

Bacillus Subtilis NRLSI IV로 제조한 청국장 의 접종포자농도와 발효시간에 따른 품질 특성

김경미·김행란·박홍주
농촌진흥청 농업과학기술원 농촌자원개발연구소

The Quality Characteristics of *Chunggugjang* Prepared by *Bacillus Subtilis* NRLSI IV on the Different Inoculum Levels and Fermentation Times

Kim, Kyung-Mi · Kim, Haeng-Ran · Park, Hong-Ju
Rural Resource Development Institute, NIAST, RDA, Suwon, Korea*

ABSTRACT

To compare the quality characteristics, *chunggugjang* was prepared with *Bacillus subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels(10^2 , 10^4 , 10^6 , and 10^8 CFU/ml) and fermentation times(0, 12, 24, 36, and 48 hours). Although significant change in total nitrogen content was not found, the content of amino type, soluble and ammonia type nitrogen was generally increased according to the increase in fermentation time. Decomposition rate of nitrogen was also increased by fermentation time and nitrogen solubility was the highest value(62-75.9%) at 48 hour fermentation. In results of color changes, it was found that L and a value were decreased but there was no significant changes in b value as fermentation time was increased. In *chunggugjang* made with long fermentation time, hardness was decreased and relative viscosity of viscous substance was gradually decreased after little increase at initial fermentation time. The effect of inoculum level on hardness and relative viscosity were similar to that of fermentation time, i.e. the decrease of these at high inoculum level. In activity of γ -GTP, 36 hour incubation could produce the highest value whereas no effect of inoculum level was found during fermentation except at 48 hour. In *chunggugjang* made with 10^2 CFU/mL of *Bacillus subtilis* NRLSI IV, the content of glucose, sucrose, raffinose and stachyose was dramatically decreased at initial fermentation time and that of phytic acid, oxalic acid, citric acid, tartaric acid and malic acid was also decreased during fermentation, although the increase in acetic acid was found.

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

I. 서론

청국장은 콩을 삶아 고초균이라 불리는 *B. subtilis*를 번식시켜서 단기간에 발효시키고 파, 마늘, 고춧가루, 소금 등을 가미해 저장성을 부여하여 주로 가을에서 초봄까지 만들어 먹었던 것으로 우리나라의 대표적인 전통 대두발효식품 중 하나이다. 특히, 다른 대두발효식품 보다 짧은 기일에 완성할 수 있으면서 곡류를 주식으로 해 온 우리 민족에게 부족되기 쉬운 단백질 급원식품으로서 영양적, 경제적으로 가장 효과적인 콩의 섭취방법이라고 할 수 있다(윤숙자 1998).

청국장은 콩 자체 성분과 비교해 보면 필수아미노산, 비타민 B₁, B₂, 나이아신, 판토텐산 등의 함량이 많고, 발효과정중에 생성되는 여러 가지 효소들에 의해 콩 껍질이나 세포막을 구성하고 있는 섬유소 및 세포내의 당질이나 단백질의 분해로 소화율 향상 및 변비개선에도 효과적이다(Choe et al. 1996). 또한 인체에 유익한 *Bacillus* sp.가 장내에서 부패균의 활동을 약화시키면서 부패균이 생성하는 발암물질이나 ammonia, indole 등의 물질을 감소시키고 이러한 유해물질을 흡착시켜 배설시키는 작용을 하기도 한다(In et al. 2002; Matsui et al. 2004). 지금까지 청국장에 관한 연구로는 발효과정중 성분변화(Lee et al. 1971; Park 1972a; Park 1972b; Kim et al. 1987; Rhee et al. 1993), 균주를 달리한 제조방법(Lee & Suh 1981; Suh et al. 1982; Suh et al. 1983), 점질물에 관한 연구(Lee et al. 1991b; Lee et al. 1992), 물성 변화(Lee et al. 1991a) 및 향기성분 변화(Choi & Ji YA 1989) 등에 관하여 보고 되었다. 최근에는 청국장의 기능성 물질로 혈전용해효소를 확인(Kim WK et al. 1996; Heo et al. 1998)하였을 뿐만 아니라, 항암, 항돌연변이성 효과가 검증되었고(Chung et al. 1996), 다른 대두발효식품보다 isoflavone의 함량이 높다는 연구 결과(Choi & Shon 1998)도 보고 되었다.

