

황기청국장의 발효 중 품질특성

최혜선 · 주선종[†] · 윤향식 · 김기식 · 송인규 · 민경범
충청북도농업기술원

Quality Characteristic of *Hwangki*(*Astragalus membranaceus*) *Chungkukjang* during Fermentation

Hye-Sun Choi, Seon-Jong Joo[†], Hyang-Sik Yoon, Ki-Sik Kim, In-Gyu Song
and Kyeong-Beom Min

Chungcheongbuk-do Agricultural Research and Extension Services, Cheongwon 363-883, Korea

Abstract

This study investigated the effects of a *Hwangki* (*Astragalus membranaceus*) extract on the quality of *Chungkukjang* fermented by *Bacillus subtilis* KCCM 12148, at 30, 40, and 50°C, for 4 days. Changes in moisture contents, protein levels, pH values, ammonia-type nitrogen levels, color, angiotensin-converting-enzyme (ACE) inhibition rates, and fibrinolytic activities, were all determined. For both control and test, the moisture contents decreased gradually with time and the protein levels increased slightly. The pH values fell at the beginning of fermentation and then rose. The content of ammonia-type nitrogen was higher in *Hwangki* with *Chungkukjang* than in control, until 24 hr after fermentation commenced. After that time, the content of ammonia-type nitrogen control was higher in the control than in the *Hwangki* with *Chungkukjang* sample. Color features, such as lightness, redness, and yellowness, all decreased during fermentation, in both control and test. The highest ACE inhibition rates during fermentation at 40°C were 90.9% in the control (48 hr after fermentation commenced) and 95.3% in *Hwangki* with *Chungkukjang* (24 hr). Fibrinolytic activities of *Chungkukjang* and *Hwangki* *Chungkukjang* were 100.7 and 74.4% respectively. The content of 2,6-dimethyl pyrazine in the control was higher than that in *Hwangki* with *Chungkukjang*. Sensory evaluation tests showed that the addition of *Hwangki* significantly improved the overall palatability of *Chungkukjang*.

Key words : chungkukjang, astragalus membranaceus, quality characteristics

서 론

우리나라 전통식품인 청국장은 증자 대두에 *Bacillus subtilis*를 접종하여 발효한다. 숙성 중, protease, amylase와 같은 여러 효소에 의해 단백질 및 전분이 분해되어 polypeptide가 형성되어 소화되기 쉽고 특유의 향을 갖으며 각종 유기산 및 비타민을 함유하고 있어 다른 장류와는 달리 제조방법이 짧고 간편한 대두 가공식품이다(1-2). 혈전은 고혈압, 뇌출혈의 원인이 되며 혈전분해효소를 생산하는 *Bacillus* 속 균으로 제조한 청국장이 성인병 예방기능이 있는 건강식으로 알려져 왔다(3). 또한 혈전증(thrombosis)

의 치료에 널리 사용되고 있는 urokinase, streptokinase, tPA (tissue type plasminogen activator) 등은 가격이 매우 높고 urokinase를 제외한 나머지는 경구투여가 부작용이 문제되어 식품유래의 혈전용해제에 관심이 많아지고 있다(4-5). 연구동향을 살펴보면, 청국장 향기성분 및 물성 변화(6-7), 점질물의 이화학적 특성에 관한 연구(8), 방사선 조사 시 청국장의 품질 특성 변화(9-10), 콩 품종 및 균주별 청국장의 향미 및 품질 특성에 관한 연구(11-13), 검정콩 및 유카(유카 *Shidaigera*)추출물을 첨가하여 제조한 청국장에 관한 연구(14-15), 콩 발효 식품으로부터 분리된 bioactive peptide의 생산 및 특징에 관한 연구(3), ACE저해기능성을 갖는 된장의 peptide에 관한 연구(16)가 있으나 황기를 첨가한 청국장에 관한 보고는 없는 실정이다. 황기(*Astragalus*

[†]Corresponding author. E-mail : Joosj@cbares.net,
Phone : 82-43-220-8341, Fax : 82-43-220-8469

membraneus)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본으로 우리나라의 중북부 지역인 제천, 정선, 단양에서 주로 재배되고 있다. 황기 재배 면적은 889.1 ha로 연간 1,933 ton이 생산되고 있다(17). 황기는 주로 약용으로 이용되고 있으며 그 활용도가 다양하지 않다. 한방에서는 그 뿌리를 주로 약재로 사용하고 있으며 간장 보호 작용, 면역촉진 작용, 항암작용, 강장작용, 이노작용 등의 효능이 있으며(18) 항균활성, 항산화 능, 다량의 폴리페놀물질 및 isoflavonoid 함유 등의 생리활성이 보고되었다(19-21).

이와 같이 청국장 및 황기에 대한 여러 연구가 보고 되어져 왔으나 황기 청국장에 관한 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 황기의 용도 다양화 및 황기 첨가함으로써 청국장 발효 할 때 기능성을 높이기 위해 황기 추출액을 이용하여 황기 청국장 발효 중 품질특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 대두는 국산을 사용하였으며, 황기는 충청북도 제천산으로 2005년도에 생산된 것을 사용하였고, 사용균주인 *Bacillus subtilis* KCCM 12148은 (사)한국중균협회에서 분양받았다. 분석에 사용한 시약은 Sigma Aldrich (Sigma, ST. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다.

