

Bacillus subtilis NRLSI IV로 제조한 청국장의 접종포자농도 및 발효온도에 따른 품질 특성

김경미 · 김행란 · 유선미 · 김진숙 · 최정숙
농촌진흥청 농업과학기술원 농촌자원개발연구소

Quality characteristics of *chunggugjang* prepared by *Bacillus subtilis* NRLSI IV with
different inoculum levels and fermentation temperatures

Kyung-Mi Kim, Haeng-Ran Kim, Seon-Mi Yoo, Jin-Sook Kim, Jeong-Sook Choe
Rural Resource Development Institute, NIAST, RDA, Suwon, Korea

Abstract

This study, investigated the effect of changes in inoculum levels and fermentation temperature of *chunggugjang* prepared with *Bacillus subtilis*(*B. subtilis*) NRLSI IV on the quality characteristics. In *chunggugjang* prepared at different inoculum levels, viable cell count, reducing sugar and amino type nitrogen were maximized at 10^6 CFU/mL, whereas relative viscosity of viscous substance and hardness peaked at 10^2 CFU/mL. In sensory evaluation, *chunggugjang* made with 10^2 CFU/mL showed higher values of appearance, color, taste and viscosity and a lower value of off-flavor than that made at other inoculum levels. Based on the results of ammonia type nitrogen, relative viscosity and sensory evaluation, the optimum inoculum level for *chunggugjang* prepared by *B. subtilis* NRLSI IV was 10^2 CFU/mL. In the second step, the effect of different fermentation temperatures on the quality changes of *chunggugjang* incubated with 10^2 CFU/mL of *B. subtilis* NRLSI IV were investigated. The viable cell count was maximized at 40°C, but minimized at 45°C. Reducing sugar was not significantly different from 30°C to 40°C but was increased at 45°C. Increasing fermentation temperature decreased the content of amino type and ammonia type nitrogen. *Chunggugjang* prepared at 40°C showed high sensory evaluation result in microorganism growth, appearance, taste and viscosity and particularly had low off-flavor.

Key words: *chunggugjang*, *Bacillus subtilis* NRLSI IV, inoculum level, fermentation temperature

1. 서 론

청국장은 우리나라의 전통적인 대두 발효식품 중 하나로 영양면에서 된장이나 고추장보다 단백질과 지방 함량이 높은 식물성 고 영양식품으로 육류자원이 부족하고 쌀이나 보리를 주식으로 하는 농경문화를 발달시

켜 온 우리 민족에게 예로부터 부족되기 쉬운 필수아미노산 및 지방산의 급원식품으로서 중요한 역할을 담당해 왔다(Kim KJ 등 1982, Suh JS 등 1983). 특히 청국장은 된장, 고추장에 비해 제조방법이 간단하여 인스턴트 장류식품(You TJ 1988)이면서 콩 자체 성분과 비교 시 필수아미노산, 비타민 B₁, B₂, 나이아신, 판토텐산, 각종 효소가 더 많이 들어있기 때문에 소화흡수율이 매우 높으며 변비 개선에도 유효하다(Choe JS 등 1996). 또한 청국장은 인체에 유익한 *Bacillus*. sp.가 장 내에서 부패균의 활동을 억제하여 부패균이 만드는 암모니아, 인돌, 아민 등 발암 촉진물질을 감소시키며,

Corresponding Author: Haeng Ran Kim, Rural Resource Development
Institute, NIAST, RDA, Suwon, Korea
Tel: 82-31-299-0590
Fax: 82-31-299-0553
E-mail: kimhr@rda.go.kr

또한 *Bacillus* sp.가 생성하는 다당류가 이러한 유해물질을 흡착하고 배설시키는 작용을 한다(In JP 등 2004, Matsui T 등 2004). 그러나 식생활의 서구화와 자가제조에의 어려움, 청국장 특유의 냄새, 낮은 저장성으로 인해 생산의 어려움 및 소비자의 거부현상이 증대되고 있는 실정이다(Choe JS 등 1996).

