

홍삼을 이용한 청국장의 기능적 특성 비교

박난영¹ · 성종환² · 최명숙³ · 문광덕⁴ · 권중호⁴ · 정용진^{5*}

¹(주)계명푸드텍스, ²부산대학교 식품공학과
³경북대학교 식품영양학과, ⁴경북대학교 식품공학과
⁵계명대학교 식품가공학과

Comparison of Functional Properties of *Cheonggukjang* by Using Red Ginseng

Nan-Young Park¹, Jong-Hwon Seong², Myung-Sook Choi³, Kwang-Deog Moon⁴,
Joong-Ho Kwon⁴, and Yong-Jin Jeong^{5*}

¹Keimyung Foodex Co., Ltd., Daegu 704-701, Korea

²Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

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

⁵Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

To utilize *Cheonggukjang* as a raw material of diverse foods, the quality characteristics of *Cheonggukjang* and its processed food were compared. *Cheonggukjang* (CGJ), red ginseng *Cheonggukjang* (RCJ), and red ginseng *Cheonggukjang* hydrolysate (RCH) were powdered, and their quality and functional characteristics were examined. The result showed that in regard to general components, carbohydrate content of RCJ was higher than other samples while crude protein content was lower. Free amino acid content of RCH was 2,157.16 mg%, which was approximately 2 times higher than CGJ, and the content of essential amino acid was 812.18 mg%, which was the highest. The result of SDS-electrophoresis pattern showed that CGJ and RCJ showed a molecular weight smaller than 33 kDa, and RCH showed a smaller than 17 kDa low molecular weight, confirming the hydrolysis to small molecular weight. Among the samples, free radical scavenging activity, superoxide radical scavenging activity, and ACE inhibitory activity did not show a significant difference; nonetheless, RCH showed the highest activity while CGJ showed the highest fibrinolytic activity of 111.38 unit. In addition, in sensory evaluation, the peculiar bitter taste of red ginseng could be detected while the overall acceptability was improved. Based on the above results, in comparison with CGJ, as for RCJ and RCH, their function was strengthened and unpleasant odor was reduced, and thus it is anticipated that they could be used as a raw material of diverse foods.

Key words: *Cheonggukjang*, red ginseng, functional properties hydrolysate

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한국과 중국 등에서 2,000년 이상 가장 고귀한 생약재로 사용되어 왔으며, 홍삼은 수삼을 증숙한 후 건조하여 갈변화, 사포닌 및 아미노산 등의 품질변화를 거치게 된다(1,2). 인삼과 홍삼의 효능이 과학적으로 인정되고, 특히 기능성 식품의 소재로 크게 응용되면서 국제시장에서의 인삼과 홍삼의 유통량은 급격한 증가 추세를 나타내고 있다(3). 지금까지 홍삼에 관한 연구는 연근별 추출법, 향기성분의 변화, 사포닌 조성 및 함량 등 많은 연구결과(4,5)가 있으며 주로 사포닌 성분을 비롯하여 비사포닌 성분, peptide, 전분성 다당체에 관한 연구(6,7)가

보고되었다. Kim(8)은 홍삼에 대한 약효와 효능을 점차 약리 및 임상학적인 면에서 과학적으로 입증하였고, 홍삼이 의약품은 물론 건강식품으로도 널리 인정받게 되어 수요층의 기호변화에 따라 이용과 가공방법도 점차 다양하게 개발되고 있다.

전통식품 중 하나인 콩을 가공한 청국장은 중요한 조미료일 뿐 아니라 영양소의 공급원으로서 대두 발효숙성 중에 *Bacillus subtilis*가 생산하는 효소에 의해서 독특한 풍미를 내는 동시에 대두의 당질과 단백질이 분해되어 가용성 질소 화합물 peptone, polypeptide, amide 등과 끈끈한 점질 물질이 생성되어 식품학적 가치를 향상시킨다. 청국장 발효과정 중 콩 속에 함유된 isoflavone, phytic acid, saponin, trypsin

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

inhibitor, tocopherol, 불포화지방산, 식이섬유 및 올리고당 등의 각종 생리활성물질과 항산화물질 및 혈전용해 효소를 다량 함유하고 있기 때문에 기능성 식품으로 그 중요성이 재조명되고 있다(9,10).

청국장은 혈전용해, 골다공증 예방, 고혈압, 동맥경화 예방, 혈액순환 촉진 및 혈중 알코올 농도 저하 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(11-13). 이처럼 우수한 청국장의 이용가치와 효율을 증대하고 심한 불쾌취를 개선하기 위하여 다양한 기능성 소재를 첨가하여 청국장을 발효하였고(14), 효소적 처리에 의한 단백질을 유리아미노산, oligopeptide, 저분자 단백질로 변형하여 각각 원래 단백질에서 분해 후 처음과 다른 생리활성을 지니게 됨으로써 기능성을 향상시키려는 연구가 많이 시도되고 있다(14,15). 특히 Woo 등(16)의 청국장 제조 방법, Jeong 등(17)의 홍삼청국장 제조 방법, Lee 등(15)의 홍삼청국장 가수분해물의 다양한 활용 방안을 위하여 각각의 특성에 관한 비교가 요구되었다.