황기 추출액 제조

건조 황기분말(2 mm×3 mm)에 6배의 증류수를 가한 후 고압추출장치(JS-0021, 정성실업, 서울, 한국)를 이용하여 121℃에서 3시간 동안 추출하였다. 황기 수침액은 고형분 함량 4.4%의 추출액을 2.2%로 2배 희석하여 사용하였다.

청국장의 제조

정선한 콩을 실온 25℃에서 물에 20시간, 황기 추출액에 20시간 동안 각각 침지한 후 121℃에서 60분 동안 증자하였다. 증자 후 냉각된 콩을 polystyrene 용기에 300 g씩 분주한 후, *Bacillus subtilis* 12148 (1.9×10^6 CFU/mL)을 시료무게의 1%가 되게 접종하여 30, 40 및 50℃에서 0~96시간 배양하면서 12시간 간격으로 샘플링한 후 분석용 시료로 사용하였다.

수분 및 조단백질 함량측정

수분함량은 AOAC 방법에 따라 각각 105℃ 상압건조법으로 측정하였으며 조단백질 함량은 단백질 측정 장치(Kjeltec 2300, Foss, Sweden)를 이용하여 질소 환산계수 6.25로 계산하였다(22).

pH 및 아미노태 질소 측정

pH는 pH 측정기(720A, Orion, USA)를 이용하여 측정하였고 아미노태 질소는 시료 100 g에 증류수를 넣어 200 mL로 정용한 후, 300 rpm, 20분 동안 진탕 추출하였고 8000 g에서 20분 동안 원심분리 하여 여과지(Adventec No. 2)로 여과 후 여액 일부를 20배 희석하였다. 시료 5 mL, 중성 formalin 용액 10 mL, 증류수 10 mL을 넣은 플라스크에 0.5% phenolphthalein 용액을 2~3방울 가한 후, 0.5 N NaOH로 미홍색이 될 때까지의 적정량과 시료 5 mL, 증류수 20 mL을 넣은 플라스크에 0.5% phenolphthalein 용액을 2~3방울 가한 후, 0.5 N NaOH로 미홍색이 될 때 까지 적정한 후, 적정량을 이용하여 아미노태 질소 함량을 산출하였다.

색도

색도는 색차계 (CM-3500d, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였으며 L(명도), a(적색도), b(황색도)로 나타내었다.

ACE 저해도

ACE 저해도 측정은 Cushman과 Cheng의 방법(23)으로 측정하였다. 청국장 100 g에 증류수를 넣어 200 mL로 정용한 후, 300 rpm, 3시간 동안 진탕 추출하였고 8,000 g에서 20분 동안 원심분리 하여 여과지(Adventec No. 2)로 여과 후 여액을 ACE 저해용액으로 사용하였다. 0.3 M NaCl을 포함한 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질 5 mM hippuryl-histidyl-leucine용액 100 uL와 ACE (0.2 unit/mL)용액 80 uL 및 저해용액 100 uL를 혼합하였고, 대조구는 저해용액 대신 100 uL의 증류수를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시키고, 1N HCl을 250 uL 첨가하여 반응을 중지시킨 뒤 1.25 mL의 ethylacetate를 첨가하였다. 이를 vortexing 한 후 원심분리 하여 ethylacetate층 1 mL을 취하고 이를 휘발 시킨 후, 증류수 1 mL을 첨가하여 효소에 의해 기질로부터 분리된 hippuric acid를 280 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 식에 의해 ACE 저해도를 계산하였다.

$$ACE \text{ inhibition rate } (\%) = \left(1 - \frac{Abs. \text{ of sample}}{Abs. \text{ of control}}\right) \times 100$$

혈전 용해능

혈전 용해능은 Kim 등(5)이 행한 방법으로 측정하였다. 청국장 100 g에 증류수를 넣어 200 mL로 정용한 후, 300 rpm, 20분 동안 진탕 추출하였고, 8,000 g에서 20분 동안 원심분리 하여 여과지(Adventec No. 2)로 여과 후 여액을 혈전 용해능 측정에 사용하였다. 0.15 M NaCl을 포함하는 10 mM phosphate buffer(pH 7.8)에 fibrinogen을 0.3%가 되도록 용해시키고, 완전히 용해된 fibrinogen 용액 5 mL에 1% agarose 용액 5 mL을 첨가하여 충분히 혼합하였다. 이에

thrombin(100 NIH/mL) 0.1 mL을 첨가하여 혼합한 후, 즉시 petri dish에 붓고 실온에서 5~10분간 방치하여 응고시켰으며 피펫을 이용하여 구멍을 만들어 fibrin plate를 만들었다. 시료를 20 μ L씩 구멍에 주입하고 37°C에서 18시간 동안 반응시킨 후, fibrin plate의 용해면적을 측정하였으며 대조구는 정제된 혈전용해효소인 plasmin(1.0 unit/mL)을 사용하여 다음과 같은 식으로 혈전 용해능을 계산하였다.

$$\text{Fibrinolytic activity (\%)} = \left(\frac{\text{Area of sample}}{\text{Area of plasmin}} \right) \times 100$$

향기성분

향기성분은 청국장 5 g을 headspace용 20 mL vial에 담아 headspace autosampler(Agilent 7694E)로 추출하였다. 추출 조건은 80°C 온도에서 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.