청국장에 관한 연구로는 발효과정 중, 또는 균주를 탈리하였을 때 청국장의 질소화합물, 향기성분 및 일반성분의 변화 등(Joo HK 1971, Park KI 1972^a, Park KI 1972^b, Lee HJ와 Suh JS 1981, Suh JS 등 1982, Suh JS 등 1983, Lee SH 등 1983, Sung NJ 등 1984, Choi SH와 Ji JA 1989)에 관한 연구가 보고되었다. 최근 들어서는 γ -glutamyltranspeptidase, isoflavone, saponin, 올리고당 등이 청국장에 다량 함유되어 있음이 규명되어 청국장의 혈전 용해능, 면역기능 강화, 항산화 효과, phytoestrogen 효과 등(Chung KS 등 1996, Kim WK 등 1996, Heo S 등 1998)에 관한 연구가 이루어지고 있다. 현재 제조되고 있는 청국장은 증자한 대두에 재래식으로 벗짚을 이용하여 발효시키거나 *B. subtilis*를 접종하여 2-3일간 발효시킨다. 이 때 미생물 유래의 효소에 의해 그 특유의 맛과 향기가 생성되며, 원료 대두의 당질과 단백질에서 유래된 끈적끈적한 점질물이 다량 생성되어 높은 점도를 가지게 된다(Lee YL 등 1992). 하지만 미생물을 이용하기 때문에 원료의 종류, 사용균주, 발효 온도 및 시간 등 발효조건에 차이에 따른 특유의 풍미가 청국장의 품질에 큰 영향을 미치는 요인이 되고 있다(Cheong DH와 Shin SK 1994). 또한 청국장은 된장, 고추장, 간장과는 달리 먹는 시기가 계절적인 한계가 있고 이용면에서도 제약이 있어서 대부분 가내수공업형태로 제조, 유통하고 있는 양이 많으며 가정에서 직접 만들어 먹는 실정이며(Lim CB 2002), 재래식 청국장의 경우 비위생적이고 균일한 품질을 제조할 수 없을 뿐만 아니라 보존 및 유통의 어려움을 가지고 있다.

풍부한 영양을 함유하고 우수한 기능성을 지닌 청국장의 계승발전과 청국장 산업의 활성화를 위해서는 대량생산용 우수균주 개발, 제조법의 표준화 및 품질 균일화가 선행되어야 한다. 이와 관련하여 *B. licheniformis* B1, *B. subtilis* CHO-99, *Bacillus* sp. CS-17, *B. subtilis* K-21 등 저이취 및 관능적 우수성을 나타내는(Choi UK 등 2002, Kim YS 등 2003, Kwon HY 등 2004) 청

국장용 균주가 연구된 바 있다. 그러나 청국장 발효조건으로 발효온도와 발효시간에 대한 연구가 대부분이며 종균의 접종포자농도에 대한 연구는 보고되지 않고 있다. 일본 낫또의 경우는 제조공정이 표준화되어 있어 종균 접종 시 원료 콩 30 g당 낫또균 포자농도가 10^5 CFU/mL인 현탁액 1 mL를 접종하고 있다(Chang CM과 Kim TY 1996). 그러나 우리나라 청국장 생산업체에서는 표준화된 제조공정으로 청국장을 생산하는 업체는 거의 없는 실정으로 청국장 제품의 균일화를 위하여 종균접종 포자농도에 따른 발효양상과 발효과정 중 이화학적 특성 및 관능적 특성에 대한 연구가 이루어져야 한다.

이에 본 연구는 농촌진흥청 농촌자원개발연구소에서 전국 13개 지역에서 수집한 자가생산 또는 시판 청국장으로부터 분리한 균주들 중 단백질 분해력과 발효능이 우수한 *B. subtilis* NRLSI IV(Yoo SM와 Chang CM 1999)를 이용하여 청국장을 제조한 후, 종균접종 포자농도별·발효온도별 품질특성을 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

재 료

원료 대두는 농촌진흥청 작물시험장에서 단엽콩을 분양받아 사용하였다. 사용균주는 농촌진흥청 농촌자원개발연구소의 보유 균주인 *B. subtilis* NRLSI IV를 사용하였다.

청국장 제조방법

단엽콩을 물에 씻어 상온에서 20시간 수침하고 121°C에서 40분간 증자하여 80°C로 식힌 다음 *B. subtilis* NRLSI IV 균주의 포자농도를 10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 CFU/mL로 조절된 종균을 증자 대두 무게의 1%가 되게 접종하여 40°C(RH 90%)에서 48시간 배양하였다. 또 증자한 콩에 10^2 CFU/mL의 포자 현탁액을 증자 대두 무게의 1%가 되도록 접종하고 30, 35, 40, 45°C에서 각각 48시간 동안 발효시켰다.

생균수 측정

청국장 1 g을 취하여 멸균생리식염수로 10배 희석법으로 희석하여 plate count agar(Difco Lab. Detroit, MI, USA)에 도말한 후 30°C에서 24~48시간 배양한 후

colony를 계수하여 생균수(CFU/g)로 나타내었다.

청국장 발효 중의 이화학적 특성

청국장 발효 동안의 pH 변화는 pH meter(Orion 240, Orion Reseach Inc. Boston, MA, USA)로 측정하였고, 아미노태 질소(NH₂-N)는 formol 적정법(AOAC 1990), 암모니아태 질소(NH₃-N)는 Indolphenol법(Weatherburn MW 1967), 환원당은 Somogyi변법(채수규 등 1997)으로 측정하였다.

점질물의 상대점도

청국장을 5배 희석하여 원심분리 후 상등액 10 mL를 30℃ 항온수조에서 Ostward 점도계(Cannon instrument Co. State College, PA, USA)에 넣고 낙하시간을 증류수와 비교하여 상대점도(Cps)로 나타내었다.

