

[연구노트]

황기청국장의 향기특성

윤향식[†] · 최혜선 · 주선종 · 김기식 · 김숙종
충청북도농업기술원

Aroma Characteristic of *Chungkukjang* with *Astragalus membranaceus*

Hyang-Sik Yoon[†], Hye-Sun Choi, Seon-Jong Joo, Ki-Sik Kim and Sook-Jeong Kim
Chungcheongbuk-do Agricultural Research and Extension Services, Cheongwon 363-883, Korea

Abstract

Aroma compounds in *chungkukjang* with *Astragalus membranaceus* (*Hwangki*) were extracted by the simultaneous distillation and extraction (SDE), headspace and solid phase microextraction (SPME), and aroma compounds obtained by this method were identified with GC-MS. Thirty compounds were identified, including six ketones, eight alcohols, three heterocyclic compounds, three aldehydes, five hydrocarbones and five other compounds. Major aroma compounds were identified as 3-hydroxy-2-butanone, 2-furanmethanol, 2-methoxy-4-vinylphenol, and 4-vinylphenol in SDE, 2,3-butanedione, 3-hydroxy-2-butanone, ethanol, 2,6-dimethyl pyrazine and acetic acid in headspace and acetone, ethanol, 2,5-dimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine and acetic acid in SPME. The content of pyrazines identified in headspace and SPME methods was higher than that of SDE method, and the content of pyrazines containing 2,5-dimethyl pyrazine, 2,6-dimethyl pyrazine and tetramethyl pyrazine in *chungkukjang* was higher than that of *Hwangki chungkukjang*.

Key words : *Astragalus membranaceus*, aroma compounds, *chungkukjang*

서 론

청국장은 삶은 콩에 빻짚을 사용하거나 *Bacillus subtilis*를 번식시켜서 콩 단백질을 분해시키고 파, 마늘, 고춧가루, 소금 등을 가미하여 저장성을 부여한 것으로 주로 가을에서 초봄까지 만들어 먹는 장이다(1). 청국장은 영양뿐만 아니라 혈전용해능(2), 면역기능 강화(3), 항산화효과(4-5), 생리효과(6), 혈압강화효과(7), 암예방효과(8-9) 등 기능성이 우수한 것으로 알려져 있다. 그러나 청국장을 띄우고 조리할 때 나는 독특한 냄새로 인해 어린이와 젊은 세대들은 청국장을 기피하는 요인으로 작용하여 소비 증대 및 전승에 걸림돌이 되고 있다(10). 청국장의 불쾌취는 주로 *Bacillus*에 의하여 생성되는 alkylpyrazine류나, 함황화합물, 암모니아 화합물 등에서 유래하는 것으로 알려져 있으며(11-14) 이와 같은 결과는 전통 청국장(15), 균주(16-18) 및 첨가물

(19-20)을 달리한 청국장에 관한 연구에서도 확인되고 있다. 본 연구에서는 한약재로 널리 이용되고 있는 황기(21)를 이용한 청국장을 제조하여 SDE, headspace, SPME 방법으로 추출하여 GC/MS로 정성하여 청국장과 비교함으로써 황기가 청국장의 향기성분에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

황기는 충북 제천산을 사용하였으며, 대두(*Glycine Max.*(L.) Merrill.)는 국산을 사용하였고 *Bacillus subtilis* 12148은 (사)한국중균협회에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 시약은 Sigma-aldrich에서 구입하여 사용하였다.

황기 추출액 제조

건조 황기(2 mm × 3 mm)에 6배의 증류수를 가한 후, 고압추출장치(JS-0021, 정성실업, Korea)를 이용하여 12

[†]Corresponding author. E-mail : aroma67@hanmail.net,
Phone : 82-43-219-2676, Fax : 82-43-219-2519

1°C에서 3시간 동안 추출하여 고형분 함량 2.2%의 추출액을 황기 수침액으로 사용하였다.

청국장 제조

정선한 콩을 25°C에서 20시간 동안 물과 황기 추출액에 침지 후 물빼기를 한 후 121°C에서 60분간 증자하였다. 증자 후 냉각시키고 polystyrene 용기에 300 g씩 분주한 후, *Bacillus subtilis* 12148(1.9×10^6 CFU/mL)을 시료무게의 1%가 되게 접종하여 40°C에서 48시간 배양한 후 시료로 사용하였다.