추출한 향기성분은 GC/MS를 이용하여 정성하였다. GC/MS는 Agilent사의 HP-6890N /5973을 이용하였고, 컬럼은 HP-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)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-MS로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275L data base로 검색하여 동정하였다.

관능검사

관능검사는 청국장 100 g에 고춧가루 2 g, 마늘 0.2 g, 소금 8.0 g를 첨가하여 2일 동안 4°C에서 숙성시킨 후, 물 500 mL에 숙성된 청국장 50 g을 넣고 5분간 끓인 후 이를 관능검사용 시료로 하여 검사요원 20 명이 9점 평점법(27)으로 평가하였다.

통계처리

실험결과는 3회 반복 실험을 실시하였고 통계 package window용 SAS rel. 6.12를 사용하여 분산분석 하였으며, 시료간 차이의 유무는 Duncan's multiple range test를 사용하여 비교분석하였다(28).

결과 및 고찰

수분 및 단백질 함량 변화

청국장 발효 중 수분함량 변화는 Table 1과 같다. 발효

초기에 대조구, 황기 처리구 각각 59.39, 57.51%를 나타냈으며, 발효 중에는 비슷하게 유지되다가 발효 후기에 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 이는 발효 중, 수분 증발로 인한 건조가 이루어졌기 때문이라고 생각된다. 단백질 함량은 Table 2와 같이 발효초기 단백질 함량은 대조구, 황기 처리구 각각 17.43%, 17.98%였고 발효 중 단백질 함량이 증가하였다. 이는 발효 중 *B. subtilis* 12148의 균체 증식에 의한 증가 및 수분감소에 의한 상대적인 증가로 생각된다.

Table 1. Changes of moisture content of Hwangki Chungkukjang with fermentation time (unit : %)

Temp. (°C)	Control			Hwangki		
	30	40	50	30	40	50
0	59.39 ^a	59.39 ^{bc}	59.39 ^a	57.51 ^b	57.51 ^c	57.51 ^b
12	58.49 ^{bc}	59.37 ^{bc}	59.87 ^a	57.85 ^{ab}	58.37 ^{ab}	56.11 ^c
24	57.12 ^c	60.13 ^{bc}	58.01 ^b	58.66 ^a	58.30 ^{ab}	58.58 ^a
36	53.75 ^e	60.32 ^{ab}	58.62 ^b	54.11 ^c	58.01 ^{bc}	56.15 ^c
48	57.52 ^{bc}	61.34 ^a	57.75 ^c	54.75 ^c	55.70 ^d	55.23 ^d
60	58.83 ^{ab}	58.88 ^c	54.43 ^c	51.13 ^d	58.75 ^a	52.29 ^e
72	56.22 ^f	61.22 ^a	56.84 ^d	51.30 ^d	57.78 ^{bc}	52.20 ^e
84	58.11 ^{cd}	58.57 ^c	56.47 ^d	51.00 ^d	56.16 ^d	50.27 ^f
96	57.15 ^e	59.01 ^{bc}	54.20 ^e	51.17 ^d	53.68 ^e	49.15 ^e

^{a-g}Means with different letters within a column are significantly different (p<0.001). Control: Chungkukjang, Hwangki: Hwangki Chungkukjang.

Table 2. Changes of protein content of Hwangki Chungkukjang with fermentation time (unit : %)

Temp (°C)	Control			Hwangki		
	30	40	50	30	40	50
0	17.43 ^c	17.43 ^d	17.43 ^{ef}	17.98 ^c	17.98 ^c	17.98 ^d
12	18.11 ^c	16.69 ^d	16.86 ^f	17.38 ^c	17.73 ^c	18.62 ^{cd}
24	17.92 ^c	18.62 ^{bc}	17.75 ^c	19.00 ^c	18.65 ^d	17.91 ^d
36	23.34 ^a	18.42 ^{bc}	18.97 ^d	19.34 ^c	19.33 ^c	19.25 ^c
48	12.85 ^d	18.21 ^c	19.11 ^{cd}	19.73 ^c	19.81 ^{bc}	21.57 ^b
60	19.07 ^{bc}	19.43 ^{ab}	20.95 ^a	21.99 ^b	19.73 ^{bc}	21.42 ^b
72	19.13 ^{bc}	18.84 ^{bc}	19.50 ^{bc}	23.11 ^b	19.83 ^{bc}	21.62 ^b
84	18.35 ^{bc}	19.75 ^{ab}	20.15 ^b	31.33 ^a	20.35 ^{ab}	21.84 ^b
96	19.92 ^b	19.90 ^a	20.17 ^b	23.08 ^b	21.04 ^a	22.87 ^a

^{a-g}Means with different letters within a column are significantly different (p<0.001). Control: Chungkukjang, Hwangki: Hwangki Chungkukjang.

pH 변화 및 아미노태 질소 함량 변화

황기 첨가 청국장 발효 중 pH 변화는 Table 3과 같다. 대조구 및 황기 첨가구의 pH는 6.21, 6.07을 나타냈고 발효가 진행될수록 증가하는 경향을 보였다. 40°C, 50°C에서 발효 시 30°C 보다 높은 값을 나타냈다. 이와 같은 결과는

Choi 등(12)이 *B. subtilis* DC-2를 이용하여 제조한 청국장 발효과정 중의 pH변화를 측정한 결과 발효초기 pH 6.84를 나타내었고 84시간째에 8.54까지 증가한다는 결과와 유사 하였으며 발효 할 때 생성되는 암모니아 때문이라고 생각 된다.

