

홍삼 융합청국장의 가수분해 조건에 따른 특성변화

이명희¹ · 구영아² · 최명숙³ · 권중호⁴ · 김인선⁵ · 정용진^{6*}

¹경북과학기술대학교 발효건강식품과, ²(주)계명푸드텍스
³경북대학교 식품영양학과, ⁴경북대학교 식품공학과
⁵계명대학교 생물학과, ⁶계명대학교 식품가공학과 및 (주)계명푸드텍스

Characteristic Changes in Red Ginseng Fusion *Cheonggukjang* Based on Hydrolysis Conditions

Myung-Hee Lee¹, Young-Ah Gu², Myung-Sook Choi³, Joong-Ho Kwon⁴,
InSun Kim⁵ and Yong-Jin Jeong^{6*}

¹Dept. of Fermentation and Health Food, Kyongbuk College of Science, Gyeongbuk 718-850, Korea

²Keimyung Foodex Co., Ltd, Daegu 704-701, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, and ⁴Dept. of Food Science and Technology,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

⁵Dept. of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

⁶Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University and
Keimyung Foodex Co., Ltd., Daegu 704-701, Korea

Abstract

Changes in red ginseng fusion *cheonggukjang* properties under various hydrolytic conditions were investigated for its possible application to different types of food products. Among the four types of protease that were analyzed, protease (KMF-G) produced the highest hydrolysis rate, calcium binding capacity, and total phenolic compound content. In addition, the highest fibrinolytic activity and ACE inhibitory activity were also exhibited at 87.10 units and 67.17%, respectively. Among a number of different protease concentrations, a 0.02% concentration of protease (KMF-G) was found to be appropriate for the purposes of the study. The best results for red ginseng *cheonggukjang* hydrolysis were observed at the 60 and 90 min intervals. However, there was not a significant difference between the results at the two time points. The unpleasant odor and bitter taste associated with red ginseng fusion *cheonggukjang* improved with hydrolytic activity exceeding 60 min. Thus, the optimal hydrolysis time was determined to be 60 min. The total ginsenoside content of red ginseng *cheonggukjang* was 9.197 mg/g and the hydrolysate content was 11.707 mg/g. Based on the results, it was determined that the addition of 0.02% protease (KMF-G) and treatment for 60 min are the optimal hydrolytic conditions for red ginseng *cheonggukjang* to improve its biochemical characteristics, including fibrinolytic activity and ACE inhibitory activity.

Key words: *cheonggukjang*, red ginseng, hydrolysis condition, functional hydrolysate, ginsenoside

서 론

홍삼(red ginseng)은 인삼의 녹말을 호화하여 비효소적 갈변 반응에 의해 가공된 것으로 한방 및 민간에 널리 사용되고 있다(1). 홍삼의 약리 효능은 사포닌, 단백질, peptide나 비전분성 다당체에 관한 연구가 이루어져 항산화, 항염증, 면역기능증진, 신경조절, 간 보호, 혈당저하, 지방흡수 조절 작용 등의 생리활성 기능이 보고되고 있다(2). 이러한 기능들이 동물 및 임상 실험을 통해 알려지면서 홍삼가공품 개발에 노력을 하고 있으나 홍삼 고유의 쓴맛과 강한 향은 소비

자의 기호도가 감소되고 있는 실정이다.

청국장은 콩을 원료로 사용하는 우리나라 전통장류 중의 하나로, 기원은 삼국시대 이전으로 추정될 만큼 오랜 역사를 지니며, 곡류를 주식으로 하는 우리 민족이 결핍되기 쉬운 필수 아미노산과 같은 단백질, 지방산의 급원식품으로 중요한 역할을 하였다. 청국장 제조는 발효에 관여하는 미생물, 숙성과정, 전분질 원료의 혼합여부 등 각 지역 및 가정마다 달라서 각각 독특한 제품으로 전해 내려오고 있다. 일반 장류와 달리 청국장은 증자한 콩에 균을 접종해서 발효시킨 후 가미하여 식용할 수 있기 때문에 제조 방법이 간단하고,

*Corresponding author. E-mail: yjjeong@kmu.ac.kr
Phone: 82-53-580-5557, Fax: 82-53-580-6477