일반적으로 청국장의 제조는 증자한 대두에 재래식으로 벗겨를 이용하여 발효시키거나 *B. subtilis*를 접종하여 단기간 발효시키는 원리로 제조되고 있으나 원료의 종류, 사용균주, 발효 온도

및 시간 등 미생물 발효조건의 차이에 따른 특유의 풍미가 청국장의 품질에 큰 영향을 미치는 요인이 되고 있다(Cheong & Shin 1994). 따라서 청국장의 품질향상 및 산업화를 위해서는 접종포자농도 및 발효시간에 따른 청국장의 발효특성에 관한 기초적인 연구가 수행되어야 한다. 이에 본 연구는 농촌자원개발연구소에서 전국 13개 지역에서 수집한 자가생산 시판 청국장으로부터 분리한 균주들중 단백질 분해력과 발효능이 우수한 *Bacillus subtilis* NRLSI IV(Yoo & Chang 1999)를 이용하여 청국장을 제조한 후, 발효시간별 · 포자농도별 청국장의 품질 특성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

원료 대두는 농촌진흥청 작물시험장에서 단엽콩을 분양받아 사용하였다. 사용균주는 농촌진흥청 농촌자원개발연구소에서 전국적으로 수집한 자가생산 시판 청국장으로부터 분리한 우수균주 고초균(*Bacillus subtilis*: *B. subtilis*) NRLSI IV(Yoo & Chang 1999)를 사용하였다.

2. 청국장 제조방법

단엽콩 5kg을 선별, 수세 후 5배의 물을 가하여 상온에서 20시간 수침하고 121℃에서 40분간 증자하여 80℃로 식힌 다음 용기에 각각 500g씩 담아 *B. subtilis* NRLSI IV 균주의 포자농도를 10², 10⁴, 10⁶ 및 10⁸ CFU/mL로 조절한 종균을 증자 대두 무게의 1%가 되게 접종하여 40℃(RH 90%)에서 48시간까지 배양하였다.

3. 생균수 측정

청국장 1g을 취하여 멸균생리식염수로 희석하여 plate count agar에 도말한 후 30℃에서 24~48시간 배양한 후 colony를 계수하여 생균수(CFU/g)로 나타내었다.

4. 이화학적 특성

청국장 발효 동안의 pH 변화는 pH meter(Orion 240, Orion Reseach Inc. Boston, MA, USA)로 측

정하였고, 총질소와 수용성 질소는 micro-kjeldahl 법으로 아미노태 질소(NH₂-N)는 formol법(AOAC 1990), 암모니아태 질소(NH₃-N)는 Indolphenol법(Weatherburn MW 1967)으로 측정하였다. 질소용해율은 총질소에 대한 수용성 질소비로 나타내었고, 질소분해율은 총질소에 대한 아미노태 질소비로 나타내었다.

5. 색도 및 경도

색도는 색차계(Color-eye 3100, Macbeth, New Windsor, NY, U.S.A)로 청국장의 물성은 texturometer (TA-XT2, England)의 stable micro system(option: return to start, distance: 70%, trigger force: auto log, test speed: 1.0 mm/sec)를 이용하여 plunger(φ 10mm)로 발효콩알의 중앙을 눌렀을 때 얻어지는 force vs time graph로부터 산출된 최고의 peak값으로 표기하였다.

6. 상대점도및-GTP(glutamyltranspepti-dase) 활성

점도는 시료 10g을 취하여 증류수로 5배 희석하여 진탕추출한 다음 원심분리(× 10,000g, 30 min)한 후 상등액 10 mL를 30℃ 항온수조에서 Ostward 점도계(Cannon instrument Co. College, PA, USA)에 넣고 낙하시간을 증류수와 비교하여 상대점도(Cps)로 나타내었다. γ-GTP 활성은 상대 점도 측정시와 동일하게 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 이 조효소액에 5-aminosalicylic acid법을 이용하는 AM 158-K(아산제약)를 반응시켜 γ-GTP 활성을 측정하였다(Yoo & Chang 1999).

7. 유리당

청국장 시료 0.2g을 증류수에 현탁시킨 후 실온에서 5시간 진탕한 후 4℃에서 하룻밤 방치한 다음 4,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 sep pak C₁₈ cartridge(Waters Co., USA)를 통과시키고 membrane filter 0.45 μm(Millpore, USA)로 여과하여 HPLC(Waters Co., USA)로 유리당을 분석하였다. 이 때 분리칼럼은 highperformance carbohydrate column을 사용하였고 column 온도는 37℃, 검출기는 RI detector, 용매는 75% acetonitrile,

유속은 1.0 mL/min이었다.