색도 및 경도

표면색도는 색차계(Color-eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, U.S.A)로 측정하여 Hunter color value에 의한 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값으로 나타내었고, 이 때 사용한 표준 백색판의 L, a, b값은 각각 96.44, -0.63, 1.32였다. 청국장의 경도는 texturometer (TA-XT2, England)의 stable micro system(option: return to start, distance: 70%, trigger force: auto log, test speed: 1.0 mm/sec)을 이용하여 plunger(φ10 mm)로 발효콩알의 중앙을 눌렀을 때 얻어지는 force vs time graph로부터 산출된 최고의 peak값으로 표기하였다.

관능검사

관능검사는 발효된 콩 자체를 마쇄하지 않은 상태에서 특성평가하였고 10명의 훈련된 관능검사 요원에 의하여 9점 척도법을 사용하여 평가하였다. 평가 항목은 외관, 색상, 균 형성 정도, 이취, 청국장 맛, 점질물의 점도 등 6가지 특성에 대하여 평가하도록 하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복하였고 SAS Package(Version 8.0, 1999, Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA)를 사용하여 일원분산분석(ANOVA)을 실행하였고, 시료간 차이를 검증하기 위하여 Duncan의 다중비교를 수행하였다.

III. 결과 및 고찰

포자농도별 청국장의 생균수 및 이화학적 특성

포자농도별 청국장의 생균수 변화는 Table 1과 같다. 포자농도가 10⁶ CFU/mL까지 증가할수록 생균수는 증가하였으나 10⁸ CFU/mL로 접종한 경우에는 생균수가 감소하였다. Kwon HY 등(2004)은 *B. subtilis* 경우 발효 16시간까지는 생균수가 증가하다가 27시간 발효시 감소하였고 자연발효의 경우는 지속적으로 생균수가 증가하였으나 인위적으로 특정균주를 접종한 경우의 8시간 발효시 나타나는 균수에 상당할 뿐이라고 하였다. 따라서 본 연구에서 10⁸ CFU/mL농도에서 생균수가 감소한 이유는 포자농도에 비례하여 균의 증식이 활발하다가 10⁸ CFU/mL농도에서는 포자농도가 미생물의 영양원에 비해 과다하게 높아 오히려 균의 증식이 늦어지기 때문인 것으로 생각된다.

B. subtilis NRLSI IV로 제조한 청국장의 이화학적 특성을 살펴본 결과(Table 1), 포자농도별 청국장의 pH는 7.27-7.64였고, 10⁴ CFU/mL이상 농도에서 10² CFU/mL 농도보다 pH가 더 높았다. 발효 중의 pH변화에 관한 보고는 많은 편이며 pH 6.25-6.84사이의 증가한 대두에 *B. subtilis*를 접종하여 40℃내외에서 72시간 발효시켰을 때 pH는 7.25-8.26의 범위를 나타내어 알카리화되는 것으로 보고되고 있으며 그 원인은 발효시 생성되는 ammonia 등의 gas 때문인 것으로 여겨진다(Sur JS 등 1982)고 하였다. 따라서 *B. subtilis* NRLSI IV 포자농도별로 제조한 청국장의 경우, 포자농도가

Table 1. Physicochemical properties of chunggugjang prepared on the different inoculum levels of starter

Inoculum level (CFU/mL)	Physicochemical properties					Viable cell count (Log CFU/g)
	pH	Reducing sugar(%)	NH ₂ -N (%)	NH ₃ -N (mg%)	Relative viscosity(Cps)	
10 ²	7.27 ^b	1.45 ^c	0.34 ^c	19 ^b	2.80 ^a	10.04
10 ⁴	7.64 ^a	1.36 ^d	0.42 ^b	35 ^a	2.45 ^d	10.11
10 ⁶	7.58 ^a	1.81 ^a	0.51 ^a	37 ^a	2.73 ^a	10.46
10 ⁸	7.56 ^a	1.52 ^b	0.40 ^{bc}	34 ^a	2.38 ^d	9.97

10^4 CFU/mL 이상에서 균의 증식이 활발한 것으로 여겨진다.

환원당 함량은 10^2 , 10^4 CFU/mL 농도에서는 각각 1.45%, 1.36%로 낮은 편이었으나 10^6 CFU/mL 농도에서 가장 높은 1.81%를 나타내었고 10^8 CFU/mL 농도에서는 다시 감소하였다. 기존의 보고에 의하면 환원당 함량은 발효초기에는 급격히 증가하다가 그 이후에는 약간 감소하는 경향을 보이며 이는 발효초기에 균체가 급격히 증식되면서 생성된 amylase에 의해 환원당 함량이 증가하다가 대부분 균체증식의 기질로 다시 이용됨으로 인해 그 함량이 감소하게 된다(Lee HJ and Sur JS 1981, Lee BY 등 1991). 따라서 10^2 - 10^6 CFU/mL에서는 포자농도가 높을수록 균의 증식이 활발해져서 환원당 함량이 증가하였으나 10^8 CFU/mL 농도에서는 생균수가 적어서 생성된 환원당 함량이 낮은 것으로 여겨진다.