콩을 발효시키면서 고초균(*Bacillus subtilis*)이 생산하는 효소에 의해 특유한 냄새와 동시에 단백질과 당질이 분해되어 levan form fructan과 polyglutamate로 구성된 점질물이 생성되고 고유한 맛을 띤다. 최근 연구로는 Kim 등(3)은 전국 각 지역에서 전통적인 방법으로 제조한 청국장장의 이화학적 특성, 청국장으로부터 분리한 다양한 균주를 이용하여 청국장 제조 및 품질변화(4-6), 청국장장의 발효 중의 향기성분 변화(7,8), 청국장 점질물(9,10), 청국장 발효 균주가 생산하는 효소의 혈전용해능에 관한 연구(4,11) 등이 있다. 이처럼 우수한 영양학적 특성을 제공하는 측면도 있지만 청국장 자가 제조의 어려움, 발효과정과 조리할 때 발생하는 심한 불쾌취, 낮은 저장성으로 인하여 그 소비 증가에 문제점이 되고 있다. 그래서 키토산 분말(12), 유카 추출물(13), 다시마 분말(14), 키위와 무(15), 홍삼(16) 등 다양한 기능성 소재를 첨가하여 청국장을 발효함으로써 생리활성 및 기호성을 더욱 향상시키려는 노력이 이루어지고 있다. 최근 대두단백질의 이용가치와 이용도를 증대시키기 위하여 물리적, 화학적 또는 효소적 처리에 의한 단백질의 구조적 변화를 일으키고 있다. 단백질의 가수분해 방법 중 산 알칼리를 사용한 가수분해가 주로 이용되고 있지만, 반응 생성물의 이미 이취 발생, 함황아미노산의 손실 및 독성 물질의 형성 등을 초래하여 단백질의 이용을 제한한다. 그에 반해 효소적 가수분해는 용해도를 증가, 이취 성분을 유리시키는 장점을 가지고 있으며, 영양가의 손실을 방지할 수 있어 그 자체에 안전성이 부여되기 때문에 단백질 분해효소를 이용한 변형법이 널리 사용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 홍삼융합 청국장을 다양한 식품소재로 활용하기 위하여 단백질 분해효소를 이용한 가수분해 조건에 따른 품질특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 콩은 2005년도 경북 상주지방에서 재배한 것을 구입하여 사용하였고, 홍삼 농축액은 경북 풍기인삼농협에서 제공받았으며, Protease는 (주)계명푸덱스에서 4종(KMF-F 90,000 PU/g, KMF-G 70,000 PU/g, KMF-P 100,000 PU/g, KMF-Y 100,000 PU/g)을 제공받아 사용하였다. 또한 Woo 등(4)이 분리한 *Bacillus subtilis* N2를 사용하였다.

홍삼 융합청국장 및 가수분해물의 제조

Woo 등(16)의 방법에 준하여 콩을 수세하여 4°C 물에 24시간 동안 침지시킨 후 약 30분간 물빼기를 하고 100 g씩 담아 autoclave로 121°C, 45분간 증가하였다. 이것을 50°C까지 냉각한 후 홍삼 농축액 4.0%(w/w)을 첨가하고 *B. subtilis* N2 배양액 3%(v/w)로 균일하게 접종하여 40°C, 20시

간 동안 발효시켜 홍삼 융합청국장을 제조하였다. 그리고 홍삼 융합청국장장에 5배 정도의 증류수를 첨가하여 homogenizer(HF-93, SMT company, Japan)로 10,000 rpm, 10분간 마쇄한 후 고형분 11%로 조절하여 500 mL 삼각 flask에 200 mL씩을 넣고 각각의 효소를 첨가한 다음 shaking water bath(100 rpm) 50°C에서 가수분해시켰다. 반응이 끝난 용액은 효소 불활성화를 위하여 95°C에서 10분간 열처리한 후 원심분리(8,000 rpm, 20분)하여 얻은 상정액을 분석시료로 사용하였다.

Protease의 선별

500 mL 삼각 flask에 마쇄된 홍삼 융합청국장액 200 mL씩 넣고 4종류의 protease를 가용성 고형분 함량에 대하여 0.01%(w/w)을 첨가한 다음 shaking water bath(100 rpm) 50°C에서 60분 동안 효소제 반응시켰다. 반응이 끝난 용액은 효소 불활성화를 위하여 95°C에서 10분간 열처리한 후 원심분리(8,000 rpm, 20 min)하여 얻은 상정액을 분석시료로 사용하였다.

Protease 농도에 따른 영향

마쇄된 홍삼 융합청국장액의 가용성 고형분에 대하여 선별된 protease(KMF-G)를 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 및 0.10%(w/w)의 농도로 첨가하여 shaking water bath(100 rpm) 50°C에서 60분 동안 효소제 반응하여 가수분해물의 이화학적 특성을 조사하였다.

가수분해 시간에 따른 영향

홍삼 융합청국장액의 가용성 고형분에 대한 protease(KMF-G)의 비율이 0.02%(w/w)가 되도록 하여 50°C shaking water bath에서 0, 30, 60, 90 및 120분 가수분해하여 얻은 가수분해물의 성분을 조사하였다.