Simultaneous Distillation Extraction(SDE) 추출

Likens and Nickerson type simultaneous steam distillation-extraction(SDE)(22) 장치를 사용하여 상압하에서 추출하였다. 생시료 100 g에 증류수 1 L를 2 L 증류용 플라스크에 넣고, 50 mL diethyl ether를 포집용 플라스크에 넣은 후 2시간 동안 추출하였다. 추출액은 무수황산나트륨을 넣고 냉동실에서 하룻밤 방치한 후 0.25 mL까지 질소가스 하에서 농축한 후 GC/MS용 시료로 사용하였다. 내부표준물질로는 4-methyl-2-pentanol를 시료에 2 ppm이 되도록 첨가하여 추출하였다.

Headspace 추출

향기성분은 청국장 5 g을 headspace용 20 mL vial에 담아 headspace autosampler (Agilent 7694E)로 추출하였다. 추출 조건은 80°C온도에서 30분 동안 평형화 시켰으며 GC/MS에 상부공간의 향기성분 추출액 1 mL를 1분 동안 주입하였다. 내부표준물질로는 4-methyl-2-pentanol를 사용하여 시료량에 20 ppm이 되도록 첨가하여 추출하였다.

Solid Phase Microextraction (SPME)추출

시료는 마쇄한 후 5 g을 40 mL vial에 담아 사용하였으며 SPME fiber는 polydimethylsiloxane(100 um, Supelco Inc)를 사용하였다. 향기성분 포집 조건은 80°C에서 30분간 SPME fiber로 향기 성분을 흡착시킨 후 GC/MS에서 5분간 열탈착 분석하였다(19). 내부표준물질로는 4-methyl-2-pentanol를 사용하여 시료량에 20 ppm이 되도록 첨가하여 추출하였다.

GC/MS분석

추출한 향기성분은 GC/MS를 이용하여 정성하였다. GC/MS는 Agilent사의 HP-6890N /5973을 이용하였고 컬럼은 HP-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)를 사용하였다. 오븐 온도는 50°C에서 5분간 유지한 후 분당 3°C로 220°C까지 상승시켰으며 이 온도에서 20분간 유지하였다. 주입구의 온도는 250°C로 하였으며 carrier gas는 헬륨을 사용하였고 컬럼 유속은 1 mL/min로 하였다. 화합물의 동정은 GC-MS

로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275L data base로 검색하여 동정하였다.

결과 및 고찰

황기가 청국장의 향기성분에 미치는 영향을 조사하기 위해 SDE, headspace, SPME 방법으로 추출하여 GC/MS로 정성한 결과는 Table 1과 같다. 추출방법별 정성된 화합물의 수는 SDE 24개, headspace 6개, SPME 7개로 나타났다. SDE 추출결과 청국장에서 정성된 화합물 22개가 69 ppm, 황기청국장은 19개 화합물에 66.66 ppm을 나타내었으며 headspace 추출결과 청국장은 화합물 6개 111.5 ppm, 황기청국장은 6개 화합물에 196.2 ppm을 나타내었다. SPME 추출 결과 청국장은 7개 화합물에 94.87 ppm, 황기청국장은 3개 화합물 35.96 ppm을 나타내었다. 추출물을 관능기별로 구분하면 ketone류, alcohol류, heterocyclic 화합물, aldehyde류, hydrocarbone류, 기타 화합물로 분류할 수 있다. SDE 추출결과 ketone 화합물로는 3-hydroxy-2-butanone, 2-hydroxy pentan-3-one, 1-(2,6,6)- trimethyl-2-buten-1-one, dihydro-5-pentyl-2(3)-furanone이었으며 그 중 3-hydroxy- 2-butanone은 SDE 추출물중 함량이 가장 높은 화합물로 청국장 42.57 ppm, 황기청국장 36.8 ppm이었다. 이 화합물은 *Bacillus lichemiformis* 균주를 사용한 청국장에서 확인된 향기성분(17)으로 균주에 따라 생성되는 향기성분이 다른 것을 알 수 있다. Alcohol류는 2-methyl-3-pentanol, 1-octen- 3-ol, 2,3-butandiol, 2-furanmethanol, 2-methoy phenol, 2-methoxy-4-vinylphenol, 4-vinylphenol 등이 확인되었으며 2-methoxy phenol은 청국장이 5.18 ppm, 황기청국장이 6.68 ppm을 나타내었으며, 2-methoxy-4- vinylphenol은 청국장 4.31 ppm, 황기청국장은 6.25 ppm을 나타내었다. 1- octen-3-ol은 green soybean(23)의 향기성분으로 알려져 있으며 대두 및 *Bacillus subtilis*로 제조한 청국장의 주요 향기성분이며(12). 2-methoxy-4-vinylphenol은 벌미장의 일종인 대막장과 소두장의 주요 향기성분이다(24). Heterocyclic 화합물은 2,5-dimethyl pyrazine과 2,6-dimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine 등이며 황기청국장에서는 tetramethyl pyrazine만이 검출되었다. 특히, 이들 화합물은 청국장의 특징적인 냄새성분으로 보고 되었다(12, 15). Aldehyde류는 2-furancarboxaldehyde, benzaldehyde, 2,4-decadienal이며 hydrocarbone류는 eicosane, pentacosane, nonadecane, heptacosane, octacosane 등이며 총량은 청국장 7.81 ppm, 황기청국장 5.78 ppm을 나타내었다. 기타 화합물로는 2-pentyl furan, dibutyl phthalate 등이 확인되었다. Headspace 추출물로는 7개화합물이 검출되었으며 ketone류 중 acetone은 청국장 0.5 ppm, 황기청국장 11.7 ppm, 2,3-butanedione은 청국장 2.2 ppm, 황기청국장 0.4 ppm, 3-hydroxy- 2-butanone