8. 유기산

청국장 시료 0.2 g을 취한 후 0.1N HCl에 현탁시키고 2시간 진탕한 후 단백질을 제거하기 위하여 20% sulfosalicylic acid를 첨가하고 3시간 더 진탕 추출한 다음 4,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 sep pak C₁₈ cartridge(Waters Co., USA)를 통과시키고 membrane filter 0.45 μm(Millpore, USA)로 여과하여 HPLC(Waters Co., USA)로 유기산을 분석하였다. 이 때 column은 Ionpak KC-811, 이동상은 0.1% phosphoric acid, 유속은 0.7 mL/min, 검출기는 RI detector, column 온도는 35℃이었다.

9. 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

1. 청국장의 생균수 변화

포자농도별·발효시간별 청국장의 생균수 변화는 Fig. 1과 같다. 접종포자농도별로는 10² CFU/mL, 10⁴-10⁶ CFU/mL 및 10⁸ CFU/mL 4가지

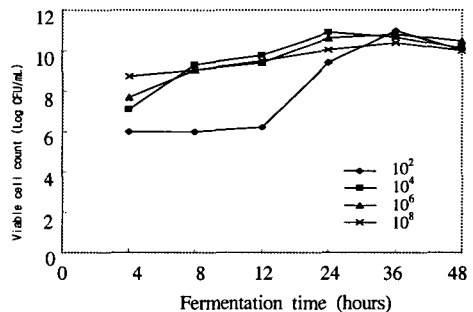


Fig. 1. The changes in viable cell count of chunggugjang prepared by B. subtilis NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

처리구로 나누었으며 발효시간에 따라 생균수의 차이를 보였다. 생균수가 급격히 증가하는 시간은 10^2 CFU/mL 접종시 24시간, 10^4 - 10^6 CFU/mL 접종시 8시간이었으며 10^8 CFU/mL 처리구는 36시간까지 생균수가 약간 증가하는 경향을 보였다. 10^4 - 10^8 CFU/mL 처리구는 발효 24시간부터 36시간까지는 약간 증가하거나 감소하다가 48시간에는 모두 생균수가 감소하였다. 10^2 CFU/mL 처리구도 36시간에 최고수준을 보이다가 48시간에는 감소하여 미생물 측면에서 48시간까지 발효하는 것은 바람직하지 않은 것으로 생각되었다.

Kwon등(2004)은 *B. subtilis*를 접종시 발효 16시간까지는 생균수가 증가하다가 27시간 발효시 감소하였다고 하였는데, 이는 균주의 종류와 균의 접종농도에 의한 차이로 여겨진다.

2. 청국장장의 pH 및 질소소장 변화

접종포자농도에 따른 청국장장의 발효과정 중 pH변화는 Fig. 2와 같다. 증자 직후 pH는 7.1을 나타냈고 발효 12시간까지는 약간 감소하다가 발효 24시간부터 다시 조금 증가하여 거의 일정하게 유지하다가 48시간 발효시 7.1-7.6을 나타냈다.

청국장장의 발효 과정중 총 질소함량의 변화를 Fig. 3에 나타냈다. 청국장장의 총 질소 함량은 발효기간 48시간 동안 2.81-3.16% 범위로 접종포자농도 및 발효시간에 따른 차이를 나타내지 않았다. Sur 등(1983)은 청국장 발효 과정중 총 질소

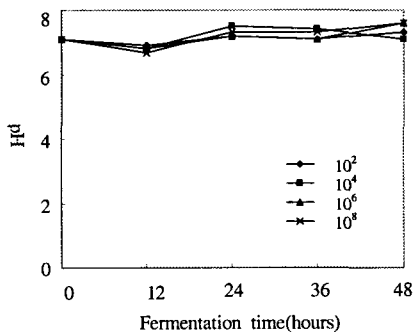


Fig. 2. The changes in pH of *chunggugjang* prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

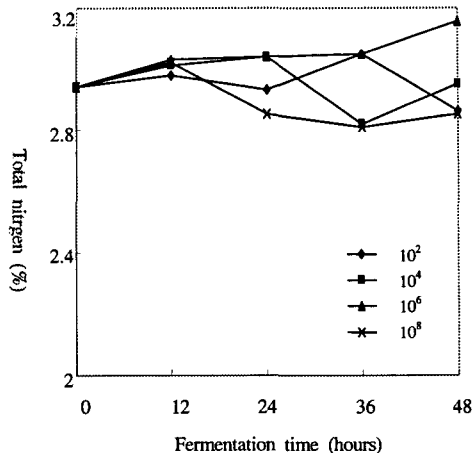


Fig. 3. The changes in total nitrogen of *chunggugjang* prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