고형분 함량 및 가수분해도 측정

가용성 고형분 함량은 식품공전(17)에 준하여 시험용액 50 mL 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건조시켜 그 무게를 3회 반복 측정하여 시료에 대한 건물량(%)으로 나타내었다. 가수분해도(Degree of hydrolysis, DH)는 An(18)의 방법을 변형하여 가수분해물 1 mL를 취하여 Lowry법(19)으로 질소량을 측정하였다. 가수분해물 10 mL에 20%(w/v) trichloroacetic acid(TCA) 용액을 10 mL와 혼합한 후 7,000 rpm에서 20분간 원심분리한 다음 상층액 1 mL를 취하여 Lowry법으로 질소량을 측정한 다음, 가수분해도는 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Degree of hydrolysis (\%)} = \left(\frac{10\% \text{ TCA Soluble N}}{\text{Total N}} \right) \times 100$$

페놀성 화합물 함량 및 칼슘내인성 측정

총 페놀성 화합물 함량은 AOAC(20) 방법으로 정량하였으며 tannic acid를 표준물질로 사용하였다. 칼슘내인성은

Pyun과 Hwang(21)의 방법에 따라 각각의 가수분해물 10 mL에 30 mM CaCl₂용액 10 mL을 첨가하여 25°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액은 원심분리(8,000 rpm, 10분)하여 침전물을 제거한 후, 280 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈전용해활성

혈전용해활성은 Anson(22)의 방법을 변형하여 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분해물의 tyrosine양은 tyrosine을 표준물질로 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였으며 효소활성은 조효소액 1 mL가 1분 동안 tyrosine 1 µg을 생성하는 능력을 1 unit로 하였다.

Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해활성

Cushman과 Cheung(23)의 방법을 변형하여 다음의 방법으로 측정하였다. 반응구는 시료액 50 µL에 ACE 조효소액 50 µL 및 50 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 µL를 가하여 37°C에서 5분간 전배양시켰다. 여기에 기질용액 50 µL를 가하여 다시 37°C에서 30분 반응시킨 후 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시켰다(공시험은 시료 대신 증류수 50 µL를 가하였으며, 대조구는 시료와 기질을 모두 포함하나 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지시킨 다음 시료 50 µL를 가하였다). 여기에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 15초간 교반한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액 1 mL를 취하였다. 이 상층액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시킨 다음 1 M NaCl 3 mL를 가하여 15초간 교반하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음식에 의해서 ACE 활성 저해율을 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(\frac{A-B}{A-C} \right) \times 100$$

- A: 시료 대신 증류수를 첨가한 반응액의 흡광도
- B: 시료 첨가한 반응액의 흡광도
- C: 반응초기에 1 M HCl을 첨가하여 반응 정지시킨 반응액의 흡광도

관능검사

가수분해 시간에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 관능적 품질특성을 평가하기 위해 홍삼과 청국장의 관능적 특

성에 대한 훈련된 6인의 관능요원에게 각각 시료의 쓴맛, 이취 및 종합적 기호도에 대하여 9점 평점법(1: 아주 약함/아주 나쁨, 3: 약함/나쁨, 5: 보통/보통, 7: 강함/좋음, 9: 아주 강함/아주 좋음)으로 평가하게 한 다음 Duncan's test로 유의성을 검정하였다.

Ginsenoside 함량

Ginsenoside의 정량분석을 위해 *n*-butanol 추출법으로 추출한 조사포닌을 methanol에 용해한 후 0.2 µm membrane filter로 여과하여 HPLC(Water 2695, Waters Co., USA)로 분석하였다. 이때 분석 column은 discovery C₁₈ (4.6×250 mm, Supelco Inc., USA)을 사용하였고, mobile phase는 3차 증류수(용매A)와 acetonitrile(용매B)을 사용하였으며 용매A:용매B=80:20으로 시작하여 40분에 68:32, 55분에 50:50, 70분에 35:65, 72분에 10:90, 84분에는 80:20의 비율로 단계적인 gradient system을 사용하였다. Flow rate는 1.6 mL/min이었고, injection volume은 20 µL, detector는 UV-detector(203 nm)를 사용하였다.

통계분석

본 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었고, 통계분석은 Statistical Analysis System (SAS) 통계 프로그램을 이용하여 각각 일원배치분산분석(One-way ANOVA Test)을 하고 Duncan's multiple range test (DMRT)로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

결과 및 고찰

Protease의 선별

홍삼 융합청국장 단백질의 효소적 가수분해 최적 조건 설정을 위해서 4종의 protease에 대한 영향을 조사하였다 (Table 1). Protease를 처리하여 얻은 가수분해물의 가수분해 정도는 대조군 48.21%에 비하여 큰 차이 없이 조금 높아졌다. 이는 청국장 발효과정 중 *B. subtilis* N2 균주에 의하여 콩의 단백질이 펩타이드와 아미노산으로 어느 정도 분해되었기 때문이다. 식품내에 존재하고 있는 단백질과 칼슘이 결합하여 침전물을 형성하는데 칼슘내인성은 단백질의 칼