따라서 본 연구에서는 청국장 제품의 다양화를 위하여 청국장, 홍삼융합청국장 및 그 가수분해물의 기능적 특성을 각각 비교하여 식품소재로 활용 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 콩은 2005년도 경북 상주지방에서 재배한 것을 구입하여 사용하였고, 효소는 단백질 분해효소(KMF-G, 70,000 PU/g, KMfoodex Co., Ltd., Korea)를 사용하였으며, 홍삼농축액(사포닌 함량 기준: 200 mg/g 이상)은 (주)풍기인삼에서 제공받아 사용하였다. Woo 등(16)이 분리한 점질물 생성능과 혈전용해능이 우수한 청국장 균주 *B. subtilis* N2를 이용하여 nutrient broth에서 37°C, 24시간 배양한 후 4°C에서 보관하면서 사용하였다.

시료의 전처리

청국장 분말(CGJ)은 콩을 수세하여 4°C의 물에 24시간 동안 침지시킨 후 약 30분간 물 빼기를 하고 100 g씩 담아 autoclave로 121°C, 45분간 증자하였다. 이것을 50°C까지 냉각한 후 *B. subtilis* N2 배양액을 3%(v/w) 접종하여 40°C, 20시간 동안 발효시켜 청국장을 제조하였다(16). 홍삼청국장 분말(RCJ)은 상기와 동일한 실험방법으로 *B. subtilis* N2 배양액을 3%(v/w)와 홍삼 농축액 4%(w/w)로 균일하게 접종하여 제조하였다. 홍삼청국장 가수분해 분말(RCH)은 Lee 등(15)의 홍삼 청국장의 최적화 가수분해 조건에 준하여 제조된 홍삼청국장(RCJ)에 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 mL씩 넣고 효소제 0.02%를 첨가한 다음 shaking water bath(100 rpm) 50°C에서 60분 동안 가수분해한

후 냉각시켜 홍삼청국장 가수분해물을 제조하였다. 제조된 시료 모두 동결건조(Vacuum freeze dryer, SFD SM24L, 삼원, Korea)하여 100 mesh 이상의 분말로 분석하였다.

일반성분 및 색도

시료들의 일반성분은 동결 건조시켜 분말화하여 식품공전(18)에 따라 정량하였다. 색도는 시료 1 g을 screw cap test tube의 cap(Pyrex, diameter 13 mm)에 담아 colorimeter(Color Reader, CR-10, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값을 3회 반복 측정하였다.

유리당 분석

유리당 분석은 건조된 시료를 diethyl ether로 탈지하고, 탈지 시료 10 g에 75% ethanol 200 mL을 가한 후, 80°C로 유지된 수욕조에서 1시간 환류 냉각시키면서 유리당을 추출하였다. 추출액은 냉각 여과하여 50°C에서 감압농축하고 증류수로 100 mL로 정용한 후 sep-pack C₁₈ cartridge로 색소 및 단백질성분을 제거한 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 high performance liquid chromatograph(HPLC, Waters 2690, Japan)로 분석하였다. Column은 Shimpak CLC-NH₂(4.6 mm I.D.×25 cm), detector는 RI, mobile phase는 80% acetonitrile, flow rate는 0.6 mL/min, injection volume은 20 µL로 정량하였다.

유리아미노산 분석

유리아미노산은 시료에 75% ethanol(v/v)을 가하여 80°C로 유지되는 water bath에 1시간 추출하고 추출액은 여과지(Whatman No. 1)로 여과하여 감압 농축시켜 증류수로 100 mL이 되게 정용한 후 이 중 50 mL을 취하고, 여기에 25% TCA 용액을 동량 가하여 1시간 동안 냉장 보관 후 원심분리(3,000 rpm, 20 min)시킨다. 상등액을 취하여 diethyl ether 100 mL을 가하여 3회 반복 추출하여 지질, 색소 및 지용성 물질을 제거한 후 수용액 층은 40°C에서 감압농축 건조시켜 0.2 N lithium citrate buffer(pH 2.2) 10 mL로 용해하고 0.22 µm membrane filter로 여과한 액을 아미노산자동분석기(Biochem 20, Pharmacia Biotech. Ltd, England)로 분석하였다.

SDS-PAGE 전기영동

각 시료를 원심 분리하여 상등액에 sample buffer를 동량 첨가한 후 100°C의 물에 5분간 가열하여 단백질의 완전한 변성을 유도한 후 전기영동을 하였다(Mini-PRO-TEAN 3, BIO-RAD Laboratories, Inc. USA). 전기영동용 완충용액은 0.1%(w/v) SDS를 포함하는 0.025 M-tris base, 0.192 M glycine(pH 8.3) 용액을 사용하였으며 이렇게 얻어진 gel의 염색은 Coomassie blue R-250로 상온에서 30분간 shaking하면서 염색하였고, 탈색시약(100 mL methanol, 100 mL glacial acetic acid, 800 mL H₂O)으로 gel을 하룻밤 동안 충분히

탈색시커 가용성 단백질의 전기영동 패턴을 조사하였다(15).