함량이 *B. natto*로 접종한 경우 발효 12시간에 약간 감소하다가 다시 증가하였으며, *B. subtilis*로 접종한 경우는 발효 24시간까지 증가하다가 발효 36시간에 감소, 발효 48시간에 다시 증가하였다고 하였다. 청국장장의 구수한 맛은 아미노산 성분인 아미노태 질소 함량에 따라 크게 좌우되며 중요한 인자이다(Suh et al. 1983). 발효시간에 따른 아미노태 질소 함량 변화는(Fig. 4) 증자 직후에 0.06%이었던 것이 발효가 진행됨에 따라 증가하여 48시간 발효시 0.34-0.51%이었다. 또한 접종포자농도가 높을수록 아미노태 질소 함량이 높았으며 특히 10^8 CFU/mL 처리구는 발효 36시간까지 다른 처리구에 비해 급격히 증가하다가 48시간 발효시 조금 감소하였다. Choi 등(1998)은 *B. subtilis*를 이용한 청국장장을 40°C에서 숙성 시 아미노태 질소 함량이 숙성 60시간에 576 mg%까지 증가하였으나 그 이후 감소하였다고 하였다. 청국장장의 총질소에 대한 아미노태 질소 비율인 단백질 분해율은 증자 직후 2%였던 것이 발효시간이 경과함에 따라 접종포자농도가 높을수록 분해율도 높았다. Suh 등(1983)은 발효시간이 경과함에 따라 단백질 분해율도 증가하였다고 보고하였는데 본 연구와 일치하는 경향을 보였다. 청국

장의 수용성 질소함량은(Fig. 5) 발효시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였으며, Lee와 Suh (1981)은 *B. natto*와 *B. subtilis*를 접종한 청국장의 수용성질소성분이 발효가 진행됨에 따라 증가하다가 발효 48시간에 최대함량을 보였다는 결과와 일치하였다. 총질소에 대한 수용성 질소의 비율인 질소용해율은 증가 직후 18.4%였던 것이 48시간 발효 시 62-75.9%로 급격히 증가하였다. 암모니아태 질소는(Fig. 6) 증가 직후 검출되지 않았으나 발효 36시간까지 증가하다가 발효 48시간

후에는 10^2 CFU/mL 처리구만 제외하고(19 mg%) 나머지 처리구는 유사한 수준(34-37 mg%)을 보였다. 청국장에 불쾌취를 주어 품질을 저하시키는 암모니아태 질소는 청국장의 품질 향상을 위해서 함량을 조절할 필요성이 있는데 접종포자농도와 발효시간을 조절함으로써 이취가 적은 청국장의 제조가 가능할 것으로 사료된다.

3. 청국장의 색도와 경도의 변화 포자농도별 · 발효시간별로 제조한 청국장의

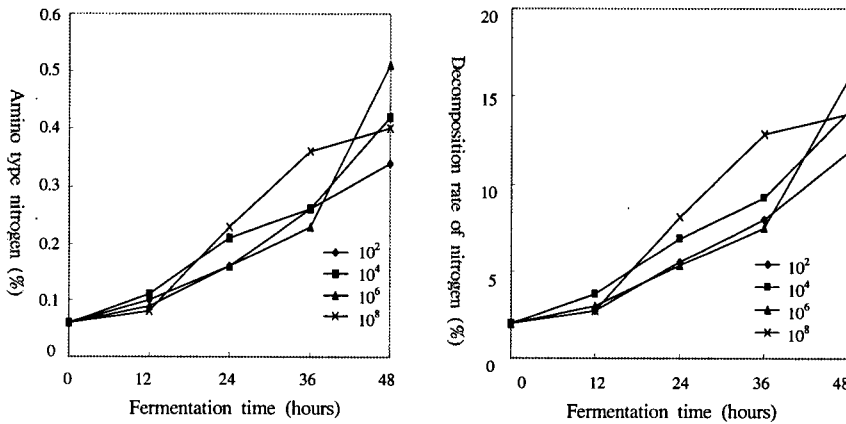


Fig. 4. The changes in amino type nitrogen and decomposition rate of nitrogen of *chunggugjang* prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