Table 1. Comparison of degree of hydrolysis, calcium binding capacity, total phenolic compounds, fibrinolytic activity, ACE inhibitory activity in red ginseng fusion *cheonggukjang* by different proteases

Protease	Degree of hydrolysis (%)	Calcium binding capacity	Total phenolic compounds (mg%)	Fibrinolytic activity (unit)	ACE inhibitory activity (%)
Control	48.21±0.90 ¹⁾	0.659±0.004 ²⁾	153.08±1.16	76.36±1.64	61.75±0.60
KMF-F	49.55±0.55	0.767±0.001	157.58±0.36	85.36±0.64	63.88±0.21
KMF-G	52.09±0.36	0.779±0.003	162.26±0.90	87.10±1.02	67.17±0.21
KMF-P	50.72±0.38	0.736±0.004	158.64±1.41	84.05±0.22	63.67±0.64
KMF-Y	50.62±0.65	0.706±0.008	156.98±1.37	85.69±0.95	64.46±1.51

¹⁾Mean±SD of triplicate determination.

²⁾Turbidity at 280 nm of diluted (×30) supernatant of red ginseng fusion *cheonggukjang* added 30 mM CaCl₂.

Table 2. Comparison of degree of hydrolysis, calcium binding capacity, total phenolic compounds, fibrinolytic activity, ACE inhibitory activity in red ginseng fusion *cheonggukjang* by protease concentrations

Protease concentration (%)	Degree of hydrolysis (%)	Calcium binding capacity	Total phenolic compounds (mg%)	Fibrinolytic activity (unit)	ACE inhibitory activity (%)
0.01	51.96±0.30 ¹⁾	0.764±0.002 ²⁾	158.42±0.56	84.24±1.51	66.97±0.93
0.02	54.50±0.41	0.788±0.001	166.86±0.73	90.28±0.65	71.73±0.41
0.03	54.80±0.38	0.787±0.003	167.20±0.92	90.37±0.45	71.76±0.74
0.04	56.14±0.57	0.793±0.000	170.10±1.09	91.13±0.34	72.61±1.71
0.05	56.20±0.25	0.800±0.006	171.94±0.46	92.88±0.65	72.65±1.09
0.10	56.17±0.86	0.801±0.008	178.64±0.82	94.91±0.79	71.59±0.42

¹⁾Mean±SD of triplicate determination.

²⁾Turbidity at 280 nm of diluted (×30) supernatant of red ginseng fusion *cheonggukjang* having added 30 mM CaCl₂.

습에 대한 결합 억제능을 나타낸 값(21)으로, 액상식품의 품질에 중요한 요인으로 작용한다. 본 실험에서 무처리구 0.659에 비해 효소제 처리구는 0.706~0.779로 높았으며 특히 protease(KMF-G) 처리구간에서 0.779로 가장 높게 나타났다. Pyun 등(21)은 대두단백질의 기능적 특성을 향상시키기 위하여 protease를 처리하게 되면 단백질 분자량의 감소 및 단백질 구조의 변화로 칼슘내인성(calcium intolerance)이 증가된다고 보고하였다. 따라서 칼슘내인성은 단백질의 용해도와 함께 콩가공품의 잠재적 품질결정 요인으로 효소제는 칼슘내인성 향상에 긍정적인 효과를 가져 올 것으로 예상된다. 총 페놀화합물 함량은 효소제 처리구에서 156.98~162.26 mg%로 나타나 대조구 153.08 mg%에 비해 약간 높았으며 protease(KMF-G)가 가장 높게 나타났다. 혈전용해능은 protease의 종류에 따라 KMF-G(87.10%)>KMF-Y(85.69%)>KMF-F(85.36%)>KMF-P(87.10%) 순으로 모두 대조구(76.36 unit)보다 비교적 높은 활성을 나타냈다. ACE 저해활성은 대조구(61.75%)와 비교하였을 때 상대적으로 각각의 효소제 처리구가 높았으며, KMF-G(67.17%)>KMF-Y(64.46%)>KMF-F(63.88%)>KMF-P(63.67%) 순으로 나타났다. 이처럼 홍삼 융합청국장 효소처리구의 혈전용해능과 ACE 저해활성이 효소를 처리하지 않은 대조구보다 높으며 사용된 효소의 종류에 따라 차이가 나는 것은 처리 조건에 따른 아미노산 또는 펩타이드 조성과 가용성분 등의 차이에 주로 기인한 것으로 추정되었다. 이상의 결과로 효소제를 처리한 모든 구간에서 대조구보다 비교적 품질특성이 우수하였으며, 혈전용해능과 고혈압 예방에 관여한 ACE 저해활성도를 고려할 때 protease(KMF-G)으로 가수분해시킨 홍삼 융합청국장 가수분해물이 우수한 것으로 판단되어 최적조건 효소제로 선별하여 다음 단계의 실험에 사용하였다.