황기 첨가 청국장의 아미노태 질소 함량 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 대조구 및 황기첨가 청국장은 발효 시간이 경과함에 따라 계속 증가하였으며, 이는 균에 의해 생성된 단백질 가수분해 효소의 작용으로 콩 단백질들이 작은 펩타이드로 분해되었기 때문이라고 생각된다. 40℃ 발효 시 대조구는 48시간에 316 mg%였으나 황기 첨가구는 166 mg%로 대조구에 비해 낮은 값으로 나타났으며, 발효시간 60시간 이상이 되어야 비슷한 값을 나타내었다. 이는 Lee 등(7)은 *B. subtilis*와 *B. natto*의 혼합균주를 이용하여 청국장을 제조 할 때, 모든 시험구에서 발효 72시간까지 아미노태 질소함량이 증가하였고(7), *B. natto*를 이용한 청국장에서 보다 높은 증가를 보여 균주에 따라 아미노태 질소의 생성

Table 3. Changes of pH of Hwangki Chungkukjang fermentation with fermentation time

Temp (°C)	Control			Hwangki		
	30	40	50	30	40	50
0	6.21 ^c	6.21 ^g	6.21 ^h	6.07 ^b	6.07 ^g	6.07 ^h
12	4.93 ⁱ	6.00 ^h	6.13 ⁱ	5.27 ^h	5.80 ⁱ	6.17 ^g
24	5.88 ^g	6.00 ^h	6.46 ^g	5.80 ^f	5.99 ^h	5.01 ⁱ
36	5.92 ^f	6.48 ^f	6.93 ^f	5.82 ^d	6.10 ^f	6.55 ^f
48	5.81 ^h	7.08 ^c	6.96 ^e	5.79 ^g	6.60 ^e	6.74 ^e
60	6.06 ^e	7.49 ^d	7.45 ^d	5.81 ^e	6.78 ^d	6.98 ^d
72	6.20 ^d	7.76 ^b	7.52 ^c	5.80 ^e	7.47 ^c	7.15 ^c
84	6.67 ^b	7.65 ^c	7.72 ^b	5.84 ^c	7.54 ^b	7.54 ^a
96	6.96 ^a	7.79 ^a	7.82 ^a	6.43 ^a	7.56 ^a	7.41 ^b

^{a-i)}Means with different letters within a column are significantly different (p<0.001). Control: Chungkukjang, Hwangki: Hwangki Chungkukjang.

Table 4. Changes of color(L, a, b) of Chungkukjang fermentation with fermentation time

Time (hr)	Fermentation temp.(°C)											
	30				40				50			
	L	a	b	a/b	L	a	b	a/b	L	a	b	a/b
0	50.02 ^d	10.83 ^c	26.64 ^b	0.41 ^f	50.02 ^c	10.83 ^b	26.64 ^a	0.41 ^e	50.02 ^a	10.83 ^c	26.64 ^b	0.41 ^h
12	47.60 ^h	11.09 ^a	26.39 ^f	0.42 ^e	47.81 ^f	10.82 ^c	25.90 ^b	0.42 ^d	46.48 ^d	10.98 ^b	26.14 ^c	0.42 ^g
24	49.01 ^e	10.98 ^b	26.78 ^a	0.41 ^f	47.29 ^g	10.9 ^a	25.43 ^c	0.43 ^c	45.89 ^e	11.26 ^a	27.36 ^a	0.41 ^h
36	46.85 ⁱ	9.62 ^f	18.98 ⁱ	0.51 ^a	52.26 ^b	8.41 ^h	19.72 ⁱ	0.43 ^c	46.57 ^c	9.27 ^e	19.58 ^c	0.47 ^c
48	48.83 ^f	9.30 ^h	19.35 ^h	0.48 ^b	52.47 ^a	8.40 ⁱ	20.96 ^f	0.40 ^f	46.83 ^b	9.36 ^d	20.63 ^d	0.45 ^f
60	50.75 ^b	9.54 ^g	19.79 ^g	0.48 ^b	48.99 ^e	9.26 ^f	20.95 ^g	0.44 ^b	42.44 ^f	8.85 ^g	17.33 ^g	0.51 ^c
72	50.78 ^a	8.85 ⁱ	19.99 ^f	0.44 ^d	49.12 ^d	9.55 ^e	21.68 ^d	0.44 ^b	42.18 ^g	8.85 ^g	17.86 ^f	0.50 ^d
84	50.23 ^c	9.90 ^d	22.31 ^d	0.44 ^d	46.95 ^h	9.11 ^g	20.53 ^h	0.44 ^b	40.02 ^h	8.93 ^f	16.87 ^h	0.53 ^b
96	47.67 ^g	9.66 ^c	21.38 ^e	0.44 ^c	45.15 ⁱ	10.32 ^d	21.13 ^e	0.49 ^a	38.69 ⁱ	8.74 ^h	15.69 ⁱ	0.56 ^a

^{a-i)}Means with different letters within a column are significantly different (p<0.001).