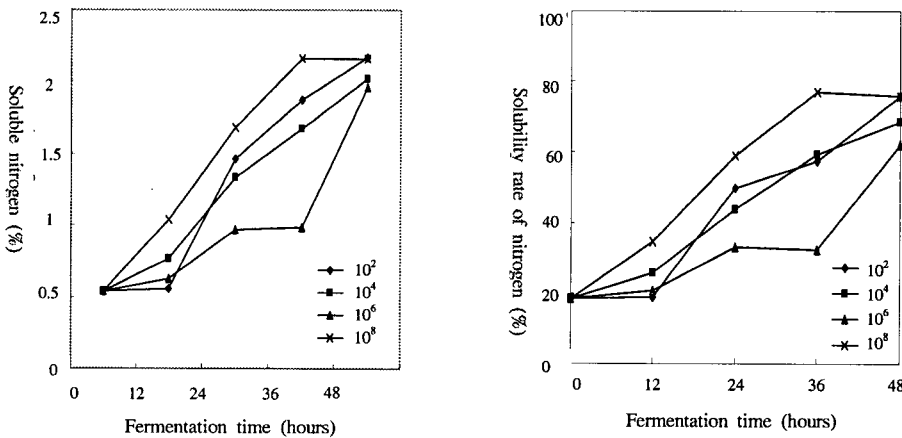


Fig. 5. The changes in soluble nitrogen and soluble rate of nitrogen of *chunggugjang* prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

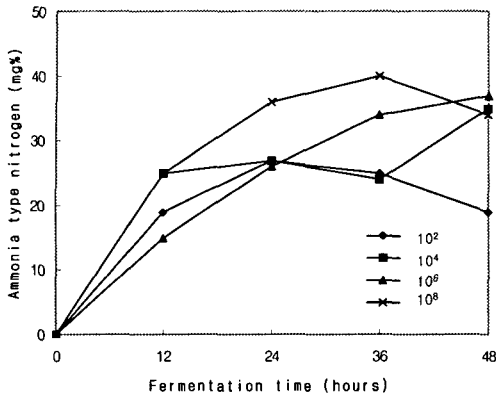


Fig. 6. The changes in ammonia type nitrogen of chunggugjang prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

색도변화를 측정된 결과는 Table 1과 같다. L값은 증자 직후 64.7이었으며 발효시간이 경과함에 따라 감소하였고 a값은 발효초기에 약간 증가후 감소하는 경향을 보였으며 b값은 유의적 차이를 나타내지 않았다. 이는 발효중 청국장의 색이 어둡고 보다 붉은 색을 띄게 되는 것을 알 수 있었다.

청국장의 경도는(Table 1) 증자 직후 652.7 g/Φ10mm이었던 것이 발효 48시간에는 354.3-420.8 g/Φ10mm로 발효시간이 경과함에 따라 감소하였으며 포자농도별로는 10² CFU/mL 접종시 청국장의 경도가 가장 높았고 10⁴-10⁸ CFU/mL 접종시에는 발효가 진행됨에 따라 유사한 수준을 보였다. 또한 모든 처리구에서 발효 12시간에 경도가 급격히 낮아지는 것으로 나타나서 발효초기에 경도에 영향을 미치는 성분 등이 미생물에 의해 분해됨을 짐작할 수 있었다. Son 등(2000)은 발효 12시간부터 경도가 감소하기 시작하여 발효 48시간을 지나면 절반 이상 감소한다고 하였고, Choi 등(1998)도 발효가 진행될수록 감소한다고 보고 하였는데 본 연구와 일치하는 경향을 보였다.

4. 청국장 점질물의 상대점도와 γ-GTP활성의 변화

포자농도별·발효시간별로 제조한 청국장의 점질물에 대한 상대점도와 γ-GTP활성은 Table 2와 같다. 청국장 점질물의 상대점도는 발효 12시간부터 24시간까지 증가하다가(10⁴-10⁸ CFU/mL)

Table 1. Hunter's color value and hardness of chunggugjang prepared by *B. subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

