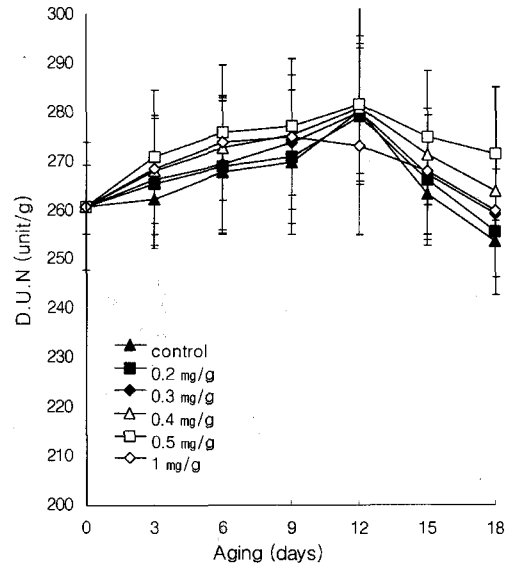


Fig. 3. Changes of the amylase activity in Chungkookjang with Yucca extract fermented by *Bacillus subtilis* p01. \*mg/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g.

*vulgaris* 등 음성세균과 관련하여 사포닌 농도에 따른 억제력이 다르다고 하였다. Valdez 등<sup>16)</sup>은 유카의 구성성분인 sarsaponin을 *in vitro* 실험 시 일정농도에서 세균수가 증가함을 보였으며 낮은 농도로 첨가 시에는 rumen 내에서 starch 소화력이 증가하지만 높은 농도로 첨가 시에는 소화력이 감소한다고 하였다. 또한 미생물의 기질 이용성도 77 ppm 농도 이상에서는 저해를 받는다고 하였다. 이는 본 실험의 결과와 유사하여 유카 추출물을 일정 농도 첨가 시에는 미생물의 생육을 촉진시키지만, 일정 농도 이상 첨가 시에는 균의 생육을 억제시켜 효소활성이 감소된 것에 기인하며, 최적 유카 첨가량의 차이는 균주 특성 차이에서 오는 것으로 생각된다.

또한 청국장 제조 시 유카 추출물의 첨가가 청국장의 protease 효소 활성에 미치는 효과를 조사하기 위하여 숙성 기간에 따른 protease 활성 변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 제조된 청국장을 20°C에서 숙성시킬 때 숙성 9일에 최고 높은 효소활성을 보였으며, 그 이후 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 유카 추출물 첨가구의 경우 0.5 mg/g을 첨가한 청국장의 protease 활성이 숙성 9일에 가장 높은 값을 보였고 1 mg/g 첨가한 경우에는 0.4~0.5 mg/g을 첨가 시보다 효소 활성이 낮았으며 숙성 12일에는 무 첨가구와 유사한 효소활성을 보였다. Lee 등<sup>12)</sup>은 다양한 균주를 이용한 청국장 제조실험에서 발효 72시간까지 protease 효소 활성이 계속 증가되었으며, *B. subtilis* 보다는 *B. natto*를 이용한 청국장에서 효소활성이 가장 높았다고 하였다. 또한 Suh 등<sup>17)</sup>도 *B. subtilis*를 이용한 청국장에서 숙성 8일까지 neutral protease 효소활성이 계속 증가하다 숙성 18일까지 감소하였으나 alkaline protease 효소활성은 계속 증가한 후 감소하였으나 숙성 18일 이후 증가를 보였다고 하여 청국장 제조시 사용균주와 배양조건에 따라 효소활성과 배양기간에 따른 효소활성의 변화도 다른 것으로 생각된다.

Ko 등<sup>18)</sup>과 Bae 등<sup>19)</sup>은 사료에 유카를 첨가하여 투여 시 돼

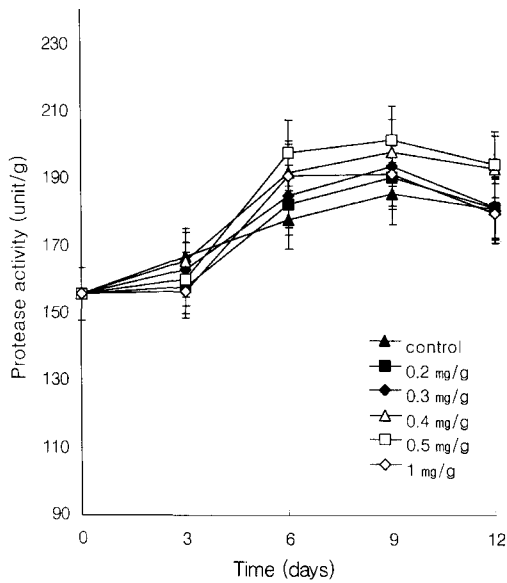


Fig. 4. Changes of the protease activity in Chungkookjang with Yucca extract fermented by *Bacillus subtilis* p01. \*mg/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g.