청국장장의 구수한 맛은 아미노산 성분인 아미노태 질소 함량에 따라 좌우되며 또한 청국장장의 중요한 품질 지표로서 발효숙성 중 콩의 단백질이 분해되어 생성되는 물질이다(Kim KJ 등 1982). 포자농도에 따른 아미노태 질소 함량을 측정된 결과, 10^2 CFU/mL에서 0.34%로 가장 낮았고 10^6 CFU/mL 농도에서 0.51%로 가장 높았다. 청국장장의 경우 보건복지부의 식품공전에 설정된 아미노태 질소의 규격기준은 0.28%이상으로 본 실험에서 가장 낮은 포자농도인 10^2 CFU/mL에서도 기준치 이상의 아미노태 질소를 함유하고 있었다. 본 연구에서 아미노태 질소 함량이 벗짚을 이용한 청국장장의 경우보다 높았는데(Kim KJ 등 1982) 이는 순수 분리한 *B. subtilis* NRLSI IV를 이용하여 청국장을 제조함으로써 청국장장의 단백질이 이용되기 쉬운 형태로 분해되어 품질이 향상됨을 확인할 수 있었다.

청국장장의 불쾌취는 *Bacillus*에 의해 생성되는 pyrazine 류와 함황화합물에서 유래하는 것으로 알려져 있다(Lee HC 1999). 청국장장의 불쾌취의 지표가 되는 암모니아태 질소 함량은 10^2 CFU/mL에서 19 mg%였으나 포자농도가 높아짐에 따라 급격히 증가하여 10^4 CFU/mL에서는 35 mg%였고, 그 이상의 농도에서도 비슷한 수준을 유지하였다. 청국장 발효과정중의 질소함량의 변화를 보면, 발효기간 중 주로 미생물이 분비하는 protease가 원료 대두의 단백질에 작용하여 먼저 수용성질소 형태로 가수분해되고 이어서 peptide를 거쳐

아미노태질소 형태로 가수분해하고 청국장장의 구수한 맛을 생성함과 동시에 발효가 계속 진행되면서 암모니아태 질소를 형성시킨다(Kim KJ 등 1982). 따라서 단백질이 분해되어 아미노태 질소 함량이 증가하는 것은 바람직하나 그 이상의 분해가 되어 암모니아태 질소 함량의 증가는 오히려 청국장장의 불쾌취를 주어 품질을 저하시키므로 암모니아태 질소의 생성을 조절할 필요성이 있다고 본다.

청국장장은 발효과정 중에 미생물이 생산하는 효소에 의해서 특유의 냄새와 맛을 내는 동시에 원료 콩의 당질과 단백질에서 유래된 levan form fructan과 polyglutamate의 중합물질인 끈적끈적한 점질물을 생산한다(Lee YL 등 1992). 이러한 청국장장의 점질물에서 혈전중에 탁월한 약리효과를 나타내는 혈전용해효소를 확인하였을 뿐만 아니라(Kim WK 등 1996, Heo S 등 1998), Youn HK 등(2001)은 청국장 점질물의 항 미생물 활성 효과를 보고하였다. 포자농도에 따른 청국장 점질물의 상대점도는 10^2 CFU/mL에서 2.80 Cps로 가장 높았으며 10^8 CFU/mL에서 가장 낮은 2.38 Cps를 나타내었다. Lee BY 등(1991)은 *B. subtilis*와 *B. natto*를 접종하여 40°C에서 48시간 발효 시 점질물의 농도 5%와 설탕 15%와 비교하였을 때 점질물의 농도 5%가 구성분자의 중합도가 상당히 크다고 보고하였고, 또한 점질물의 fibrinolytic activity는 105°C에서 5분간 열처리 시 효소활성이 90% 정도 유지되었으며 30분간 처리 시에도 45% 정도의 효소활성이 남아 있었다고 하였다. 따라서 청국장장의 점질물의 점도는 품질을 판정하는 중요한 역할을 할 수 있으리라 여겨진다.

포자농도별 청국장장의 색도 및 경도

포자농도별 청국장장의 색도와 경도 변화는 Table 2와 같다. 포자농도별 청국장장의 L값은 57.0~58.7를 나타냈으며, 10^8 CFU/mL에서 가장 높은 값을 보였다. a값은 5.3~5.7로 약간 갈색을 띠었고 b값은 10^8 CFU/mL에서 17.3으로 조금 증가하였으나 유의적 차이는 없었다. Kim JS 등(1998)은 전국 전통 청국장장의 평균치는 L값은 49.07, a값은 6.65, b값은 19.19로 보고하였는데 이는 고춧가루 등 양념류의 영향에 의한 차이로 생각된다. 또한 Choi UK 등(1998)은 청국장장의 숙성이 지속될수록 L값은 흑색에 가까워지고 a값은 적색을 띠고 b값은 약간 황색을 띠게 된다고 하였다.