Table. 1. Volatile compounds of chungkukjang with *Astragalus membranaceus*

R.T ¹⁾	Compounds	(Unit : ppm)					
		SDE		Headspace		SPME	
		C ²⁾	HC ³⁾	C	HC	C	HC
	Ketones(6)	43.52	39.66	9.3	18.6	15.39	
2.18	acetone	-	-	0.5	11.7	15.39	-
3.42	2,3-butanedione	-	-	2.2	0.4	-	-
12.10	3-hydroxy-2-butanone	42.57	36.8	6.6	6.5	-	-
14.96	2-hydroxypentan-3-one	0.67	0.93	-	-	-	-
32.74	1-(2,6,6)-trimethyl- 2-buten-1-one	0.28	0.4	-	-	-	-
39.77	dihydro-5-pentyl-2(3h)-furanone	-	1.53	-	-	-	-
	Alcohols(8)	14.63	19.18	81	172.6	41.02	27.61
2.90	ethanol	-	-	81	172.6	41.02	27.61
7.30	4-methyl-2-pentanol*	2.0	2.0	20	20	20	20
14.24	2-methyl-3-pentanol	0.61	0.34	-	-	-	-
19.05	1-octen-3-ol	0.34	0.51	-	-	-	-
22.72	2,3-butandiol	0.64	-	-	-	-	-
27.55	2-furanmethanol	1.9	3.1	-	-	-	-
34.48	2-methoxy phenol	5.18	6.68	-	-	-	-
45.23	2-methoxy-4-vinylphenol	4.31	6.25	-	-	-	-
50.94	4-vinylphenol	1.65	2.3	-	-	-	-
	Heterocyclic compounds(3)	0.91	0.14	19.0	3.3	18.8	8.35
13.40	2,5-dimethyl-pyrazine	0.31	-	-	-	15.68	4.25
13.63	2,6-dimethyl-pyrazine	0.31	-	19.0	3.3	-	-
19.66	tetramethyl-pyrazine	0.29	0.14	-	-	3.12	4.10
	Aldehydes(3)	0.97	1.07				
19.71	2-furancarboxaldehyde	0.48	-	-	-	-	-
21.76	benzaldehyde	0.49	0.76	-	-	-	-
32.55	2,4-decadienal	-	0.31	-	-	-	-
	Hydrocarbones(5)	7.81	5.78				
48.12	eicosane	1.65	2.3	-	-	-	-
53.61	pentacosane	0.51	0.24	-	-	-	-
56.22	nonadecane	0.88	0.46	-	-	-	-
58.73	heptacosane	1.85	1.15	-	-	-	-
61.64	octacosane	2.92	1.63	-	-	-	-
	Others(5)	1.16	0.83	2.2	1.7	19.66	
9.75	2-pentyl-furan	0.4	-	-	-	-	-
58.63	dibutyl phthalate	0.76	0.83	-	-	-	-
15.75	acetic acid	-	-	2.2	1.7	12.05	-
19.2	2-methyl propanoic acid	-	-	-	-	2.87	-
23.04	2-methyl butanoic acid	-	-	-	-	4.74	-

¹⁾R.T : Retention Time(min), ²⁾ C: chungkukjang, ³⁾ HC: Hwangki chungkukjang.
* : Internal standard, - : Not detected.