지에서의 단백질 소화력이 증가하였다고 보고하였고 유카의 양을 일정 농도 이상 첨가 시 효과가 감소한다고 하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

**유기산 함량의 변화.** *Bacillus subtilis* p01균주로 제조된 청국장의 숙성 기간 중 유기산의 변화는 Table 1과 같다. 청국장의 숙성기간이 증가함에 따라 citric acid, fumaric acid는 증가하였으며, acetic acid는 숙성 초기에 599.05 mg%에서 24시간 후에 710.23 mg%로 증가하였다가 48시간에서 231.45 mg%로

감소함을 보였고, malic acid는 숙성 기간이 증가함에 따라 점차 감소하였다. 반면 succinic acid는 숙성 초기에는 검출되지 않다가 숙성 48시간에 36.73 mg%가 검출되었다. 유카 추출물 첨가구들의 경우 0.4 mg/g 첨가 시 숙성 기간동안 citric acid, fumaric acid, acetic acid, succinic acid 모두 숙성 기간이 증가할 수록 증가함을 보였으며, 0.5 mg/g 첨가 시 숙성기간 동안 citric acid, acetic acid, malic acid, succinic acid는 모두 증가함을 보였으나, 반면 fumaric acid는 숙성 초기에 0.07 mg%에서 숙성 48시간에 0.05 mg%로 감소함을 보였다. 유카 추출물 1 mg/g첨가시에는 유카 추출물을 첨가한 다른 시험구에 비해 유기산 함량이 감소하는 경향을 보였다.

Sulistyo 등<sup>20)</sup>은 natto 발효물에 휘발성 유기산인 acetic acid가 생성되고 그 다음으로 iso-butyric acid, iso-valeric acid, malic acid 등도 발효 산물로 생성되었다고 하였다. Son 등<sup>21)</sup>이 청국장 발효 초기에 비휘발성 유기산인 oxalic acid, citric acid, fumaric acid 등이 포함되어 있었다고 보고하였고 lactic acid는 발효가 진행될수록 증가하다 감소하였다는 보고하였다.

**향기성분에 미치는 영향.** 청국장 제조시 유카 추출물 첨가에 따른 향기성분의 변화를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 유카 추출물을 첨가하지 않은 청국장에서 2-methylpyrazine과 4-methylpyrazine은 숙성 기간이 경과함에 따라 증가하였으며, 2,5-dimethylpyrazine은 숙성 초기에 검출되지 않지만 숙성 2일에 최고치를 보이다가 숙성 4일 이후 감소를 보였다. 2,6-dimethylpyrazine은 숙성 4일에 최고치를 보인 후 6일째 감소를 보였고, 2,3,5-trimethylpyrazine은 숙성 2일째 최고치를 보였다가 숙성 4일 이후 감소를 보였으며 tetramethylpyrazine은 숙성 기간 동안 일정하게 유지되었다.

0.5 mg/g의 유카 추출물을 첨가한 청국장은 2-methylpyrazine

Table 1. Changes of organic acids contents in Chungkookjang fermented by *Bacillus subtilis* p01

(unit: mg%)

Treatments*	Organic acid	0 hr	24 hr	48 hr
Control	Citric acid	239.84	289.98	598.59
	Fumaric acid	0.07	0.10	0.12
	Acetic acid	599.05	710.23	231.46
	Malic acid	198.22	124.06	43.61
	Succinic acid	0	0	36.73
0.4 mg/g	Citric acid	239.84	288.95	313.42
	Fumaric acid	0.07	0.07	0.08
	Acetic acid	599.05	650.28	682.07
	Malic acid	198.22	259.16	258.70
	Succinic acid	0	52.70	54.34
0.5 mg/g	Citric acid	239.84	281.75	529.70
	Fumaric acid	0.07	0.07	0.05
	Acetic acid	599.05	634.43	793.61
	Malic acid	198.22	222.80	248.91
	Succinic acid	0	0	66.64
1 mg/g	Citric acid	239.84	221.75	252.58
	Fumaric acid	0.07	0.06	0.057
	Acetic acid	599.05	627.90	646.76
	Malic acid	198.22	219.07	227.54
	Succinic acid	0	0	0

\*mg/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g

Table 2. Changes of volatile compound contents in Chungkookjang fermented by *Bacillus subtilis* p01

(unit: ppm)