Protease 농도에 따른 영향

선별된 protease의 농도에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 영향을 조사하기 위하여 가용성 고형분에 대한 protease(KMF-G) 농도를 0.01~0.10%(w/w)로 각각 처리하여 가수분해물의 이화학적 특성을 비교하였다(Table 2). 가수분해물의 가수분해도와 칼슘내인성은 수치의 차이는 크지

않았으나 protease(KMF-G)의 농도가 증가할수록 증가하였으며, 효소제 농도 0.05%와 0.1% 농도에서는 비슷한 수치를 나타내었다. 이는 청국장발효과정 중 균주에 의하여 대두 단백질이 1차 가수분해가 된 후 효소처리에 의한 2차 가수분해작용을 받을 수 있는 단백질 기질이 감소했기 때문으로 추측된다. 총 페놀화합물 함량은 효소제 농도가 증가함에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 콩 발효식품에 포함되어 있는 페놀화합물 함량은 항산화 효과와 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다(24). Protease(KMF-G) 농도가 증가함에 따라 혈전용해능은 약간 증가하였고 ACE 저해활성은 모든 구간에서 비슷한 활성을 나타내었으며, protease(KMF-G) 0.02% 첨가에서 각각 90.28 unit와 71.73%로 가장 높은 활성을 나타내었다. 따라서 홍삼 융합청국장 가수분해물에 protease(KMF-G) 0.02%를 첨가했을 때 품질 및 기능적 특성이 우수한 것으로 나타났다.

가수분해 시간에 따른 영향

상기의 조건 protease(KMF-G) 0.02% 처리하여 가수분해 시간을 0, 30, 60, 90 및 120분 가수분해한 후 각각 홍삼 융합청국장의 품질특성을 비교 분석하였다. Fig. 1, 2에서와 같이 가수분해도와 칼슘내인성은 가수분해 시간이 진행됨

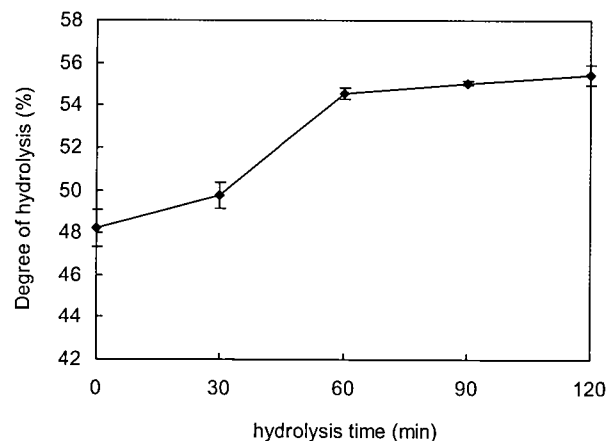


Fig. 1. Comparison of degree of hydrolysis in red ginseng fusion *cheonggukjang* by hydrolysis time. Values are expressed as the mean±SD (n=3).

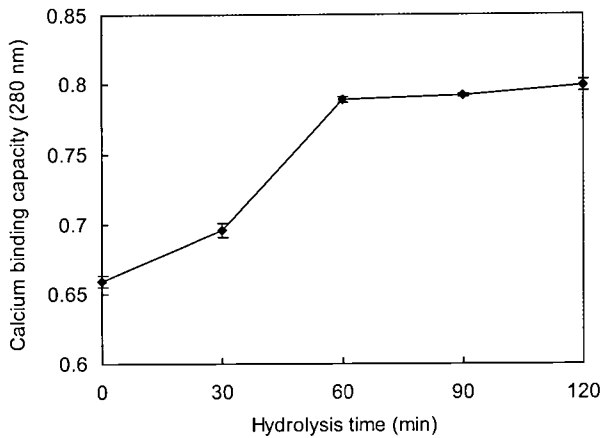


Fig. 2. Comparison of calcium binding capacity in red ginseng fusion *cheonggukjang* by hydrolysis time. Turbidity at 280 nm of diluted ($\times 30$) supernatant of red ginseng fusion *cheonggukjang* added 30 mM CaCl_2 . Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났으며 특히 60분에서 급격하게 증가되었다. 이러한 결과로 볼 때 가수분해 정도에 비례하여 가수분해된 단백질의 용해도가 증가한다는 Kim 등(24)의 결과와 같이 본 연구에서도 효소처리 후 60분 이후에서 가수분해물의 용해성이 가장 큰 것으로 생각된다. 총 페놀화합물 함량은 60분 동안 가수분해할 때 167.30 mg%로 급격히 증가하였고 이후에는 비슷한 함량을 나타내어 그 변화가 비교적 적게 나타났다(Fig. 3). 가수분해 시간에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 혈전용해능과 ACE 저해활성은 Fig. 4 (A)와 (B)에 나타내었다. 혈전용해능은 가수분해시간이 지남에 따라 활성은 계속 증가하는 경향을 보였고, ACE 저해활성은 30분 동안은 크게 증가하지 않았으나 60분과 90분에서 71.73%, 72.10%로 가장 높은 활성을 나타내었으며 이후로는 유의적 차이는 보이지 않았다. 고혈압에 영향