전자공여능 측정

전자공여능은 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하여 측정하였다(19). 즉, DPPH 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후, 50% ethanol 용액을 대조구로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0이 되도록 희석하여 사용하였다. 시료 1 mL(시료 10 g을 100% ethanol에 30분 교반 후 8,000 rpm, 10분간 원심분리 후 상층액 사용)에 DPPH용액 4 mL을 혼합하여 정확히 30초 동안 반응시킨 후, UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정해 아래의 식으로부터 DPPH 라디칼 소거활성을 계산하였다.

$$\text{DPPH free radical 소거활성}(\%) = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

As: 시료 첨가구의 흡광도

Ac: 시료 무첨가구의 흡광도

Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해활성능

Cushman과 Cheung의 방법(20)을 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 전 배양시켰다. 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 mL을 가하여 15초간 교반한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리시켜 상층액 1 mL을 취하였다. 이 상층액을 120°C에서 30분간 완전히 건조시킨 다음 1 M NaCl 3 mL을 가하여 15초간 교반하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 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

Superoxide radical 소거활성

Superoxide radical(O₂^{·-}) 소거활성은 xanthine-xanthine oxidase cytochrome C 환원법(21)으로 측정하였다. 가수분해물 0.2 mL, 50 mM 인산완충액(pH 7.8) 1.2 mL, 1 mM xanthine 0.2 mL, 0.05 mM cytochrome C 0.2 mL 및 550 nm에서 분당 흡광도 변화가 0.02가 되도록 희석한 xanthine

oxidase 0.2 mL을 가하여 혼합한 다음 정확히 3분 동안 반응시킨 후, UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식으로부터 superoxide radical 소거활성으로 나타내었다.

$$\cdot O_2^- \text{ 소거활성}(\%) = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

As: 시료 첨가구의 흡광도

Ac: 시료 무첨가구의 흡광도

혈전용해 활성

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

관능검사

가수분해 시간에 따른 홍삼청국장 가수분해물의 관능적 품질특성을 평가하기 위해 훈련된 8인의 관능요원으로 청국장의 맛, 향, 색에 대한 기호도 및 종합적 기호도에 대하여 9점 평점법(1: 아주 나쁨, 3: 나쁨, 5: 보통, 7: 좋음, 9: 아주 좋음)으로 평가하였으며, 각각의 시료에 대한 청국장 쓴맛, 구수한맛, 청국장 이취발생 정도도 9점 평점법으로 평가하였다.

통계분석

본 연구의 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었고, 통계분석은 statistical analysis system (SAS) 통계 프로그램을 이용하여 duncan's multiple range test에 의해 유의성을 p<0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 색도의 변화

동결 건조시킨 청국장(CGJ), 홍삼청국장(RCJ), 효소 분해한 홍삼청국장(RCH)의 일반성분 함량을 분석한 결과, CGJ의 수분함량은 6.79%, 조단백질 50.45%, 조지방 23.47%, 조회분 4.66%이었으며 탄수화물은 14.63%로 나타났다(Table 1). 식품성분표에 의하면 청국장 분말은 수분 7.7%, 조단백질 43.6%, 조지방 24.3%, 조회분 4.8%, 탄수화물 19.6%의 결과와 유사하였다. 조지방과 조회분 함량은 RCJ와 RCH에서도 비슷한 결과를 나타냈으나, 조단백과 탄수화물에서 RCJ는 함량 차이를 나타내었다. RCH는 효소처리에도 불구하고 조단백 함량이 높게 나타났으며 RCJ는 당질의 함량이 21.79%로 상대적으로 높게 나타났다. 일반성분 함량의 변화는 CGJ와 RCH는 그다지 큰 차이를 나타내지 않았다. 청국

Table 1. Proximate composition of *Cheonggukjang* powder (unit: %)

Composition	<i>Cheonggukjang</i> flour ¹⁾		
	CGJ	RCJ	RCH
Moisture	6.79±0.09 ²⁾	4.94±0.15	6.85±0.10
Crude protein	50.45±1.51	45.51±1.41	52.39±0.40
Crude fat	23.47±0.22	22.79±0.07	20.15±0.26
Ash	4.66±0.01	4.97±0.03	4.76±0.05
Carbohydrate	14.63±0.46	21.79±0.41	15.85±0.20

¹⁾CGJ: *Cheonggukjang*, RCJ: red ginseng *Cheonggukjang*, RCH: red ginseng *Cheonggukjang* hydrolysate.

²⁾Mean±SD of triplicate determination.

장의 일반성분 함량의 차이는 원료 대두의 재배지역, 수확시기, 품종 유무 등에 따라 차이가 있다고 알려져 있는데, 본 실험에 사용된 콩은 동일한 지역, 시기, 품종의 원료를 사용했으나 발효과정의 방법, 조건, 기간 등에 따른 차이로 사료된다. 청국장장의 외형적인 품질평가에 중요한 인자가 되는 색도의 변화를 Hunter 색도계로 측정된 결과(Table 2), L값은 RCH, CGJ 및 RCJ 분말의 순으로 밝게 나타났는데 그 값은 각각 69.20, 69.10, 67.30으로 나타났다. 적색도 a값은 RCJ 8.17, CGJ 7.57, RCH 6.97로 홍삼청국장 가수분해 분말이 가장 낮은 적색을 나타내었는데, 이는 효소적 가수분해 과정에서 홍삼 본래의 색에 영향을 미친 것으로 사료된다. 황색도 b값은 CGJ, RCJ 및 RCH의 순으로 모든 실험구가 유사하게 나타났으며, 그 값은 각각 33.23, 33.10, 29.97로 나타났다.