포자농도별 청국장의 경도는 10^2 CFU/mL에서 432.9 g/φ10 mm로 유의적으로 높았으며, 그 이상의 포자농도에서는 350-380 g/φ10 mm로 큰 차이는 없었다. Lee HK 등(1996)은 청국장의 경도는 균의 생육상태, 효소에 의한 분해, 점질물과 관련이 있다고 보고하였고, Choi UK 등(1998), Son DH 등(2000)은 청국장 발효과정 중에 경도 변화는 발효시간이 경과함에 따라 점차 감소한다고 하였다. 따라서, 본 연구에서도 포자농도가 낮은 10^2 CFU/mL에서 가장 높은 경도를 보인 것으로 보아 10^4 CFU/mL 이상의 농도에서 발효가 더 진행되었음을 알 수 있었다.

포자농도별 청국장의 관능검사

B. subtilis NRLSI IV 균주를 포자농도별로 제조한 청국장의 관능검사 결과는 Table 3과 같다. 포자농도가 10^2 CFU/mL에서 외관, 색, 청국장 맛 및 점질물의 점도에서 유의적으로 높은 점수를 나타냈고, 이취는 유의적으로 낮은 수준을 나타냈다. 관능검사에서 점질물의 점도와 이취는 청국장의 이화학적 특성에서 암모니아태 질소 함량 및 상대점도와 일치하는 결과였다. 이상의 결과로부터 청국장의 품질과 가장 관련이 많은 암모니아태 질소 함량, 상대점도, 관능검사 등을 고려해 볼 때 *B. subtilis* NRLSI IV를 접종 시 적정 포자농도는 10^2 CFU/mL인 것으로 판단되었다.

Table 2. Hunter's color value and hardness of chunggugjang prepared on the different inoculum levels of starter

Inoculum level (CFU/mL)	Hunter's color value ¹⁾			Hardness (g/φ10 mm)
	L	a	b	
10^2	57.3 ^{bc}	5.7 ^a	16.7 ^a	432.9 ^a
10^4	58.1 ^{ab}	5.6 ^a	16.7 ^a	354.3 ^b
10^6	57.0 ^c	5.3 ^b	16.41 ^a	367.9 ^b
10^8	58.7 ^a	5.7 ^a	17.3 ^a	379.3 ^b

¹⁾ L; lightness, a; redness, b; yellowness

발효온도별 청국장의 생균수 및 이화학적 특성

B. subtilis NRLSI IV를 이용한 청국장 제조 시 적정 발효온도를 설정하고자 증자대두에 적정 포자농도인 10^2 CFU/mL를 접종한 후 각 온도별(30~45℃)로 48시간 발효시킨 후 청국장의 생균수와 이화학적 특성을 측정된 결과 Table 4와 같다. 40℃에서 발효시킨 청국장이 가장 많은 생균수를 보였고 45℃는 생균수가 가장 적은 것으로 보아 미생물 생육에 높은 온도로 판단되며 30℃와 35℃에서는 40℃보다는 작지만 유사한 수준을 보였다.

발효온도별 청국장의 pH는 30-40℃에서 7.10-7.41 수준이었고 45℃에서는 7.75였다. Kim KJ 등(1982)은 벧짚을 이용하여 제조한 청국장의 발효과정 중 pH 변화에서 40℃와 50℃에서 각각 48시간 발효시켰을 때 50℃에서 발효시킨 청국장 시료가 다소 높은 pH를 나타냈으며, 이는 발효온도가 높았기 때문이라고 하였다. 본 연구에서도 45℃일 때 다른 발효온도구에 비해 조금 높은 pH를 보였다.

환원당 함량은 발효온도가 높을수록 약간 증가하였으나 30-40℃에서는 유의적 차이는 없었다. 한편 45℃ 발효온도구의 환원당 함량은 1.74%로 약간 높은 수준을 나타냈다.

청국장의 아미노태질소 함량은 발효온도가 30℃일 때 가장 높은 0.42%였고 35, 40℃는 각각 0.36%, 0.34%로 유사한 수준을 보였고 45℃는 0.17%로 30℃에 비해 약 2.5배 낮은 함량을 보였다. 이러한 결과는 균의 증식의 부진으로 미생물이 분비하는 protease의 활성이 낮아서 원료 콩 단백질의 분해가 용이하게 일어나지 않아 나타난 현상으로 여겨진다.