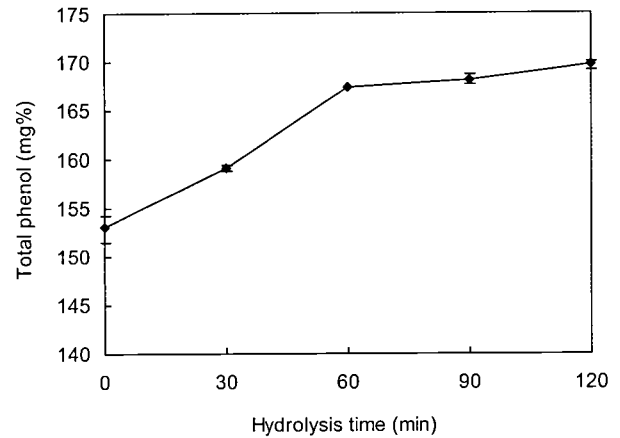


Fig. 3. Comparison of total phenolic compounds content in red ginseng fusion *cheonggukjang* by hydrolysis time. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

을 주는 angiotensin-II는 ACE의 작용에 의하여 angiotensin-I으로부터 전환되는데, Cho 등(25)은 ACE 저해활성은 청국장 발효 중에 단백질의 분해로 생성되는 peptide가 ACE 저해활성과 관련이 있다고 하였다. 이상의 결과로 볼 때 가수분해 시간에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 품질과 생리활성 특성은 60분과 90분이 적합한 것으로 나타났다.

Ginsenoside 함량변화

인삼 사포닌 성분은 가장 주된 약효성분으로서 인삼 속 식물에만 함유되기 때문에 인삼이나 홍삼제품류의 유효성분 함량을 품질관리하는데 지표성분으로 규격화되어 국내 뿐 아니라 일본 등 해외에서는 의약품으로 신규품목 등록시 HPLC로 지표성분을 분석하고 그 함량을 표기하도록 규정하고 있다. 홍삼 융합청국장과 최적화 조건으로 제조한 홍삼 융합청국장 가수분해물의 ginsenoside 성분들의 함량을 조사하였다. Table 3에서와 같이 홍삼 융합청국장과 최적조건

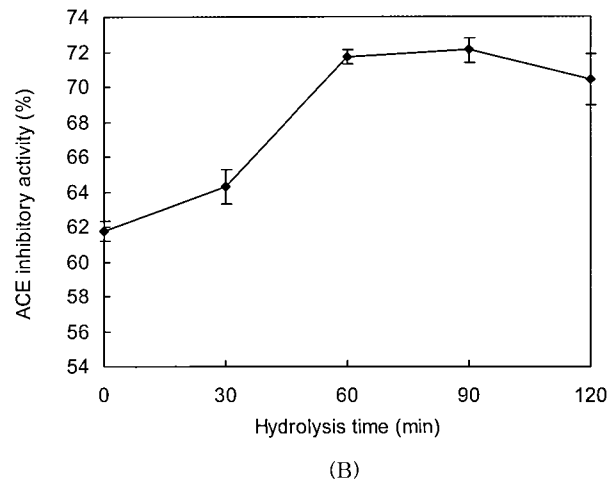
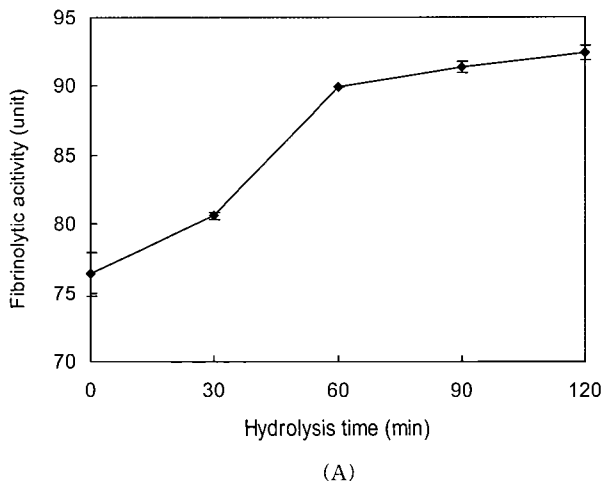


Fig. 4. Comparison of fibrinolytic activity (A) and ACE inhibitory activity (B) in red ginseng fusion *cheonggukjang* by hydrolysis time. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

(KMF-G, 0.02%, 60분)으로 효소처리한 홍삼 융합청국장 가수분해물의 ginsenoside 성분은 Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd 및 Rg₃가 검출되었으며 총 함량은 홍삼 융합청국장 9.197 mg/g이고, 홍삼 융합청국장 가수분해물 11.707 mg/g이었다. 건강기능식품의 기준 및 규격(26)에 홍삼성분 확인 중 ginsenoside Rb₁ 및 Rg₁이 확인되어야 한다고 보고하였다. 본 실험에서 홍삼농축액을 사용하였기에 두 시료 모두 Rb₁과 Rg₁이 존재하였으며, 홍삼 융합청국장보다 홍삼 융합청국장 가수분해물이 Rb₁, Rg₁ 등이 증가하였으나 ginsenoside 함량 변화에 관한 연구는 향후 많은 보완이 요구되었다.