6.6 ppm, 황기청국장 6.5 ppm을 나타내었다. Ethanol 함량은 청국장이 81 ppm에 비해 황기청국장이 172.6 ppm으로 높게 나타났으며 2,6-dimethyl pyrazine은 청국장 19.0 ppm, 황기청국장 3.3 ppm을 나타내었으며 acetic acid는 청국장 2.2 ppm, 황기청국장 1.7 ppm을 나타내었다. SPME 추출물은 8개 화합물로 acetone은 청국장에서만 15.39 ppm이 검출되었으며 ethanol은 청국장 41.02 ppm, 황기청국장 27.61 ppm, 2,5-dimethyl pyrazine은 청국장 15.68 ppm, 황기청국장 4.25 ppm, tetra methyl pyrazine은 청국장 3.12 ppm, 황기청국장 4.10 ppm으로 pyrazine류의 전체 함량은 황기청국장 8.35 ppm 보다 청국장이 18.8 ppm 더 높게 나타났다. 그외에 acetic acid 12.05 ppm, 2-methyl propanoic acid 2.87 ppm, 2-methyl butanoic acid 4.74 ppm이었다. 2-methyl propanoic acid는 대두와 청국장에 함량비율이 높은 성분으로 butyric acid와 같이 자극적인 향기를 내내 불쾌하지 않은 성분으로 알려져 있다(12). 추출방법별로 청국장 향기성분 특성을 보면 SDE에 비해 headspace와 SPME 방법에서 pyrazine류 화합물의 함량 및 비율이 높게 나타났으며 이는 관능적으로 청국장의 냄새를 맡았을 때 pyrazine 화합물의 영향이 크다는 것을 알 수 있다. 또한 황기가 청국장 제조에 미치는 영향을 보면 검출된 향기성분의 수와 함량 모두 청국장에 비해 황기청국장의 향기성분이 낮은 것으로 나타났으며 특히, 청국장 냄새성분으로 알려진 pyrazine류 화합물은 청국장이 황기청국장에 비해 월등히 높아 황기청국장이 청국장 냄새 저감 효과가 있음을 알 수 있었다.

요 약

황기가 청국장 향기성분에 미치는 영향을 조사하기 위해 청국장과 황기청국장을 제조하여 향기성분을 SDE, headspace, SPME 추출한 후 GC/MS로 정성하였다. 추출방법별 정성된 화합물의 수는 총 30개로 SDE 23개, headspace 6개, SPME 7개로 나타났다. 추출물을 관능기별로 구분하면 ketone류 6개, alcohol류 8개, heterocyclic 화합물 3개, aldehyde류 3개, hydrocarbone류 6개, 기타 화합물 5개로 분류할 수 있다. 청국장의 주요향기성분으로 SDE 추출물은 3-hydroxy-2-butane, 2-furanmethanol, 2-methoxy-4-vinylphenol 과 4-vinylphenol이었으며 headspace 추출물은 2,3-butanedione, 3-hydroxy-2-butane, ethanol, 2,6-dimethyl pyrazine과 acetic acid, SPME 추출물은 acetone, ethanol, 2,5-dimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine과 acetic acid이었다. 청국장의 특징적인 향기성분인 2,5-dimethyl pyrazine과 2,6-dimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine 함량은 청국장이 황기청국장에 비해 높게 나타내었다.