유리당 함량의 변화

청국장시료(CGJ, RCJ, RCH)의 유리당 함량을 분석한 결과, 총 유리당 함량은 CGJ는 622.47 mg%, RCJ는 698.31 mg%, RCH는 662.14 mg%로 나타났으며, 모든 시료에서 maltose가 가장 높게 나타났다(Table 2). Lee와 Suh(23)의 보고에 의하면 청국장장의 환원당 함량은 발효초기에는 급격히 증가하다가 이후에는 약간 감소하는 경향을 보였는데 이는 발효 초기에 균체가 급격히 증식되면서 생성된 amylase에 의해 환원당 함량이 증가하다가 대부분 균체증식의 기질로 다시 이용됨으로 인해 그 함량이 감소하는 것으로 추정된다.

유리아미노산 함량의 변화

각 조건별 청국장분말(CGJ, RCJ, RCH)의 유리아미노산을 분석한 결과(Table 3), 일반청국장(CGJ)의 유리아미노산 조성은 phenylalanine, leucine, valine, tyrosine, isoleucine, lysine 등의 순이며, 홍삼청국장(RCJ)의 유리아미노산은 phenylalanine, leucine, valine, isoleucine, alanine 등의 순으로 총 유리아미노산 611.42 mg%, 필수아미노산 312.96 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었으며, 홍삼청국장 가수분해물(RCH)은 aspartic acid, phenylalanine, leucine, isoleucine, lysine, valine 등 순으로 총 유리아미노산 함량은 2,157.16 mg%로 청국장(CGJ)의 총 유리아미노산 함량(1,018.61 mg%)보다 2배 높은 함량을 나타내었으며, 필수아미노산도

Table 2. Hunter's color and free sugar contents on *Cheonggukjang* powder

Physicochemical properties		<i>Cheonggukjang</i> flour ¹⁾		
		CGJ	RCJ	RCH
Hunter's color value	L	69.10±0.72 ²⁾	67.30±0.35	69.20±0.20
	a	7.57±0.23	8.17±0.31	6.97±0.06
	b	33.23±0.29	33.10±0.20	29.97±0.15
Free sugar (mg%)	Fructose	109.99	144.52	84.33
	Glucose	88.28	79.20	124.97
	Sucrose	127.26	126.37	135.47
	Maltose	210.66	265.91	233.33
	Raffinose	86.28	82.31	84.04
Total		622.47	698.31	662.14

¹⁾See footnotes in Table 1.

²⁾Mean±SD of triplicate determination.

Table 3. Comparison of free amino acid content on the *Cheonggukjang* powder (unit: mg%)

Amino acid	<i>Cheonggukjang</i> flour ¹⁾		
	CGJ	RCJ	RCH
O-Phospho-L-serine	- ²⁾	14.12	-
Taurine	0.25	0.23	-
Urea	4.18	2.89	-
L-Aspartic Acid	3.79	2.16	-
L-Serine	28.61	-	-
L-Asparagine	60.68	29.00	320.12
L-Glutamic acid	-	2.33	8.01
L-Sarcosine	-	-	77.69
L-α-Aminoadipic Acid	5.08	2.68	18.01
L-Proline	-	-	97.14
Glycine	28.25	14.44	4.58
L-Alanine	49.97	40.60	83.17
L-Citrulline	16.17	5.48	45.69
L-α-Amino-n-butyric acid	6.78	4.65	16.62
L-Valine	100.24	60.31	111.24
L-Cystine	3.32	1.27	10.92
L-Methionine	8.62	4.91	23.36
L-Cystathionine	15.06	33.00	81.39
L-Isoleucine	68.94	41.19	139.44
L-Leucine	132.59	85.92	180.18
L-Tyrosine	94.62	35.82	133.07
β-Alanine	-	7.49	19.40
L-Phenylalanine	158.84	90.32	238.74
D,L-β-Aminoisobutyric Acid	12.58	1.15	43.14
L-Homocystine	35.71	31.36	73.00
γ-Amino-n-butyric Acid	13.88	5.18	7.93
Hydroxylysine	5.71	2.44	31.23
L-Ornithine	16.71	8.13	95.65
L-Lysine	63.87	30.31	119.22
1-Methyl-L-histidine	4.40	1.48	7.84
L-Histidine	54.33	26.17	79.93
3-Methyl-L-histidine	-	-	11.36
L-Anserine	12.53	-	3.70
L-Carnosine	1.66	3.50	9.64
L-Arginine	11.24	22.89	65.75
TA ³⁾	1,018.61	611.42	2,157.16
EA ⁴⁾	533.10	312.96	812.18

¹⁾See footnotes in Table 1.

²⁾-: Not detected.

³⁾TA: Total amino acid.

⁴⁾EA: Essential amino acid (Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+Lys+Trp).

812.18 mg%로 가장 많이 함유되었다. 이는 증자 및 열처리, 균주 접종에 의해 단백질이 아미노산으로 전이된 CGJ와 RCJ에 비해 RCH는 상기와 동일한 조건에서 protease 효소 처리에 의해 단백질이 아미노산으로 전이된 것으로 추정된다. 청국장은 발효숙성 중에 *B. subtilis*의 작용으로 원료 콩 단백질을 분해시켜 생성한 구수한 맛을 내는 glutamic acid, aspartic acid, 쓴맛을 지닌 valine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine 및 단맛을 내는 alanine, glycine, lysine 등(24)의 17종의 유리아미노산이 어울려져 복합적인 청국장 특유의 맛을 형성한다고 생각된다.