관능평가

단백질 가수분해에서 쓴맛의 발생은 가장 큰 문제점으로 나타나고 있어서 본 실험에서는 가수분해시간에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 관능을 비교한 결과를 Table 4에 나타냈다. 홍삼 융합청국장에서 나타나는 쓴맛은 가수분해시간에 따라 약간 감소하여 120분에서 유의적인 차이를 보였다. 홍삼 융합청국장 발효과정에서 발생하는 심한 암모니아취와 같은 특유의 냄새는 효소처리 후 가수분해시간 60분에서 뚜렷하게 감소하였으며 시간이 지남에 따라 이취가 개선되었다. 청국장의 발효 중에 쓴맛은 leucine(27), 볼레퀴는 주로 *Bacillus*에 의하여 생성되는 alkylpyrazine류나 함황화합물, 암모니아 화합물 등에서 유래하는 것으로 알려져 있다(9,28,29). 홍삼 융합청국장의 가수분해시간에 따른 전반적인 기호도 또한 시간이 지날수록 좋게 평가되었으며, 특히 60분이 유의적으로 가장 좋게 평가되었고, 0분과 30분에서

가장 나쁘게 평가되었다. 이상의 결과 최적조건의 홍삼 융합청국장 가수분해물은 protease(KMF-G) 농도 0.02%, 60분 가수분해하면 청국장의 볼레퀴를 감소시키는 동시에 종합적 기호도가 향상되는 것으로 나타났다.

요 약

홍삼 융합청국장을 다양한 식품소재로 활용하고자 가수분해 조건에 따른 특성변화를 조사하였다. 그 결과 4종류의 protease에 따른 홍삼 융합청국장 가수분해물의 특성은 protease(KMF-G)가 가수분해도, 칼슘결합능, 총 페놀화합물 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 혈전용해능과 ACE 저해활성 또한 87.10 unit, 67.17%로 가장 높게 나타났다. Protease(KMF-G) 농도에 따른 영향을 조사한 결과 0.02%에서 적합하였다. 홍삼 융합청국장의 가수분해시간에 따른 영향은 60분과 90분에서 가장 양호한 결과를 나타내었으나 유의적 차이가 나타나지 않았으며, 홍삼 융합청국장 가수분해물의 볼레퀴와 쓴맛은 60분 이상에서 개선되었으므로 최적 가수분해시간은 60분으로 설정할 수 있었다. 홍삼 융합청국장의 총 진세노사이드 함량은 9.197 mg/g이고, 홍삼 융합청국장 가수분해물의 함량은 11.707 mg/g이었다. 이상의 결과 protease(KMF-G), 0.02%를 첨가하여 60분간 가수분해하였을 때 이화학적 특성, 혈전용해능 및 ACE 저해활성이 향상된 홍삼 융합청국장 가수분해 조건을 설정할 수 있었다.

감사의 글

본 연구 결과는 2005년 농림기술개발과제의 일부이며 이의 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Choi KJ. 1991. Component and quality control of material ginseng. *Kor J Pharmacol* 15: 247-256.
2. Kim NM, Lee JS, Lee BH. 1999. Effects of β -amylase and transglucosidase on the qualities of red ginseng extract. *J Ginseng Res* 23: 93-98.
3. Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Chang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional *cheonggukjang* produced in different regions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 41: 377-383.
4. Woo SM, Kim KS, Kwon JH, Jeong YJ. 2005. Selection and fermentation characteristics of *cheonggukjang* strains. *Korean J Food Preserv* 13: 77-82.
5. Choi UK, Son DH, Ji WD, Im MH, Choi JD, Chung YG. 1998. Changes of taste components and palatability during *cheonggukjang* fermentation by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 840-845.
6. Seok YR, Kim YH, Kim S, Woo HS, Kim TW, Lee SH, Choi C. 1994. Change of protein and amino acid composition during *cheonggukjang* fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 37: 65-71.