Table 5. Changes of Color(L, a, b) of Chungkukjang with fermentation time

Time (hr)	Fermentation temp.(°C)											
	30				40				50			
	L	a	b	a/b	L	a	b	a/b	L	a	b	a/b
0	45.84 ^e	12.06 ^b	26.74 ^c	0.45 ^c	45.84 ^f	12.06 ^b	26.74 ^b	0.45 ^c	45.84 ^b	12.06 ^c	26.74 ^c	0.45 ^g
12	45.73 ^f	11.82 ^c	27.03 ^b	0.44 ^f	45.11 ^g	12.23 ^a	27.74 ^a	0.44 ^f	45.09 ^c	12.62 ^b	28.03 ^b	0.45 ^g
24	45.96 ^d	12.26 ^a	28.03 ^a	0.44 ^f	44.35 ^h	12.04 ^c	25.93 ^c	0.46 ^d	44.42 ^e	12.65 ^a	28.52 ^a	0.44 ^h
36	46.31 ^b	10.18 ^g	19.14 ^f	0.53 ^c	47.58 ^c	10.15 ^d	19.24 ^f	0.53 ^a	46.33 ^a	9.68 ^f	19.50 ^e	0.50 ^f
48	46.66 ^a	10.36 ^f	19.39 ^e	0.53 ^c	48.93 ^b	9.75 ^f	20.96 ^d	0.47 ^c	44.55 ^d	10.26 ^d	20.09 ^d	0.51 ^e
60	46.10 ^c	10.47 ^d	19.78 ^d	0.53 ^c	49.28 ^a	7.70 ⁱ	17.92 ⁱ	0.43 ^g	41.12 ^f	9.81 ^c	17.44 ^f	0.56 ^c
72	45.63 ^g	10.16 ^h	19.39 ^e	0.52 ^d	47.21 ^e	9.28 ^g	20.11 ^c	0.46 ^d	40.40 ^g	8.82 ^g	16.36 ^g	0.54 ^d
84	44.45 ^h	10.45 ^e	18.58 ^g	0.56 ^b	47.27 ^d	9.22 ^h	19.11 ^g	0.48 ^b	38.00 ^h	8.25 ⁱ	14.36 ^h	0.57 ^b
96	41.44 ⁱ	9.14 ⁱ	16.17 ^h	0.57 ^a	42.73 ⁱ	10.00 ^e	19.01 ^h	0.53 ^a	35.74 ⁱ	8.63 ^h	13.30 ⁱ	0.65 ^a

^{a-i)}Means with different letters within a column are significantly different (p<0.001).

이 다름을 보고하였으며, 그 외 다른 연구자들의 보고와 일치하는 결과였다(12,15). 발효 24시간까지는 대조구에 비하여 황기첨가구의 값이 높았으나 24시간 이후 황기첨가구의 값이 낮았다. 유카 추출물을 첨가한 청국장의 발효 중 아미노태 질소 함량이 증가하였고, 대조구보다 높은 값을 나타내었다는 보고와는 경향이 다르다(15). 이는 추출물의 종류 및 첨가량과 추출물의 성분 중 발효에 영향을 미치는 요인이 다르기 때문이라고 생각된다.

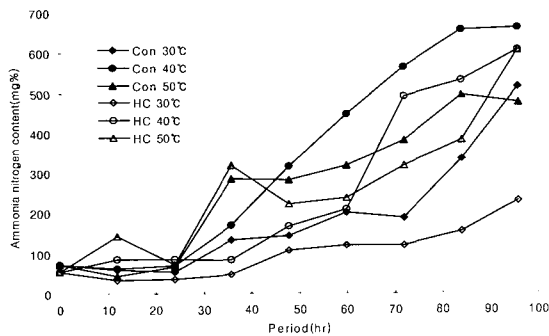


Fig. 1. Changes in ammonia type nitrogen content of Hwangki Chungkukjang with fermentation time.

Con 30°C: Chungkukjang at 30°C, HC 30°C: Hwangki Chungkukjang 30°C
 Con 40°C: Chungkukjang at 40°C, HC 40°C: Hwangki Chungkukjang 40°C
 Con 50°C: Chungkukjang at 50°C, HC 50°C: Hwangki Chungkukjang 50°C.