SDS-PAGE 전기영동 패턴

각 청국장 시료(CGJ, RCJ, RCH)가 분자량에 미치는 영향을 알아보기 위해서 SDS-PAGE 전기 영동한 결과 Fig. 1에 나타내었다. 일반청국장(CGJ)와 홍삼청국장(RCJ)의 단백질 분자량은 대체로 33,000 Da 정도 이하에서 나타났다. 효소처리 가수분해에 의한 홍삼청국장(RCH)은 17,000 Da 이하의 저분자량을 가지고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 모든 시료의 가장 주된 분리대는 분자량이 11,000 Da에서 넓은 분포대를 나타냈다. Choi 등(25)은 인삼의 수용성 단백질 20,000 Da~94,000 Da의 범위에서 8개의 밴드를 확인하였으며, 특히 주 단백질의 분자량은 43,000 Da으로 추정하였다. Seok 등(26)은 청국장 발효시간 경과 중 주단백질의 분자량을 측정된 결과 발효 48시간째의 수용성 단백질의 분자량은 19,000 Da정도로 추정하였고, An 등(27)은 수용성 단백질의 주된 분자량이 삶은 콩에서 66,000 Da이었고 6주 동안 발효과정 중의 주된 분자량은 12,000 Da이었다고 보고함으로써 발효과정의 시간이 많이 길었다. 본 연구에서는 CGJ와 RCJ의 고분자 peptide가 *B. subtilis* N2 단백질분해효소 및 자가소화효소에 의해서 분해되어 peptide가 생성되었지만, RCH는 청국장 제조 후 protease 처리에 의해 단시간에 분해되어

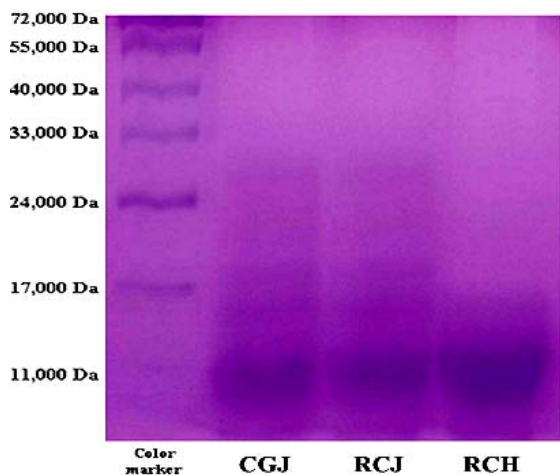


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis profile of the *Cheonggukjang* powder flour. Lane CGJ: *Cheonggukjang*, Lane RCJ: red ginseng *Cheonggukjang*, Lane RCH: red ginseng *Cheonggukjang* hydrolysate.

저분자의 peptide가 많이 분리되었던 것으로 사료된다.

전자공여능 함량의 변화

각 조건별 청국장의 전자공여능을 분석한 결과(Fig. 2), CGJ와 RCJ는 64.82%, 66.78%의 활성을 보였으며, RCH는 가장 높은 77.99%의 활성을 나타내었다. Kim 등(28)은 녹두를 효소로 가수분해하지 않은 구간보다 효소적 가수분해한 시료에서 약 3배 이상 높은 활성을 나타내었다. 콩 속에 함유된 토코페롤, 이소플라본, 사포닌과 같은 알려진 항산화 물질의 효과로 추정되었으며 콩의 항산화 효과와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(29). 최근에 Park과 Ryu(30)는 한국 발효식품으로부터 항산화 물질을 생산하는 *Bacillus* sp.을 분리하여 항산화 물질을 조사하였고, Yee 등(31)은 대두단백질을 pepsin으로 가수 분해시킨 가수분해물의 항산화 활성이 대조구에 비해 약 80% 정도 활성이 높았다고 보고하였다. Yamaguchi 등(32,33)은 대두단백질 효소 가수분해물 중에서 분자량 2.5~3.0 kDa 사이의 peptide가 항산화 활성이 가장 뛰어났고, 대두단백질, 우유 카제인, 난백알부민 및 젤라틴 가수 분해물에 대한 항산화력은 vitamin B₁₂(MW 1,350 Da)보다 약간 큰 분자량을 가진 분획에서 가장 높았다고 보고하였다. 본 실험에서 항산화 활성은 저분자 peptide 및 아미노산 조성 등에 의한 영향으로 생각되며, 분자량과 구조분석에 대한 보충연구가 필요할 것으로 생각된다.