Inoculum level / Items			Fermentation time (hrs)				
			0	12	24	36	48
102 CFU/mL	Hunter's	L	64.7 ^a	61.9 ^b	60.4 ^{bcd}	58.8 ^{cdef}	57.3 ^{ef}
	color	a	5.4 ^{defg}	5.6 ^{cdef}	5.9 ^b	5.3 ^{fg}	5.7 ^{bc}
	value	b	17.1 ^a	17.7 ^a	16.5 ^a	16.5 ^a	16.7 ^a
	hardness(g/Φ10mm)		652.7 ^a	493.1 ^b	492.4 ^b	432.9 ^{cd}	420.8 ^{de}
104 CFU/mL	Hunter's	L	64.7 ^a	61.1 ^{bc}	58.7 ^{cdef}	59.2 ^{bcd}	58.1 ^{def}
	color	a	5.4 ^{defg}	5.9 ^b	5.9 ^b	5.5 ^{cdef}	5.6 ^{cde}
	value	b	17.1 ^a	16.7 ^a	16.0 ^a	16.6 ^a	16.7 ^a
	hardness(g/Φ10mm)		652.7 ^a	452.1 ^c	381.0 ^f	383.1 ^f	354.3 ^g
106 CFU/mL	Hunter's	L	64.7 ^a	59.9 ^{bcde}	58.8 ^{cdef}	58.4 ^{def}	57.0 ^f
	color	a	5.4 ^{defg}	6.2 ^a	5.4 ^{efg}	5.6 ^{cdef}	5.3 ^{fg}
	value	b	17.1 ^a	16.8 ^a	16.2 ^a	16.8 ^a	16.4 ^a
	hardness(g/Φ10mm)		652.7 ^a	477.7 ^b	401.9 ^{ef}	388.2 ^f	367.9 ^g
108 CFU/mL	Hunter's	L	64.7 ^a	64.5 ^a	61.8 ^b	59.4 ^{bcd}	58.7 ^{cdef}
	color	a	5.4 ^{defg}	5.6 ^{cdef}	5.2 ^g	5.9 ^b	5.7 ^{cd}
	value	b	17.1 ^a	17.5 ^a	17.0 ^a	16.9 ^a	17.3 ^a
	hardness(g/Φ10mm)		652.7 ^a	397.8 ^f	398.9 ^{ef}	385.1 ^f	379.3 ^f

발효가 진행됨에 따라 감소하였다.

청국장 점질물 구성성분은 fructose와 glutamic acid가 중합된 levan form fructan 과 polyglutamate (PGA)의 혼합물로(Ogawa et al. 1991; Hara et al. 1982) γ -GTP에 의해 생성되며 점질물의 분자량은 대략 15,000-65,000정도로 추정하며 발효시 배양조건에 따라 다소 차이가 있으며 이에 따른 점질물의 물성에도 큰 차이가 있다(Lee et al. 1992). 발효시간별 청국장의 γ -GTP활성은 점증포자농도 10^4 - 10^6 CFU/mL 범위에서 발효 36시간에서 48시간까지 증가하는 경향을 보였으나 10^8 CFU/mL의 경우 급격히 감소하였다. Kim과 Lee (1995)에

의하면 γ -GTP활성은 발효 16시간에 최대의 활성을 보인 후 약간 감소한다고 하였는데 본 연구와는 다소 차이가 있었다. Yoo와 Chang (1999)의 연구에서는 콩 품종별 청국장의 γ -GTP활성을 측정시 실파달콩 2호가 가장 높았고 광안콩, 단엽콩이 각각 높은 활성을 보였다고 하였다.

포자농도별 청국장의 γ -GTP활성은 발효초기에는 유의적 차이가 없었으나 발효 48시간 후에는 포자농도가 높을수록 활성이 낮아졌다. 본 실험 결과, 청국장의 생리활성 기능을 갖고 있는 점질물의 상대점도와 γ -GTP활성변화로 보아 청국장 발효시 48시간까지 발효하는 것은 바람직하지 않

Table 2. Relative viscosity and γ -GTP activity of chunggugjang prepared by B. subtilis NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation times

Inoculum level / Items		Fermentation time (hrs)				
		0	12	24	36	48
102 CFU/mL	Relative viscosity(Cps)	0 ^k	3.14 ^{ab}	3.03 ^{bc}	2.89 ^{cd}	2.80 ^d
	γ -GTP(U/mL)	0 ^k	0.038 ^{klj}	0.917 ^d	1.261 ^a	1.167 ^b
104 CFU/mL	Relative viscosity(Cps)	0 ^k	3.03 ^{bc}	3.26 ^a	3.03 ^b	2.45 ^e
	γ -GTP(U/mL)	0 ^k	0.043 ^j	0.750 ^e	0.834 ^e	0.913 ^d
106 CFU/mL	Relative viscosity(Cps)	0 ^k	2.50 ^c	3.04 ^{bc}	2.72 ^d	2.73 ^d
	γ -GTP(U/mL)	0 ^k	0.025 ^{klj}	0.652 ^h	0.789 ^f	0.856 ^e
108 CFU/mL	Relative viscosity(Cps)	0 ^k	2.50 ^e	3.18 ^{ab}	2.16 ^f	2.38 ^e
	γ -GTP(U/mL)	0 ^k	0.020 ^{klj}	0.620 ^h	1.003 ^c	0.361 ⁱ