Treatments	Flavor compounds	Time (days)			
		0	2	4	6
Control	2-Methylpyrazine	0.001566	0.009544	0.068877	0.097475
	4-Methylpyrazine	0	0.009544	0.011479	0.017723
	2,5-Dimethylpyrazine	0	0.267238	0.252534	0.008861
	2,6-Dimethylpyrazine	0.015657	0.054422	0.057394	0.044307
	2,3,5-Trimethylpyrazine	0.015657	0.038177	0.011479	0.008861
	Tetramethylpyrazine	1.142956	1.047721	1.04457	0.954948
0.5 mg/g	2-Methylpyrazine	0.001566	0.08548	0.092016	0.104634
	4-Methylpyrazine	0	0.011502	0.012211	0.014948
	2,5-Dimethylpyrazine	0	0.280863	0.276533	0.246226
	2,6-Dimethylpyrazine	0.015657	0.024423	0.057510	0.041038
	2,3,5-Trimethylpyrazine	0.015657	0.036634	0.011502	0.007474
	Tetramethylpyrazine	1.14295	1.11124	1.05382	1.02594
1.0 mg/g	2-Methylpyrazine	0.001566	0.052587	0.090843	0.093782
	4-Methylpyrazine	0	0.013147	0.018169	0.023445
	2,5-Dimethylpyrazine	0	0.223494	0.260593	0.296975
	2,6-Dimethylpyrazine	0.015657	0.026293	0.063590	0.007815
	2,3,5-Trimethylpyrazine	0.015657	0.039440	0.010424	0.007815
	Tetramethylpyrazine	1.14295	1.15371	1.09412	0.95971

\*g/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g

Table 3. Change of cis-3-hexanol contents in Chungkookjang fermented by *Bacillus subtilis* p01

(unit: ppm)

Treatments	Days				
	0	2	4	5	6
Control	0.001566	0.001909	0.004592	0.00377	0.004431
1.0 mg/g*	0.001566	0.001315	0.003634	0.003127	0.003126

\*g/g: mg of Yucca extract added to Chungkookjang g

과 4-methylpyrazine은 숙성 6일째 까지 서서히 증가하였으며, 2,5-dimethylpyrazine은 숙성 초기 검출되지 않다가 숙성 2일째 최고치를 보였다. 2,6-dimethylpyrazine은 숙성 4일에 최고치를 보이다가 숙성 6일에 다소 감소하였다. 2,3,5-trimethylpyrazine은 2일째 최고치를 보이다가 점차 감소하였으며, tetramethylpyrazine은 숙성기간 동안 점차 감소하였다. 유카 첨가구와 무 첨가구들을 비교 시 유카 추출물 첨가구에서 숙성 6일 까지 2,5-dimethylpyrazine의 함량이 높게 유지 되었다.

Sugahara 등<sup>22)</sup>은 가열한 대두에 *B. natto*균을 접종하여 만든 시료에서 함황화합물과 pyrazine류를 동정하였고, 그중에서 2,5-dimethylpyrazine함량이 2,3,5-trimethylpyrazine함량보다 많았다고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 일치하는 경향을 보였다. 또한 Table 3에서와 같이 불쾌취로 작용되는 cis-3-hexanol은 유카 추출물을 1.0 mg/g 첨가하였을 때 무 첨가구와 비교 시 다소 감소하였다.

이상의 실험에서 *B. subtilis* p01균주를 이용하여 청국장 제조 시 유카 추출물의 첨가는 아미노태 질소량과 효소활성을 증가시키고, 암모니아태 질소를 감소시켰으며, cis-3-hexanol을 감소시키는 것으로 나타나 청국장 숙성의 촉진과 향의 개선에 효과가 있는 것으로 나타났다.

## 참고문헌

- Piya, C., Hong, S. H., Choi, Y. J., Hwang, I. H., Lee, S. S. and Ha, J. K. (2001) Effect of yucca extract on in vitro fermentation by mixed ruminal microorganism. *J. Anim. Sci. Technol.* **43**, 707-720.
- Robert B., Harris, D. H. and Tom, L. (1978) Yucca plant saponin in the treatment of hypertension and hypercholesterolemia. *J. Appl. Nutr.* **30**, 374-381.
- Segal, R. and Schlosser, E. (1975) Role of glycosidases in the membranolytic, antifungal action of saponins. *Arch. Microbiol.* **104**, 147-150.
- Wallace, R. J., Arthaud, L. and Newbold, C. J. (1994) Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentration and ruminal microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 1762-1767.
- Yeo, J. and Kim, K. I. (1997) Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science* **76**, 381-385.
- In, J. P., Lee, S. K., Ahn, B. K., Chung, I. M. and Jang, C. H. (2002) Flavor improvement of *Chungkookjang* by addition of Yucca (*Yucca shidigera*) extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**,