ACE 저해활성

각 조건별 청국장분말(CGJ, RCJ, RCH)에 대한 ACE 저해활성을 분석한 결과(Fig. 2), 홍삼청국장 가수분해물(RCH)에서 제일 높은 97.24%를 보였고, CGJ와 RCJ에서도 각각 94.63%, 96.28%로 비교적 높은 활성을 보였다. Cho 등(34)은 청국장의 ACE 저해활성이 발효시간에 따라 차이를 보이며, 청국장 발효 중에 단백질의 분해로 생성되는 peptide가 ACE 저해활성과 관련이 있다고 보고하였으며, Suh

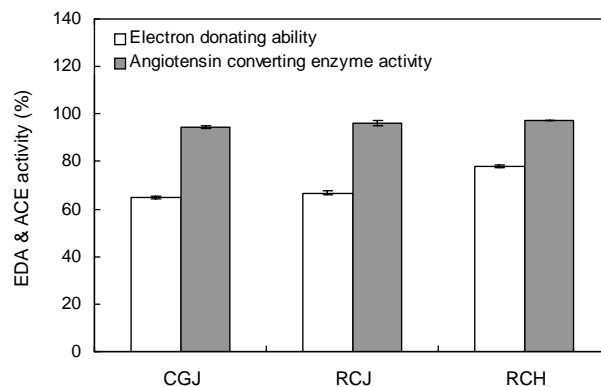


Fig. 2. DPPH free radical activity and angiotensin converting enzyme activity of the *Cheonggukjang* powder. CGJ: *Cheonggukjang*, RCJ: red ginseng *Cheonggukjang*, RCH: red ginseng *Cheonggukjang* hydrolysate. Values are expressed as the mean±SD (n=3).

등(35)은 청국장내 ACE 저해활성을 지닌 peptide는 histidine를 풍부하게 지니며 이들 peptide의 아미노산 조성은 서로 다르다고 하였다. 또한 Yeum 등(36)은 ACE 저해활성은 peptide-nitrogen 생성량과도 관련이 있지만 peptide의 사슬 길이나 구조 및 그 아미노산의 배열의 차이에 더 큰 영향을 받는다고 알려져 있다. 지금까지 알려진 간장, 된장, 청국장 및 콩 가수분해물에서 유래된 수용성 단백질, 펩타이드가 대부분의 ACE 저해물질로서 혈압강하 효과를 보고하였으며, 본 실험에서 청국장 제조과정에 관여하는 미생물과 효소제에 의하여 대두단백질을 분해하여 ACE 저해활성을 나타내는 peptide 생성에 직접 또는 간접적으로 관여하였을 것으로 추정할 수 있다. 따라서 이러한 홍삼청국장 가수분해물의 높은 ACE 저해활성은 앞으로 이들을 이용한 고혈압 예방용 기능성 식품개발에 귀중한 자료로 활용될 것으로 기대된다.

SOD 활성능

각 처리조건에 따른 청국장의 SOD 활성은 CGJ는 24.01%, RCJ는 22.12%로 가장 낮은 활성을 보였으며, RCH는 가장 높은 30.76%의 활성을 나타내었다(Fig. 3). 본 실험에서 시료의 전처리에 따라 SOD 활성이 다르게 나타나기는 했지만 CGJ와 RCJ는 유사하였으며, 홍삼청국장 가수분해물(RCH)은 가장 높은 활성을 보였다. CGJ, RCJ와 RCH의 SOD와 같은 항산화 효소의 직접적인 작용은 홍삼의 특정 성분 및 항산화력을 나타내는 물질과 대두 자체에 들어있는 성분에 의한 것으로 사료된다. 일반적으로 SOD 활성으로만 항산화 작용을 설명할 수는 없지만, 추출물중의 항산화물질들은 유지의 자동산화 과정 중 생성되는 ROO, R, RO 등의 라디칼에 전자를 주는 능력인 전자공여능이 중요한 작용(37)을 하는 것으로 앞서 연구결과(Fig. 2)에 나타내었다. 본 실험은 청국장 제조 시 1차적으로 *B. subtilis* N2 균주에 의해서 대두단백질이 peptide로 가수 분해되었고, 특히 홍삼청국장 가수분해물(RCH)의 경우는 2차적 효소적 가수분해에

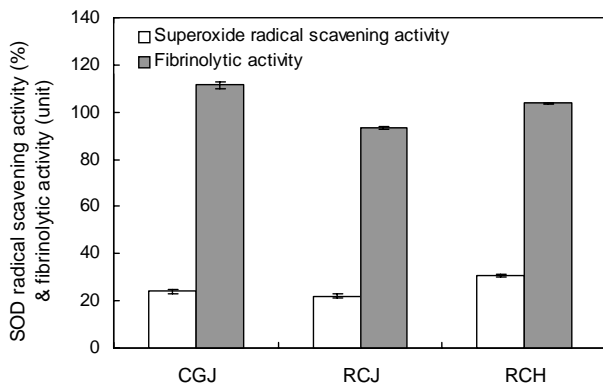


Fig. 3. Superoxide radical scavenging activity and fibrinolytic activity of the *Cheonggukjang* powder. CGJ: *Cheonggukjang*, RCJ: red ginseng *Cheonggukjang*, RCH: red ginseng *Cheonggukjang* hydrolysate. Values are expressed as the mean \pm SD (n=3).

의해서 용출된 peptide양이 많아 대조구(CGJ, RCJ)보다 우수한 SOD 활성을 나타낸 것으로 판단되었다.

혈전용해능

각 청국장분말 시료(CGJ, RCJ, RCH)의 혈전용해 활성은 CGJ가 111.38 unit로 가장 높은 활성을 나타내었고(Fig. 3), RCH 103.87 unit, RCJ 93.21 unit로 가장 낮게 활성을 나타내었다. 청국장은 전통적으로 *B. subtilis*에 의하여 발효되어 특이한 향과 맛을 나타내는 대두발효식품이므로 Woo 등(16)이 분리한 *B. subtilis* N2균주는 혈전용해능이 우수한 효소를 분비하는 균주이며, 홍삼융합 청국장이 혈전용해능이 있는 기능식품으로의 가능성을 제시하고 있다. 또한 우리나라 전통 대두발효식품으로서 혈전용해능이 우수하다고 보고된 된장(38)과 청국장(39) 종류의 혈전용해 활성보다 우수한 결과를 나타내었으며, 식품의 다양한 활용성 등을 고려할 때 높은 부가가치를 지닌 기능성 식품 소재로의 활용이 기대되었다.