발효온도별 청국장의 암모니아태 질소 함량은 발효온도가 높을수록 감소하였으며, 특히 45℃ 발효온도구의 암모니아태 질소 함량이 7 mg%로 매우 적었다. 이

Table 3. Sensory characteristics of chunggugjang prepared on the different inoculum levels of starter

Inoculum level (CFU/mL)	Sensory characteristics					
	Appearance ¹⁾	Color ¹⁾	Formation ²⁾ of Bacilli	Bad ²⁾ smell	Taste ¹⁾	Viscosity ³⁾
10^2	6.4 ^a	6.2 ^a	7.1 ^a	4.4 ^b	6.8 ^a	7.8 ^a
10^4	5.2 ^c	5.4 ^b	6.1 ^b	4.8 ^a	5.6 ^b	6.4 ^b
10^6	5.6 ^b	5.9 ^b	5.9 ^b	4.9 ^a	5.9 ^b	6.8 ^b
10^8	5.7 ^b	5.4 ^b	6.2 ^b	4.8 ^a	5.7 ^b	5.9 ^c

¹⁾ 9; very good, 5; moderate, 1; very bad

²⁾ 9; very much, 5; moderate, 1; very little.

³⁾ 9; strong, 5; moderate, 1; weak.

Table 6. Sensory characteristics of chunggugjang prepared on the different fermentation temperatures

Fermentation temperature(°C)	Sensory characteristics					
	Appearance ¹⁾	Color ¹⁾	Formation ²⁾ of Bacilli	Bad ²⁾ smell	Taste ¹⁾	Viscosity ³⁾
30	5.1 ^c	5.6 ^b	5.8 ^b	5.3 ^b	5.3 ^c	5.0 ^b
35	5.4 ^c	6.0 ^b	6.4 ^a	5.9 ^a	5.7 ^a	5.8 ^a
40	5.8 ^b	5.9 ^{ab}	6.5 ^a	5.0 ^b	5.7 ^a	5.9 ^a
45	6.1 ^a	6.2 ^a	5.9 ^b	5.0 ^b	5.4 ^{bc}	5.3 ^b

¹⁾ 9; very good, 5; moderate, 1; very bad

²⁾ 9; very much, 5; moderate, 1; very little.

³⁾ 9; strong, 5; moderate, 1; weak.

또한 아미노태 질소와 동일한 이유로 원료 콩의 단백질이 가수분해되어 peptide를 거쳐 암모니아태 질소를 생성하게 되는데 균의 증식이 활발하지 못해서 나타난 결과로 보여진다.

발효온도별 청국장 점질물의 상대점도는 30-40°C에서는 발효온도가 높을수록 증가하였으며 45°C 발효온도구의 상대점도(1.95 Cps)는 30°C(1.52 Cps)와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 청국장의 기능성 물질로 알려진 점질물의 점도는 40°C일 때 2.87 Cps로 유의적으로 높았다. Lee YR 등(1992)은 분리한 SB-1균을 *B. subtilis*로 동정하고 최적 발효온도 조건은 42°C에서 48시간 발효 시 청국장의 점질물의 생성이 가장 많았으며 아미노태 질소는 48시간 이후에 급격히 증가하였다고 하였으며, 따라서 42°C에서 48시간 발효시키는 것이 청국장의 풍미와 점질물의 생성 측면에서 가장 적당하다고 보고하였다. 또한 청국장의 발효 중에 생성되는 점질물은 원료 대두에서 유래한 당과 아미노산의 중합체로 대두의 단백질이 분해된 질소성분의 일부는 아미노태, 암모니아태 질소로 전환되고 나머지는 polyglutamate 대사에 이용되어지는 것으로 여겨진다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서 30°C에서 아미노태 질소 함량이 가장 높은 데 반해 점질물의 상대점도는 가장 낮게 나온 것은 질소성분이 polyglutamate 대사에 이용되는 것보다 암모니아태 질소로 전환이 많이 된 것이고 35°C,

40°C에서는 polyglutamate 대사에 많이 이용되는 것으로 여겨진다. 그리고 45°C의 경우는 균의 증식이 활발하지 못하여 아미노태 질소 함량 뿐 아니라 점질물의 상대점도는 낮았던 것으로 추측된다.

발효온도별 청국장의 색도 및 경도

발효온도별 청국장의 색도와 경도변화는 Table 5와 같다. L값은 발효온도에 따른 유의적 차이가 없었고 a값은 30-40°C에서는 큰 차이가 없었으나 45°C에서 조금 감소하였다. b값은 30°C에서 18.3으로 가장 높았고 다른 온도에서는 거의 차이가 없었다. 발효온도별 청국장의 경도는 320.3-478.3 g/φ10 mm로 발효온도가 높을수록 증가하였다.