- 57-64.
7. Yoon, K. S. (1988) Changes of enzymatic activities during the fermentation of soybean-soypaste by *Aspergillus* spp. MS Thesis, Konkuk University, Korea.
  8. Anson, M. L. (1939) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **22**, 79-85.
  9. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists (1995) Vol. 2, 11-16.
  10. Joo, H. K, and Yun, S. E.(1997) Improvement on flavor and taste of Chungkookjang by freeze denaturation of soybean. *Daesan Nonchong* **5**, 161-174.
  11. Choi, B. D. (1997) Studies on the changes of the quality and chemical compositions in the aging of the *Chungkookjang* prepared with frozen soybeans. MS Thesis, Konkuk University, Korea.
  12. Lee, B. Y., Kim, D. M. and Kim, K. H. (1991) Studies on the change in rheological properties of *Chungkookjang*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 478-484.
  13. Wang, Y., Mcallister, T. A., Newbold, C. J., Rode, L. M., Cheeke, P. R. and Cheng, K. J. (1998) Effect of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (Rusitec). *Animal Feed Sci. Technol.* **74**, 143-153.
  14. Makkar, H. S., Sen, S., Blummel, M. and Becker, K. (1998) Effects of fraction containing saponins from *Yucca schidigera*, *Quillaja saponaria* and *Acacia auriculiformis* on rumen fermentation. *J. Agri. Food Chem.* **46**, 4324-4328.
  15. Masazumi, M., Yukiishi, T., Hitoshi, M., Kenji, M., Osamu, T., Takao, I., Kazuhiro, O., Ryoji, K. and Kazuo, Y. (2000) Antiyeast steroidal saponins from *Yucca schidigera* (Mohave *Yucca*), a new anti-food-deteriorating agent. *J. Nat. Prod.* **63**, 332-338.
  16. Valdez, F. R., Bush, L. J., Goetsch, A. L. and Owens, N. (1986) Effect of steroidal saponins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **69**, 1568-1575.
  17. Suh, J. S., Lee, S. G. and Ryu, M. K. (1982) Effect of *Bacillus* strains on the Chungkookjang processing II. Change of the components and enzyme activities during the storage of *Chungkookjang*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **14**, 309-314.
  18. Ko, T. G., Kim, J. D., Bae, S. H., Han, Y. K. and Han, I. K. (2000) Study for the development of antibiotics-free diet for weanling pigs. *Kor. J. Anim. Sci.* **42**, 37-44.
  19. Bae, K. H., Ko, T. G., Kim, J. H., Cho, W. T., Han, Y. K. and Han, I. K. (1999) Use of metabolically active substance to substitute for antibiotics in finishing pigs. *Kor. J. Anim. Sci.* **41**, 23-30.
  20. Sulisty, J., Naotoshi, T., Kazumi, F. and Kan, K. (1988) Production of Natto starter. *Nippon shokuchin Kogyo Gakkaishi* **35**, 280-281.
  21. Son, D. H., Kwon, O. J., Ji, W. D., Choi, U. K., Kwon, O. J., Lee, E. J., Cho, Y. J., Cha, W. S. and Chung, Y. G. (2000) The quality of Chungkookjang prepared by *Bacillus* CS-17 during fermentation time. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 1-6.
  22. Sugahara, E., Ito, T., Odagiri, S., Kubota, K. and Kobayashi, A. (1985) Comparison of odor components of natto and cooked soybean. *Agri. Biol. Chem.* **49**, 311-318.

#### Effect of *Yucca (Yucca schidigera)* Extract on Quality Characteristics of Chungkookjang using *Bacillus subtilis* p01

Jae-Pyung In and Si-Kyung Lee\* (Department of Appl. Biol. & Chem., Konkuk University, 1 Hwayang Dong Kwanginku, Seoul, Korea 143-703)

**Abstract:** This study was carried out to investigate the effect of yucca extract on the quality characteristics of Chungkookjang using *Bacillus subtilis* p01. The changes in the contents of amino-type N, ammonia type N, volatile compounds and organic acids, and those in the activities of  $\alpha$ -amylase and protease were also determined during aging of Chungkookjang. The amount of amino-type N increased gradually with time for aging. The content of amino-type N was slightly higher in Chungkookjang fermented by adding yucca extract than in the control without yucca extract. The content of ammonia-type N was slightly lower in Chungkookjang with yucca extract than in the control without yucca extract. The activities of amylase and protease were higher in Chungkookjang with yucca extract than in the control and the highest in Chungkookjang containing 0.5 mg/g of yucca extract. Organic acid contents in Chungkookjang was the highest at the initial period of fermentation. The contents of organic acids in Chungkookjang with yucca extract was higher than that in control for 48 hr of aging. The amounts of 2,5-dimethylpyrazine were increased by addition of yucca extract, while those of cis-3-hexanol were decreased.

Key words: *Yucca*, *chungkookjang*, enzyme activity, amino type-N, aging

\*Corresponding author