관능검사

각 청국장 시료에 대하여 관능검사를 실시한 결과, 전통 청국장에서 나타나는 쓴맛에 대한 평가는 청국장(CGJ)과 홍삼청국장(RCJ)에서 쓴맛이 강하였으나 홍삼청국장 가수분해물(RCH)에서는 감소하여 가장 높게 나타났다(Table 4). 또한 청국장 특유의 냄새는 RCJ에서 가장 심한 불쾌취가 났으나, RCH의 시료는 다른 시료보다 불쾌취가 감소하였다. 일반적으로 가수분해 과정에서 쓴맛을 나타내는 아미노산이 증가되어 산업적 활용에 많은 문제점이 발생되고 있다. 그러나 본 연구과정에서 선별된 효소제를 이용한 홍삼청국장 가수분해물은 쓴맛과 암모니아취와 같은 독특한 냄새 등의 기호성이 개선되었다. 전반적 기호도는 RCH가 가장 높은 점수를 얻었고 CGJ시료와도 유의적인 차이를 보이지 않았으나, RCJ는 쓴맛, 짙은 갈색과 불쾌취로 인해 낮게 나타났다. 이상의 결과 홍삼청국장에 효소로 가수분해함으로써 홍삼 특유의 진한 향과 청국장의 쓴맛과 냄새를 감소시키고, 전반적 기호도를 향상시키는 효과를 나타내었다. 따라서 우리나라의 전통 자원인 홍삼과 청국장을 융합하여 효소적 가

Table 4. Sensory evaluation of *Cheonggukjang* powder

Characteristics	<i>Cheonggukjang</i> flour ¹⁾		
	CGJ	RCJ	RCH
Taste	4.67 \pm 2.25 ^{2)a3)}	4.66 \pm 1.51 ^a	5.17 \pm 2.04 ^a
Aroma	5.17 \pm 1.84 ^a	4.67 \pm 1.51 ^a	5.67 \pm 1.75 ^a
Color	4.33 \pm 1.63 ^b	5.50 \pm 1.23 ^{ab}	6.33 \pm 1.63 ^a
Overall acceptability	5.08 \pm 2.09 ^a	4.83 \pm 1.84 ^a	6.08 \pm 2.00 ^a

¹⁾See footnotes in Table 1.

²⁾Each values represent the means and standard deviations of ratio by 8 judges using 9-point scale (1: very poor, 9: very good).

³⁾Means and standard deviation in a row followed by different letters are significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

수분해에 의해 콩에서 유리되는 아미노산 함량을 높이고, 독특한 향과 맛을 부여함으로써 청국장의 쓴맛과 불쾌취를 감소시켜 현대인의 기호성, 기능성을 향상시킨 고품질 브랜드 개발 및 고 부가가치 단백질식품으로서 활용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

요 약

청국장을 다양한 식품소재로 활용하기 위하여 각 조건별 청국장(CGJ), 홍삼청국장(RCJ) 및 홍삼청국장 가수분해물(RCH)의 품질 및 기능적 특성을 조사하였다. 일반성분은 RCJ가 탄수화물 함량이 다른 시료에 비하여 높았으며 조단백 함량은 낮았다. 유리아미노산 함량은 CGJ에 비하여 RCH가 2,157.16 mg%로 약 2배정도 높았으며 필수아미노산 함량도 812.18 mg%로 가장 높았다. SDS-전기영동 패턴분석 결과 CGJ와 RCJ는 33 kDa 이하의 분자량을 나타내었고, RCH는 17 kDa 이하의 저분자 분자량으로 나타나 저분자화 가수분해되었음을 확인할 수 있었다. DPPH free radical 소거활성, superoxide radical 소거활성, ACE 저해활성은 시료 간에 유의적 차이는 크게 나타나지 않았으나, RCH가 가장 높은 활성을 보였고, 혈전용해 활성은 CGJ가 111.38 unit로 가장 높게 나타났다. 또한 관능평가에서 홍삼 특유의 쓴맛은 있었으나 전반적 기호도는 높게 나타났다. 이상의 결과 청국장(CGJ)에 비하여 홍삼청국장(RCJ) 및 홍삼청국장 가수분해물(RCH)이 기능성 강화 및 불쾌취가 감소되어 다양한 식품 소재로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