Table 3. Changes of free sugars and organic acids of chunggugjang inoculated with 10^2 CFU/mL during fermentation times

Free sugar (%)	Fermentation time (hrs)			Organic acid (mg/g)	Fermentation time (hrs)		
	0	24	48		0	24	48
Arabinose	0.10	-	0.10	Phytic	49.6	36.6	35.8
Fructose	0.21	0.32	0.29	Oxalic	23.9	21.1	18.3
Glucose	0.05	-	-	Citric	14.5	11.6	9.9
Galactose	-	0.07	0.16	Tartaric	2.1	1.1	1.7
Sucrose	1.01	0.10	0.12	Malic	1.2	0.9	0.1
Maltose	0.12	0.21	0.19	Acetic	-	1.0	2.7
Lactose	0.11	0.49	0.24				
Melibiose	-	0.43	0.15				
Raffinose	0.24	0.02	0.07				
Stachyose	0.78	-	-				
Total	2.66	1.64	1.32	Total	91.3	72.3	67.4

은 것으로 판단되었다.

5. 유리당과 유기산 함량의 변화

청국장 발효중 유리당, 유기산 함량 변화는 선행된 연구(Kim et al., 2006)에서 적정 포자농도인 10^2 CFU/mL를 접종하여 조사한 결과 Table 3과 같다. 증자대두의 유리당 함량은 sucrose가 1010 mg%, stachyose가 780 mg%, raffinose가 240 mg%, fructose가 210 mg%순으로 함량 높았으며, *B. subtilis* NRLSI IV를 이용한 청국장은 glucose, sucrose, raffinose와 stachyose는 발효초기에 급격히 감소하였다. 이당류중 maltose와 lactose는 24시간 발효시 증가하다가 발효 48시간에 다시 감소하였고 galactose와 melibiose는 증자대두에서는 검출되지 않았다가 발효 24시간에 검출되었다. 본 연구에서 3당류인 raffinose와 4당류인 stachyose의 함량이 감소한 것은 청국장 발효가 진행됨에 따라 청국장균이 생성한 효소들의 활발한 작용으로 2당류와 단당류로 분해되어진 것으로 여겨진다. 특히 청국장 발효중 *B. subtilis*가 가장 많이 이용하는 유리당 중 glucose, sucrose가 급격히 감소한 결과로 보아 균의 성장에 중요한 영양원임을 확인할 수 있었다. Son 등(2000)은 *B. subtilis* CS-17을 이용하여 제조한 청국장의 경우, 증자대두의 유리당은 sucrose, stachyose, raffinose, fructose 및 glucose순으로 검출되었고, 청국장 발효중 glucose, sucrose 및 stachyose는 발효초기에 급격히 소비되었다고 보고하였는데 이는 본 연구결과와 유사한 감소 패턴을 보였다. Kim 등(1987)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.

증자대두의 유기산 함량은 phytic acid가 가장 많았고, oxalic acid, citric acid, tartaric acid 및 malic acid순으로 검출되었고 증자대두에서는 검출되지 않았던 acetic acid가 발효가 진행됨에 따라 증가하였다. 반면에 나머지 유기산들은 발효시간이 경과함에 따라 그 함량이 감소하였다. Son 등(2000)의 연구에서는 증자대두에서 oxalic

acid, citric acid, tartaric acid, malonic acid 및 fumaric acid가 검출되었고 lactic acid는 증자대두에는 검출되지 않았으나 발효 24시간에는 가장 많은 양을 함유하였고 oxalic acid, citric acid, tartaric acid는 발효가 진행됨에 따라 감소하였다고 보고하였는데 본 연구결과와 유사한 경향을 나타냈다.