색도 변화

황기 첨가 청국장 발효 중 색도 변화는 Table 4, 5와 같다. 대조구의 명도는 50.02, 적색도는 10.83, 황색도는 26.64였고 황기처리구의 명도는 45.84, 적색도는 12.06, 황색도는 26.74였다. 초기 값에 비해 발효 중 명도, 적색도, 황색도 값이 모두 낮았으며 어두운 황갈색이었다. 적색도/황색도 (a/b)의 값은 적색도를 나타낼 수 있는데 대조구는 초기 값이 0.41이었고, 발효 시간과 온도가 높아짐에 따라 0.41~0.56로 높아졌다. 황기 첨가구는 초기 값이 0.45로 발효가 진행될수록 높아졌고, 발효온도 50, 30, 40°C의 순서로 높았다. 이는 콩의 당과 아미노산이 열에 의해 반응하여 마이알 반응이 일어났고, 발효 온도에 의한 수분증발이 청국장의 색에 영향을 미쳤다고 생각된다. Yoo와 Chang(13)은 콩 품종별 청국장을 가공하여 다양한 값의 결과를 얻었으며, Choi 등(12)도 청국장 발효 중 a/b 적색도가 초기에 비해 증가하는 결과를 나타내었다.

Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해효과

40°C에서 제조한 청국장의 발효시간별 ACE저해도 변화는 Fig. 2와 같다. 대조구에 비해 황기 첨가구에서 높은 값을 나타내었다. 대조구는 초기 값 73.63%이었으며 발효 시간이 경과함에 따라 증가하여 48시간 발효 시 86.00%를 나타내었으며 그 후, 감소하는 경향을 보였다. 황기 첨가구

는 초기 값 85.48%였으며 발효시간이 경과함에 따라 증가하여 24시간 발효 시 95.31%로 가장 높은 값을 나타낸 후 감소하는 경향을 보였다. Cho 등(24)의 연구에서 증자한 콩에 *B. subtilis* CH-1023 균주를 접종하여 발효 후, ACE 저해도를 측정 한 결과, 40°C에서 60시간의 배양조건에서 가장 높은 46.95%의 저해를 나타내었고 60시간 이후 값이 감소하는 경향을 보였다고 하였다. 또한 protease activity가 가장 높은 조건에서 대두단백질의 분해에 의해 용출된 peptide양이 가장 많아 ACE 저해도가 높은 것으로 보였다고 하였다. 또한 황기의 saponin이 고혈압 발병을 저해한다는 보고(25)와 같이 황기의 유효성분이 청국장의 polypeptide와 함께 ACE저해효과를 상승시켰다고 판단된다.

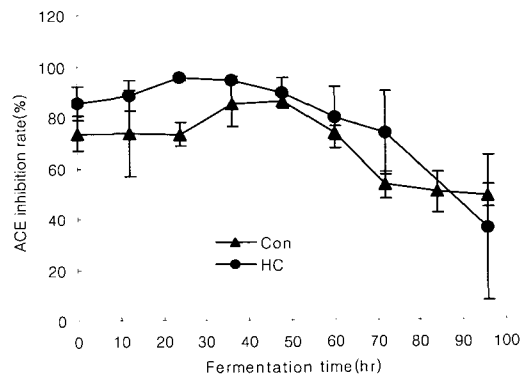


Fig. 2. Changes in ACE inhibition rate of Hwangki Chungkukjang with fermentation time.

Con : Chungkukjang, HC : Hwangki Chungkukjang.

혈전 용해능

40°C에서 48시간 동안 발효시킨 청국장 추출액과 황기 추출액의 혈전 용해능은 Fig.3과 같다. 대조구가 100.7%, 황기 첨가구가 74.43%, 황기 추출액이 46.7%의 값을 나타내었다. 이는 아미노태 질소 함량의 결과에서도 알 수 있듯이 대조구에 비해 황기 청국장에서 혈전용해능이 있는 polypeptide함량이 상대적으로 적게 생겼기 때문이라고 생각된다. Lee 등(8)은 청국장 점질물의 fibrinolytic activity는 *B. natto*가 0.438 unit/mg protein, *B. subtilis*가 0.163 unit/mg protein이었으며 100°C에서 5분간 열처리 하였을 경우 45%의 혈전용해능이 남아 있다고 보고하고 있다. 또한 Chang 등(26)의 연구에서는 청국장 발효 중 순수 분리한 220개 균주 중 점질물인 polypeptide 생성능이 가장 많은 균주를 우선 선별한 후, 혈전용해능이 좋은 균주를 선별하였다. 식품유래 혈전 용해능을 갖는 여러 효소들의 N-terminal amino acid sequence를 비교해 본 결과 14~15개의 amino acid residue가 일치하는 것을 보여준 연구가 있다(4).

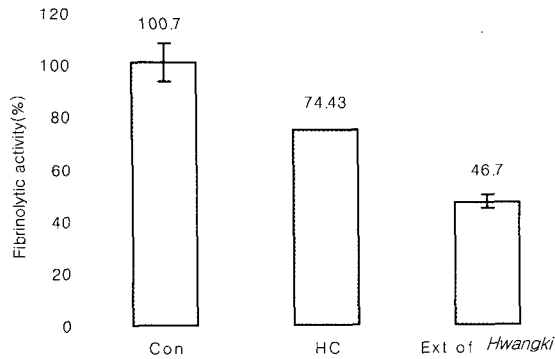


Fig. 3. Fibrinolytic activities of Hwangki Chungkukjang and extract of Hwangki.