참고문헌

1. Lee, J.O., Ha, S.D., Kim, A.J., Yuh, J.S., Bang, I.S. and Park, S.H. (2005) Industrial application and physiological functions of *Chongkukjang*. Food Sci. Ind., 38, 69-78
2. Kim, W.K., Choi, K.H., Kim, Y.T., Park, H.H., Choi, J.Y., Lee, Y.S., Oh, H.I., Kwon, I.B., Lee, S.Y. (1996) Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strains CK 11-4 screened from *chungkookjang*. Appl. Environ. Microbiol., 62, 2482-2488
3. Lee, B.K. (1999) Immunomodulation materials of fermented soybean products. Lecture 3 presented at 2nd Symposium for soybean fermentation foods. Yeungnam Univ., Korea
4. Cheigh, H.S., Lee, J.S. and Lee, C.Y. (1993) Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. J. Korean Soc. Food Nutr., 22, 570-575
5. Lee, J.J., Cho, C.H., Kim, J.Y., Kee, D.S. and Kim, H.B. (2001) Antioxidant activity of substances extracted by alcohol from *Chungkookjang* powder. Kor. J. Microbiol., 37, 177-181
6. Shon, M.Y., Seo, K.I., Lee, S.W., Choi, S.H. and Sung, N.J. (2000) Biological activities of *Chungkookjang* prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 936-941
7. Okamoto, A., Hanagata, H., Kawamura, Y. and Yanagida, F. (1995) Anti-hypertensive substances in fermented soybean natto. Plant Foods Hum Nutr., 47, 39-47
8. Prochaska, H.J. (1994) Screening strategies for the detection of anticarcinogenic enzyme inducers. J. Nutr. Biochem., 5, 360-368
9. Mivagi, Y.S., Shinjo, R., Nishida, C., Miyagi, K., Takamatsu, T. and Yamamoto, S. (1997) Trypsin inhibitor activity in commercial soybean products in Japan. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 43, 575-580
10. Choi, S.Y. (2002) Benefit and industrialization of *Chungkookjang*. Presented at 5nd Symposium for soybean fermentation foods. Yeungnam Univ., Korea
11. Allagheny, N., Obanu, Z.A., Campbell-Platt, G. and Owens, J.D. (1996) Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legumes. Int. J. Food Microbiol., 29, 321-333
12. Choi, S.H. and Ji, Y.A. (1989) Changes in flavor of *chungkookjang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 21, 229-234
13. Kim, D.H., Lim, D.W., Bai, S. and Chun, S.B. (1997) Fermentation characteristics of whole soybean *meju* model system inoculated four *Bacillus* strains. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 1006-1015
14. Larroche, C., Besson, I. and Gros, J.B. (1999) High pyrazine production by *Bacillus subtilis* in solid substrate fermentation on ground soybeans. Process Biochem., 34, 667-674
15. Lee, E.J. and Kim, J.K. (2004) Characteristic flavor compounds of traditional *Chongkukjang*. Food Sci. Biotechnol., 13, 566-571
16. Chio, U.K., Ji, W.D. and Chung, Y.G. (1998) Characteristics of *Chunggugjang* produced by *Bacillus subtilis* DC-2. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 846-851
17. Youn, K.C., Kim, D.H., Kim, J.O., Park, B.J., Yook, H.S., Cho, J.M. and Byun, M.W. (2002) Quality characteristics of the *Chungkookjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31, 204-210
18. Rhee, J.H., Park, K.H., Yoon, K.R., Yim, C.B. and Lee, I.H. (2004) Isolation of *Bacillus subtilis* producing the *Cheongkukjang* with reduced off-flavor by suppressing the growth of bacteria causing off-flavor. Food Sci. Biotechnol., 13(6), 801-805
19. In, J.P. and Lee, S.K. (2004) Effect of *Yucca (Yucca shidigera)* extract on quality characteristics of *Chungkookjang* using *Bacillus subtilis* p01. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 47, 176-181
20. Park, W.J., Park, H.Y., Yoo, J.H. and Rhee, M.S. (2001) Effect of *Artemisia asiatica* Nakai extract on the flavor of *Chung-kuk-jang*. Food Eng. Prog., 5(2), 115-124
21. 박종희, 이정규 (2000) 상용약용식물도감, 신일상사, p.484-486
22. Schultz TH, Flath RA, Richard MT, Eggling SB, Teranishi R. (1997) Isolation of volatile components from a model system. J. Agric. Food Chem., 25: 440-446
23. Sugawara, E., Ito, T., Odagiri, S., Kubota, K. and Kobayashi, A. (1988) Changes in aroma components of green soybean with maturity. J. Agri. Chem. Soc. Japan, 62, 149-155
24. Woo, K.S., Yu, S.M., Im, S.K., Chun, H.K., Kwon, O.C. and Lee, J. (2004) Changes in aroma compounds of several *Byeolmijang* during aging. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 33, 1689-1697

(접수 2005년 12월 27일, 채택 2006년 3월 24일)