참고문헌

- 윤숙자(1998) 한국의 저장 발효음식. 서울; 신광출판사.
- AOAC(1990) Official method of analysis. 15th ed., The Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. U.S.A.
- Cheong DH · Shim SK(1994) In "Fermented Soy Food". Korea, Jisungsaem, 673-686.
- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, 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, Chung YG(1998) Characteristics of chunggugjang produced by *Bacillus subtilis* DC-2. J Korean Soc Food Sci Nutr 27(5), 846-851.
- Choi YB, Sohn HS(1998) Isoflavone content in korean fermented and unfermented soybean foods. Korean J Food Sci Technol 30, 745-750.
- Chung KS, Yoon KD, Hong SS, Kwon DJ(1996) Antimutagenic and anticarcinogenic effect of korean fermented soybean products. J Food Sci Technol 1, 75-85.
- Hara T, Aurrayr A, Fujio Y, Ueda S(1982) Elimination of plasmid-linked polyglutamate production *Bacillus subtilis*(natto) with acridine orange. Japan Appl and Environment Microbiol 44(6), 1456-1458.
- Heo S, Lee SK, Joo HK(1998) Isolation and identification of fibrinolytic bacteria from Korean traditional chungkookjang. Agri Chem Biotechnol 41, 119-124.
- In JP, Lee SK, Ahn BK, Chung IM, Jang CH(2002) Flavored improvement of chungkookjang by addition of yucca(*yucca shidibera*) extract. Korean J Food Sci Technol 34(1), 57-64.
- Kim BR, Han YB, Park KH(1987) Changes of free

- sugar and free amino acid during the natto fermentation used by *Bacillus* S.N.V 816. J Korean Agric Chem Soc 30, 192-197.
- Kwon HY, Kim YS, Kwon KS, Kwon JS, 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.
- Kim BN, Lee SY(1995) Nattokinase, γ -GTP, protease activity and sensory evaluation of natto added spice. J Korean Soc Food Sci Nutr 24(2), 228-233.
- Kim KM, Kim HR, Yoo SM, Kim JS, Choe JS (2006) The quality characteristics of *chunggugjang* prepared by *Bacillus subtilis* NRLSI IV on the different inoculum levels and fermentation temperatures. Korean J Food Cookery Sci 22(3), 259-266.
- Kim WK, Choi KH, Kim YT, Park HH, Choi JY, Lee YS, Oh HI, Kwon IB, Lee SY(1996) Purification and characterization of fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* strains CK11-4 screened from *chungkookjang*. Appl Environ Microbiol 62, 2482-2488.
- Lee BY, Kim DM, Kim KH(1991a) Studies on the changes in rheological properties of *chungkook-jang*. Korean J Food Sci Technol 23(4), 478-484.
- Lee BY, Kim DM, Kim KH(1991b) Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *chungkookjang*. Korean J Food Sci Technol 23, 599-604.
- Lee HJ, 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 KH, Lee HJ, Jung MK(1971) Studies on *chunkukjang*(I). On the changes of soybean protein in manufacturing *chungkookjang*. J Korean Agric Chem Soc 14(3), 191-200.
- Lee YL, Kim SH, Jung NH, Yim MH(1992) A study on the production of viscous substance during the *chungkookjang* fermentation. Korean J Food Sci Technol 35, 202-209.
- Matsui T, Yoo HJ, Hwang JS, Lee DS, Kim HB(2004) Isolation of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *chunggugjang*. Korean J Microbiology 40, 355-358.
- Ogawa Y, Hosoyama H, Hamano M, Motail H(1991) Purification and properties of γ -GTP from *Bacillus subtilis*(natto). Japan Agric Biol Chem 55(12), 2971-2977.
- Park KI(1972a) Studies on the N-compounds during *chunkukjang* meju fermentation(I). Changes of soybean protein during *chunkukjang* meju fermentation. J Korean Agric Chem Soc 15(2), 93-109.
- Park KI(1972b) Studies on the N-compounds during *chunkukjang* meju fermentation(II). Amino acids of oligopeptides formed during *chunkukjang* fermentation. J Korean Agric Chem Soc 15(2), 111-142.
- Rhee SH, Kim SK, Cheigh HS(1983) Studies on lipids composition during *chungkookjang* fermentation I. Changes of lipids composition during *chungkookjang* fermentation. Korean J Food Sci Technol 15, 399-403.
- Son DH, Kwon OJ, Ji WD, Choi UK, Kwon OJ, Lee EJ, Cho YJ, Cha YS, Chung TG, Chung YG(2000) The quality changes of *chunggugjang* prepared by *Bacillus* CS-17 during fermentation time. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 43(1), 1-6.
- Suh JS, Lee SG, 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, 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(4), 385-391.
- Weatherburn MW(1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. J Anal Chem 39, 971-974.
- Yoo SM, Chang CM(1999) Study of processing adaptability of soybean cultivars for Korean traditional *chunggugjang* preparation. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 42(2), 91-98.