발효온도별 청국장의 관능검사

B. subtilis NRLSI IV 균주를 이용하여 발효온도를 달리하여 제조한 청국장의 관능검사 결과는 Table 6과 같다. 외관은 발효온도가 높을수록 유의적으로 높은

Table 5. Hunter's color value and hardness of chunggugjang prepared on the different fermentation temperatures

Fermentation temperature (°C)	Hunter's color value			Hardness (g/φ10 mm)
	L	a	b	
30	61.3 ^a	5.7 ^{ab}	18.3 ^a	320.3 ^d
35	60.2 ^a	5.8 ^a	17.2 ^b	385.7 ^c
40	59.2 ^a	5.8 ^a	17.7 ^{ab}	407.4 ^b
45	61.1 ^a	5.4 ^b	17.2 ^b	478.3 ^a

Table 4. Physicochemical properties of chunggugjang prepared on the different fermentation temperatures

Fermentation temperature (°C)	Physicochemical properties					Viable cell count (Log CFU/g)
	pH	Reducing sugar(%)	NH ₂ -N (%)	NH ₃ -N (mg%)	Relative viscosity(Cps)	
30	7.41 ^b	1.43 ^b	0.42 ^a	41 ^a	1.52 ^c	9.43
35	7.10 ^d	1.43 ^b	0.36 ^b	22 ^b	2.11 ^b	9.40
40	7.27 ^c	1.46 ^b	0.34 ^b	19 ^b	2.87 ^a	10.00
45	7.75 ^a	1.74 ^a	0.17 ^c	7 ^c	1.95 ^c	9.20

점수를 보였고 색은 30°C에서 가장 낮았고 45°C에서 가장 높았다. 균 형성 정도, 청국장 맛 및 점질물의 점도에서는 40°C에서 가장 높은 점수를 나타냈으나 35°C와 유의적 차이는 없었다. 반면에 이취는 35°C에서 가장 높은 점수를 보였고 40°C에서 가장 낮은 점수를 보였다. 한편 45°C에서도 이취가 낮은 점수를 보였는데 이는 암모니아태 질소 함량이 낮았던 결과와 일치하는 것으로 발효가 되지 않아 이취가 적게 느껴진 것으로 여겨진다.

IV. 요약

B. subtilis NRLSI IV 균주를 이용하여 포자농도와 발효온도를 달리하여 제조한 청국장의 생균수, 이화학적 특성 및 관능적 특성의 결과는 다음과 같다.

포자농도별(10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 CFU/mL)로 제조한 청국장에서, 생균수, 환원당 및 아미노태질소는 10^6 CFU/mL 농도에서 가장 높은 반면, 기능성 물질로 밝혀진 점질물의 상대점도와 경도는 10^2 CFU/mL 농도에서 가장 높았다. 청국장의 이취 물질인 암모니아태 질소는 포자농도가 높아짐에 따라 급격히 증가하였다. 청국장의 관능검사 결과 10^2 CFU/mL 농도에서 외관, 색상, 청국장 맛 및 점질물의 점도에서 가장 높은 점수를 나타냈으며 이취는 가장 낮았다. 따라서 암모니아태 질소 함량이 낮고 상대점도 및 관능검사 결과가 우수한 조건의 청국장을 제조하기 위한 포자농도로 10^2 CFU/mL가 적절한 것으로 사료되었다.

적정 포자농도인 10^2 CFU/mL를 접종하여 발효온도별(30, 35, 40, 45°C)로 제조한 청국장의 특성을 살펴보면, 40°C에서 발효시킨 청국장의 생균수가 가장 많았고 45°C에서 가장 적었다. 환원당 함량의 경우 발효온도가 높을수록 약간 증가하였으나 30-40°C에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 아미노태 질소 함량은 발효온도가 30°C일 때 가장 높았고 45°C는 30°C에 비해 약 2.5배 낮은 함량을 보였고 암모니아태 질소 함량은 발효온도가 높을수록 감소하였다. 청국장의 관능검사 결과, 외관은 발효온도가 높을수록 높은 점수를 보였고, 균 형성 정도, 점질물의 점도 및 청국장 맛에서는 40°C에서 가장 높은 점수를 나타냈으며 이취는 가장 낮았다. 청국장의 이화학적 특성, 상대점도 및 관능검사 결과에 의하여, 포자농도 10^2 CFU/mL를 접종하여

청국장을 제조할 경우 40°C에서 발효하는 것이 적절한 것으로 사료된다.