Table 3. Ginsenoside content of red ginseng *cheonggukjang* and hydrolysates of red ginseng fusion *cheonggukjang* (mg/g, d.b)

Ginsenoside	Red ginseng <i>cheonggukjang</i>	Hydrolysates of red ginseng <i>cheonggukjang</i>
Rg ₁	0.333	0.712
Re	1.182	1.275
Rb ₁	3.498	4.218
Rc	1.997	2.146
Rb ₂	1.388	2.155
Rd	0.767	1.144
Rg ₃	0.032	0.057
Total	9.197	11.707

Table 4. Sensory evaluation of red ginseng fusion *cheonggukjang* by hydrolysis tim

Hydrolysis time (min)	Bitter taste	Reek flavor	Overall acceptability
0	4.500 ± 1.761 ^{a1)}	6.833 ± 0.983 ^a	4.667 ± 1.506 ^b
30	4.333 ± 1.497 ^a	6.500 ± 1.975 ^a	4.833 ± 1.744 ^b
60	4.333 ± 2.658 ^a	5.833 ± 1.329 ^{ab}	5.833 ± 1.602 ^a
90	4.333 ± 1.633 ^a	5.833 ± 0.983 ^b	5.333 ± 1.966 ^a
120	4.167 ± 1.835 ^b	5.667 ± 2.338 ^b	5.167 ± 1.975 ^{ab}

¹⁾Mean in the column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

7. Joo HK. 1996. Studies on chemical composition of commercial *cheonggukjang* and flavor compounds of *cheonggukjang* by mugwort (*Artemisia asiatica*) or red pepper seed oil. *Korea Soybean Digest* 13: 44-56.
8. Choi UK, Lee SI, Son DH, Ji WD. 2002. Changes of flavor during *cheonggukjang* fermentation by *Bacillus* sp. CS-17. *J Korean Soc Hygienic Sciences* 8: 167-173.
9. Choi SH, Ji YA. 1989. Changes in flavor of *cheonggukjang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 21: 229-234.
10. Lee YL, Kim SH, Choung NH, Yim MH. 1992. A study on the production of viscous substance during the *cheonggukjang* fermentation. *J Korean Agric Chem Soc* 35: 202-209.
11. Kim YT, Kim WK, Oh HI. 1995. Screening and identification of the fibrinolytic bacterial strain from *cheonggukjang*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 23: 1-5.
12. Jung YK, Lee YK, No HK, Kim SD. 2006. Effect of chitosan on quality characteristics of *cheonggukjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 476-481.
13. In JP, Lee SK. 2004. Effect of *Yucca (Yucca shidigera)* extract on quality characteristics of *cheonggukjang* using *Bacillus subtilis* p01. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 176-181.
14. Jung YK, Lee YK, No HK, Kim SD. 2006. Effect of sea tangle on fermentation and quality characteristics of *cheonggukjang*. *Korean J Food Preserv* 13: 95-101.
15. Shon MY, Kim MH, Park SK, Park JR, Sung NJ. 2002. Taste components and palatability of black bean *cheonggukjang* added with kiwi and radish. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 39-44.
16. Jeong YJ, Woo SM, Kwon JH, Choi MS, Sung JH, Lee JW. 2007. Quality characteristics of red ginseng fusion *cheonggukjang* by the addition methods of red ginseng. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 889-895.
17. KMHW. 1997. Korean Food Standard Code. The Korean Ministry of Health and Welfare. p 507-510.
18. An TH. 1998. Effects of enzyme modification and soy protein isolate on the quality of cheese analogs containing lipoxigenase-defected soy milk. *PhD Dissertation*. Chung Ang University, Seoul. Korea
19. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr L, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
20. AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. p 176-180.
21. Pyun JW, Hwang IK. 1996. Preparation of calcium-fortified soymilk and *in vitro* digestion properties of its protein and calcium. *Korean J Food Sci Technol* 28: 995-1000.
22. Kim HK, Kim GT, Kim DK, Choi WA, Park SH, Jeong YK. 1997. Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus* sp. KA38 originated from fermented fish. *J Fermentation and Bioengineering* 84: 307-312.
23. Chshman DW, Cheung HS. 1971. Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
24. Kim SY, Park PSW, Rhee KC. 1990. Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein isolate. *J Agric Food Chem* 38: 651-664.
25. Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during *cheonggukjang* fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 247-252.
26. 식품의약품안전청. 2003. 건강기능식품의 기준 및 규격제정 (안) 입안예고. 공고 제2003-62호. p 36-39.
27. Choe JS, Yoo SM, Kim HI, Kim JS, Chang CM. 1999. Volatile compounds of *cheonggukjang* prepared by different fermentation methods and soybean cultivars. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 111-115.
28. Allagheny N, Obanu ZA, Campbell-Platt G, Owens JD. 1996. Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legumes. *Int J Food Microbiol* 29: 321-333.
29. Larroche C, Besson I, Gros JB. 1999. High pyrazine production by *Bacillus subtilis* in solid substrate fermentation on ground soybeans. *Process Biochem* 34: 667-674.

(2007년 5월 4일 접수; 2007년 7월 3일 채택)