Con : Chungkukjang, HC : Hwangki Chungkukjang, Ext of Hwangki : Water extract of Hwangki.

향기성분

황기가 청국장의 향기성분에 미치는 영향을 조사하기 위해 headspace 방법으로 추출하여 GC/MS로 정성한 결과는 Table 6과 같다. 추출물을 관능기별로 구분하면 ketone류, alcohol류, heterocyclic 화합물, 기타 화합물로 분류할 수 있다. Ketone류는 acetone, 2,3-butanedione, alcohol류는 ethanol, Heterocyclic 화합물은 2,6-dimethyl pyrazine, 기타 화합물은 acetic acid로 대조구 및 황기 첨가구가 유사하였다.

Table 6. Volatile compounds of Hwangki Chungkukjang with fermentation time

Compounds	Fermentation time (hr)					
	12	24	36	48	60	72
acetone	-	-	-	0.5	127.1	72.9
ethanol	204.4	409.0	217.7	81.0	76.3	40.4
2,3-butanedione	25.5	8.9	1.6	2.2	0.4	1.5
4-methyl-2-pentanol*	20	20	20	20	20	20
2,6-dimethyl pyrazine	-	-	14.7	19.0	29.7	8.1
acetic acid	150.4	100.9	51.0	2.2	1.4	0.9
acetone	4.1	-	0.9	11.7	35.7	12.3
ethanol	344.0	688.3	300.0	172.6	144.2	75.3
2,3-butanedione	34.0	11.4	-	0.4	0.8	3.4
4-methyl-2-pentanol*	20	20	20	20	20	20
2,6-dimethyl pyrazine	-	-	2.1	3.3	19.0	20
acetic acid	48.1	147.3	18.2	1.7	-	-

¹C: Chungkukjang, ²HC: Hwangki Chungkukjang, -: Not detected. *: Internal standard.

특히 청국장의 냄새성분으로 알려진 2,6-dimethyl pyrazine (6, 15)은 발효 36시간 이후에 검출되었으며 대조구는 14.7 ppm, 황기 첨가구는 2.1 ppm 이었고, 발효가 진행됨에 따라

증가하는 경향을 보였다. 48시간 이후 대조구는 19 ppm에서 29.7 ppm으로 황기 첨가구는 3.3 ppm에서 19.0 ppm으로 급격히 증가하였으며, 발효 중 2,6-dimethyl pyrazine 양은 대조구에 비해 황기 첨가구가 낮게 나타났다. In 등(15)의 연구에서는 유카 추출물을 첨가하여 숙성 시 대조구에 비해 2,6-dimethyl pyrazine 양이 약간 증가하는 경향을 보였다. 유카 추출물 첨가구가 대조구에 비하여 아미노태 질소 함량이 높은 것으로 나타났으며 이는 첨가원료의 특성에 따른 차이로 생각된다.

관능검사

40°C에서 48시간 동안 발효시킨 청국장의 관능검사 결과는 Table 7과 같다. 대조구에 대한 황기청국장의 색, 향, 맛, 조직감, 전반적 품질평가를 조사 하였으며 황기 청국장이 모든 항목에서 유의적으로 높은 값을 나타내었고 대조구보다 부드럽고 조화로운 맛으로 평가되었다. In 등(15)의 연구에서는 유카 추출물 0.5 mg/g 첨가 시 높은 선호도를 보였으며 1.0 mg/g 이상 첨가 시는 유카향이 불쾌취로 작용하여 선호도에 영향을 미쳤다는 보고가 있다. 황기 첨가에 의해 2,6-dimethyl pyrazine 생성량이 낮아 기호도에 좋은 영향을 준 결과로 생각된다.

Table 7. Sensory evaluation of Hwangki Chungkukjang

Sample	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall
Control	5.00 ^{a1)}	5.00 ^a	5.00 ^a	5.00 ^a	5.00 ^a
Hwangki	5.33 ^b	5.67 ^b	7.33 ^b	5.33 ^b	7.67 ^b

¹a-b: Means with different letters within a column are significantly different. ^{**}Significantly different at the p<0.01.