문 헌

- Kim EM. 2005. Quality characteristics of *jeung-pyun* according to the level of red ginseng powder. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 209-216.
- Ko SK, Lee CR, Choi YE, Im BO, Sung JH, Yoon KR. 2003. Analysis of ginsenosides of white and red ginseng concentrates. *Korean J Food Sci Technol* 35: 536-539.
- Attele S, Wu J, Yuan CS. 1999. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol* 58: 1685-1693.
- Lee JW, Do JH, Lee SK, Yang JW. 2000. Determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng, and their extraction conditions. *J Ginseng Res* 24: 64-67.
- Shin JA, Kwon JH, Lee KT. 2003. Aroma analysis by the electronic nose on red ginseng powder treated with gamma radiation, methyl bromide and phosphine. *Korean J Food Sci Technol* 35: 825-829.
- Kim KY, Shin JK, Lee SW, Yoon SR, Chung HS, Jeong YJ, Choi MS, Lee CM, Moon KD, Kwon JH. 2007. Quality and functional properties of red ginseng prepared with different steaming time drying methods. *Korean J Food Sci Technol* 39: 494-499.
- 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.
- Kim ND. 2001. A pharmacological action of red ginseng. *J Ginseng Res* 25: 2-10.
- Kim JS. 1996. Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest* 13: 17-24.
- Kim WK, Choi KH, Kim YT, Park HH, Choi JY, Lee YS, Oh HI, Kwon IB, Lee SY. 1996. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from *chungkookjang*. *Appl Environ Microbiol* 62: 2482-2488.
- Lee SK, Bae DH, Choi KH. 1998. Medium optimization for fibrinolytic enzyme production by *Bacillus subtilis* KCK-7 isolated from Korean traditional *cheonggukjang*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 226-231.
- Hosoi T. 1996. Recent progress in treatment of osteoporosis. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 33: 240-244.
- 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.
- Gu YA, Jang SY, Park NY, Mun CR, Kim OM, Jeong YJ. 2006. Property changes of mung bean depending on hydrolysis conditions. *Korean J Food Preserv* 13: 563-568.
- Lee MH, Gu YA, Choi MS, Kwon JH, Kim IS, Jeong YJ. 2007. Characteristic changes in red ginseng fusion *cheonggukjang* based on hydrolysis conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1031-1037.
- Woo SM, Kwon JH, Jeong YJ. 2006. Selection and fermentation characteristics of *cheonggukjang* strains. *Korean J Food Preserv* 13: 77-82.
- Jeong YJ, Woo SM, Kwon JH, Choi MS, Seong JH, Lee JW. 2007. Quality characteristics of red ginseng *cheonggukjang* according to addition methods of red ginseng. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 889-895.
- Korea Food Industry Association. 2002. *Food Code*. p 452.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Iio M, Moriyama A, Matsumoto Y, Takai N, Fukumoto M. 1985. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Agric Biol Chem* 49: 2173-2178.
- Anson ML. 1939. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Physiol* 22: 79-85.
- 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: 97-104.
- Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Hang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional *chonggug-jang* produced in different regions. *Agric Chem Biotechnol* 41: 377-383.
- Choi C, Yoon SH, Bae MJ, An BJ. 1985. Proteins and amino acid composition of Korea ginseng classified by years. *Korean J Food Sci Technol* 17: 1-4.
- Seok YR, Kim YH, Kim S, Woo HS, Kim TW, Lee SH, Choi C. 1994. Change of protein and amino acid composition during *chungkookjang* fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. *Agric Chem Biotechnol* 37: 65-71.
- An BJ, Son GM, Choi C. 1986. Changes in protein and amino acid composition of native *meju* during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 15: 152-157.
- Kim OM, Gu YA, Jeong YJ. 2007. Characteristics of mung bean powders after various hydrolysis protocols. *Korean J Food Preserv* 14: 301-307.

29. Santiago LA, Hiramatsu M, Mori A. 1992. Japanese soybean paste miso scavenges free radicals and inhibits lipid peroxidation. *J Nutr Sci Vitaminol* 38: 297-302.
30. Park EY, Ryu BH. 1996. Antioxidant producing microorganism from Korean fermented food. *Proceeding of Kor Soc Appl Microbiol.* p. 330.
31. Yee JJ, Shipe WF, Kinsella JE. 1980. Antioxidant effects of soy protein hydrolysates on copper-catalyzed methyl linoleate oxidation. *J Food Sci* 45: 1082-1083.
32. Yamaguchi NS, Naito S, Yokoo Y, Fujimaki M. 1981. Application of protein hydrolyzate to biscuit as antioxidant. *J Agric Food Chem* 35: 66-70.
33. Yamaguchi NS, Naito S, Yokoo Y, Fujimaki M. 1980. Application of protein hydrolyzate to biscuit as antioxidant. *J Japanese Soc Food Sci Technol* 27: 56-59.
34. Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during chungkukjang fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 247-252.
35. Suh HJ, Suh DB, Chung SH, Whang JH, Sung HJ, Yang HC. 1994. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. *Agric Chem Biotechnol* 37: 441-446.
36. Yeum DM, Lee TG, Byum HS, Kim SB, Park TH. 1992. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of mackerel muscle protein. *J Korean Fish Soc* 25: 229-235.
37. Kim JS, Kim KW, Choi KJ, Kwak YK, Im KS, Lee KH, Chung HY. 1996. Screening of antioxidative components from red ginseng saponin. *Korean J Ginseng Sci* 20: 173-178.
38. Lee DH, Kim JH, Yoon BH, Lee GS, Choi SY, Lee JS. 2003. Changes of physiological functionalities during the fermentation of medicinal herbs doenjang. *Korean J Food Preserv* 10: 213-218.
39. Lee BY, Kim DM, Kim KH. 1991. Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *Chungkook-jang*. *Korean J Food Sci Technol* 23: 599-604.

(2008년 1월 7일 접수; 2008년 2월 19일 채택)