참고문헌

- 장창문, 김태영. 1996. 일본식품가공연구기술현황조사. 농촌진흥청 귀국보고서. 수원. p26.
- 정동효, 심상국의 편저. 1994. 대두발효식품. 지성의 샘. 서울. pp 673-686.
- 채수규, 강갑석, 마상조, 방광용, 오문현, 오성훈. 1997. 표준식품분석학. 지구문화사. 서울. pp 397-399
- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed., The Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. U.S.A.
- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM and Shin SY. 1996. Survey on preparation method and consumer response of *chungkukjang*. Korea soybean Digest 13:29-43
- Choi SH, Ji JA. 1989. Changes in flavor of *chungkookjang* during fermentation. Korean J Food Sci Technol 21:229-234
- Choi UK, Ji WD and Chung YG. 1998. Characteristics of *chunggugjang* produced by *Bacillus subtilis* DC-2. J Korean Soc Food Sci Nutr 27(5):846-851
- Choi UK, Lee SI, Son DH and Ji WD. 2002. Change of flavor during *chunggugjang* fermentation by *Bacillus* sp. CS-17. J Korean Soc Hygienic Sciences 8:167-173
- Chung KS, Yoon KD, Hong SS and Kwon DJ. 1996. Antimutagenic and anticarcinogenic effect of korean fermented soybean products. J Food Sci Technol 1:75-85
- Heo S, Lee SK and Joo HK. 1998. Isolation and identification of fibrinolytic bacteria from Korean traditional *chungkookjang*. Agri Chem Biotechnol 41:119-124
- Joo HK. 1971. Studies on the manufacturing *chungkukjang*. Korean J Food Sci Technol 3:64-67
- Kim JI, Kang MJ and Kwon TW. 2003. Antidiabetic effect of soybean and *chungkukjang*. Korea Soybean Digest 20:44-52
- Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP and Cang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional *chunggugjang* produced in different regions. J Korean Agric Chem Soc 41(5):377-383
- Kim KJ, Rye MK and Kim SS. 1982. *Chungkookjang* koji fermentation with rice straw. Korean J Food Sci Technol 14(4):301-308
- Kim WK, Choi KH, Kim YT, Park HH, Choi JY, Lee YS, OH HI, Kwon IB and Lee SY. 1996. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strains CK11-4 screend from *chungkookjang*. Appl Environ Microbiol 62:2482-2488
- Kim YS, Jung HJ, Park YS and Yu TS. 2003. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20

- chunggukjang*. Korean J Food Sci Technol 35:475-478
- Kwon HY, Kim YS, Kwon KS, Kwon JS and Sohn HY. 2004. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *chungkook-jang* and fermentational characteristics of JB-1. Korean J Microbiol Biotechnol 32(4):291-296
- Lee BY, Kim DM and Kim KH. 1991. Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *chungkookjang*. Korean J Food Sci Technol 23:599-604
- Lee HC. 1999. Fermentation food. Sinkwang, Seoul. pp 105-117
- Lee HJ and Suh JS. 1981. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkookjang*, processing(I). Changes of the components and enzymes activities during *chungkookjang* koji preparation. Korean J Nutr 14(2):97-104
- Lee HK, Kim SH, Jung NH, Yim NH. 1996. Changes in the rheological properties of viscous substance by the additives during the *chungkookjang* fermentation. J Sci and Tech 3(1):127-146
- Lee YR, Kim SH, Jung NH and Yim MH. 1992. A study on the production of viscous substance during the *chungkookjang* fermentation. Korean J Food Sci Technol 35:202-209
- Lim CB. 2002. The study a plan on the quality improvement for industrialization of high quality *cheonggukjang*. MS thesis, Chung-ang University, Seoul, Korea. 145-186
- Park KI. 1972a. Studies on the N-compounds during *chungkook-jang* meju fermentation(I). Changes of soybean protein during *chungkook-jang* meju fermentation. J Korean Agric Chem Soc 15(2):93-109
- Park KI. 1972b. Studies on the N-compounds during *chungkook-jang* meju fermentation(II). Amino acids of oligopeptides formed during *chungkook-jang* fermentation. J Korean Agric Chem Soc 15(2):111-142
- Son DH, Kwon OJ, Ji WD, Choi UK, Kwon OJ, Lee EJ, Cho YJ, Cha YS, Chung TG and Chung YG. 2000. The quality changes of *chunggugjang* prepared by *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 43(1):1-6
- Suh JS, Lee SG and Ryu MK. 1982. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkookjang* processing,(II). Changes of the components and enzymes activities during the storage of *chungkookjang*. Korean J Food Sci Technol 14:309-314
- Suh JS, Ryu MK and Hur YH. 1983. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkookjang* processing(III). Changes of free amino acid contents and nitrogen compounds during *chungkookjang* koji preparation. Korean J Food Sci Technol 15:385-391
- Sung NJ, Ji TA, Chung SY. 1984. Changes in nitrogenous compounds of soybean during *chungkookjang* koji fermentation. J Korean Soc Food Nutr 13:275-284
- Weatherburn MW. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. J Anal Chem 39:971-974
- Yang JL, Lee SH and Song YS. 2003. Improving effect of powders of cooked soybean and *chungkookjang* on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 32:899-905
- Yoo SM and Chang CM. 1999. Study on the adaptability soybean cultivars for traditional *chunggugjang* preparation. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 42(2):91-98
- You TJ. 1988. A handbook of food. Moonundang. Seoul. pp 328-329
- Youn HK, Choi HS, Hur SH and Hong JH. 2001. Antimicrobial activity of viscous substance from *chungkookjang* fermented with different *Bacillus* sp. J Fd Hyg Safety 16(3):188-193
- Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM and Byun MW. 2002. Quality characteristics of the *chungkookjang* fermented by the mixed culture of *B. natto* and *B. licheniformis*. J Korean Soc Food Sci Nutr 31:204-210

(2006년 2월 23일 접수, 2006년 5월 18일 채택)