요 약

황기(Astragalus membranaceus)를 첨가한 청국장의 품질 특성을 조사하였다. 수분함량은 발효가 진행됨에 따라 감소하였고 조단백은 약간 증가하였다. pH는 발효초기에 약간 감소한 후 증가하는 경향을 보였으며, 아미노태질소는 24시간까지는 황기 첨가구가 높았으나 이후에는 대조구가 높았다. 색도(명도, 적색도, 황색도)는 감소하였다. 발효 온도 40°C에서 ACE 저해도는 대조구 48시간 86.0%, 황기 첨가구 24시간 95.3%로 가장 높은 값을 나타내었으며 발효 시간이 경과함에 따라 점점 감소하였다. 40°C에서 48시간 발효 시 혈전 용해능은 대조구 100.7%, 황기 첨가구 74.4%로 나타났다. 40°C에서 48시간 발효 시 청국장의 향기성분인 2,6-dimethyl pyrazine 양은 대조구 19.0 ppm, 황기 첨가구는 3.3 ppm 이었으며, 관능검사는 황기첨가구의 전반적 기호도가 7.67(p<0.001) 으로 대조구에 비해 높았다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(지역특화농업기술 개발사업)(과제번호:20050301035562)의 지원에 의해 이루어진 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Joo, H.K. (1971) Studies on the manufacturing of *Chungkukjang*. Korean J. Food Sci. Technol., 3, 64-67
- Kim, K.J., Ryu, M.K. and Kim, S.S. (1982) *Chungkookjang koji* fermentation with rice straw. Korean J. Food Sci. Technol., 14, 301-308
- Bernard, F.G., Alexandre, Z., Robert, M. and Catherine M. (2004) Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. Food Res. Int., 37, 123-131
- Yoshinori, M., Ada, H.K.W. and Bo, J. (2005) Fibrinolytic enzymes in asian traditional fermented foods. Food Res. Int., 38, 243-250
- Kim, Y.T., Kim, W.K. and Oh, H.I. (1995) Screening and identification of the fibrinolytic bacterial strain from *Chungkook-jang*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 23, 1-5
- Choi, S.H. and Ji, Y.A. (1989) Changes in flavor of *Chungkookjang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 21, 229-234
- Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. (1991) Studies on the change in rheological properties of *Chungkook-jang*. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 478-484
- Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. (1991) Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *Chungkook-jang*. Korean J. Food Sci. Technol., 23, 599-604
- Kim, D.H., Yook, H.S., Youn, K.C., Cha, B.S., Kim, J.O. and Byun, M.W. (2000) Changes of microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *Chungkukjang*. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 896-901
- Ahn, B.S. and Lee, C.H. (2003) Changes in microbial and chemical composition and sensory characteristics of fermented soybean paste, *Chungkukjang*, by high dose gamma irradiation(10~120 kGy). Korean J. Food Sci. Technol., 35, 166-172
- Kim, Y.S., Jung, H.J., Park, Y.S. and Yu, T.S. (2003) Characteristics of flavor and functionality of *bacillus subtilis* k-20 *Chunggukjang*. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 475-478
- Choi, 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
- Yoo, S.M. and Chang, C.M., (1999) Study on the processing adaptability of soybean cultivars for Korean traditional *Chonggugjang* preparation. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 42, 91-98
- Shon, M.Y., Seo, K.I., Lee, S.W., Choi, S.H. and Sung, N.J. (2000) Biological activities of *Chungkukjang* prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 936-941
- 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. Korean J. Food Sci. Technol., 34, 57-64
- Shin, Z.I., Ahn, C.W., Nam, H.S., Lee, H.J., Lee, H.J. and Moon, T.H. (1995) Fractionation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 230-234
- Bang, J.K., Kim, J.K., Song, J. and Lee, B.K. (2002) Comparison of constituents from the roots of *Astragalus membranaceus*. Treat. Crop Res., 37, 39-42
- Baek, N.I., Kim, Y.S., Kyung, J.S. and Park, K.H. (1996) Isolation of anti-hepatotoxic from the root of *Astragalus membranaceus*. Kor. K. Pharmacogn., 27, 111-116
- Jeong, K.J., Sa, J.H., Lee, W., Shin, I.C. and Han, K.S. (2001) Studies on the screening of biological activity from *Astragalus membranaceus* Bunge grown in the area of chongson province. Rep. Inst. Health Environ., 12, 61-72
- Jeong, I.Y. (2005) Stability of functional properties and chemical components of gamma-irradiated Astragali Radix. J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr., 34, 255-260
- Wu, T., Annie Bligh, S. W., Gu, L.H., Wang, H.P.L., Cheng, X.M., Branford-white, C.J. and Hu, Z.B. (2004) Simultaneous determination of six isoflavonoids in commercial Radix Astragali by HPLC-UV. Fitoterapia, 1-9
- A.O.A.C. (1990) Official Methods of Analysis 15th ed., Association of official analytical chemists. Washington D.C.
- Chushman, D.W. and Cheng, H.S. (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol., 20, 1637-1647
- Cho, Y.J., Cha, W.S., Bok, S.K., Kim, M.U., Chun, S.S.

- and Chun, U.K. (2000) Production and Separation of Anti-hypertensive Peptide during *Chunggugjang* fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 43, 247-252
25. Zhang, Y.D., Wang, Y.L., Shen, J.P. and Li, D.X. (1984) Hypotensive and antiinflammatory effects of Astragalus saponin. Acta Pharm. Sin., 19, 333-337
26. Chang, J.H., Shim, Y.Y., Kim, S.H., Chee, K.M. and Cha, S.K. (2005) Fibrinolytic and immunostimulating activities of *Bacillus* spp. strains isolated from *Chungkuk-jang*. Korean J. Food Sci. Technol., 37, 255-260
27. Herbert, A. and Joel, L.S. (1993) Sensory Evaluation Practies. 2nd ed., Academic Press, USA, p.68-75
28. SAS (1998) SAS User's Guide Statistics, 3th ed., Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, U.S.A

(접수 2007년 4월 3일, 채택 2007년 7월 27일)