

녹차첨가 서리태청국장의 이화학적 특성 및 유리기 소거능

박현영 · 조은주[†]

부산대학교 식품영양학과, 노인생활환경연구소

Radical Scavenging Effects and Physicochemical Properties of Seolitae Chungkukjang Added with Green Tea

Hyun Young Park and Eun Ju Cho[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Research Institute of Ecology for the Elderly,
Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract

Seolitae Chungkukjang added with different ratios of green tea was prepared to increase the antioxidative activity of Chungkukjang. The physicochemical properties and the radical scavenging effect under *in vitro* were evaluated. The addition of green tea to Seolitae Chungkukjang (SC) revealed lower pH, green color and decrease in levels of NH₃-N. Among the Chungkukjang group with Seolitae or green tea, SC with green tea 5.0% (SCG 5.0) showed the strongest scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl with IC₅₀ value of 82.1 µg/mL. In addition, SCG 5.0 exerted the most effective ·OH scavenging activity. Moreover, SCG 5.0 showed the similar sensory preference to control soybean Chungkukjang. The present study suggests that SC exerts radical scavenging effect, and that the addition of green tea to SC leads to the increase in the antioxidative effect of Chungkukjang.

Key words: Seolitae, Chungkukjang, green tea, radical scavenging activity, physicochemical properties

서 론

청국장은 삶은 콩에 고초균을 번식시켜 만든 전통 발효식품으로 가장 짧은 기일에 완성할 수 있으면서도 그 풍미가 독특하고 영양적, 경제적으로도 가장 효과적인 콩의 섭취방법으로 인정되고 있다. 또한 최근 많은 연구자들에 의해 콩에서 기인된 isoflavone, phytic acid, saponin, trypsin inhibitor, tocopherol, 불포화지방산, 식이섬유, 올리고당 등의 각종 생리활성물질과 항산화물질 및 혈전용해효소를 다량 함유하고 있기 때문에 기능성식품으로서의 중요성이 강조되고 있다(1-4). 오랫동안 청국장이 전통식품으로 사용되어 왔음에도 불구하고 영양학적인 우수성과 생리 기능성에 관한 연구는 비교적 최근에 이루어지고 있다. 청국장에 관한 연구로는 청국장 제조의 발효에 관한 연구가 주를 이루며, 청국장의 기능성에 관한 연구로는 혈중콜레스테롤 저하, 고혈압 예방, 항암, 항산화, 혈전용해 및 골다공증 예방 등 다양한 효과에 대한 보고가 있다(5-12). 반면 청국장의 독특한 이취를 제거하는 방법 및 관능성 향상과 기능성 증진에 대한 연구는 그다지 행해지지 않은 실정이다.

항산화 기능성 증진 및 이취제거를 위해 많이 이용되어지

는 녹차는 다양한 기능성이 인정되고 있는데, 특히 항산화효과, 항암효과, 항균효과, 혈압강하효과 등이 알려져 있다(13-18). 청국장 제조 시 대부분의 경우 대두가 주원료로 사용되고 있으나, 대두 대신 기능성을 증진시킬 수 있는 재료로서 검정콩을 들 수 있다. 검정콩은 종피의 안토시아닌 색소가 여러 가지 기능성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(19-21). 청국장의 항산화 기능성 증진을 위한 제조법에 대한 연구는 드문 실정으로, 본 연구에서는 녹차 첨가량을 달리하여 검정콩의 일종인 서리태청국장을 제조하고 이화학적 실험과 관능검사를 통해 녹차 첨가에 따른 서리태청국장과 일반 대두청국장과의 선호도를 비교하고 *in vitro*상에서 라디칼 소거능을 살펴보았다.

재료 및 방법

청국장 제조

선별한 대두와 서리태를 수세하여 15°C의 물에 48시간 동안 침지하고 수절한 후 121°C에서 40분간 증자하였다. 증자한 콩을 40°C로 냉각시킨 후 녹차분말의 첨가량을 달리하여 증자콩에 대해 각각 0.5%, 2.0%, 5.0%를 첨가하고 청국장

[†]Corresponding author. E-mail: ejcho@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2837, Fax: 82-51-583-3648

분리균(*Bacillus subtilis*)을 접종하여 40°C에서 60시간 발효시켰다. 발효가 끝난 시료는 동결건조한 뒤 분쇄하여 시료로 사용하였다.

시료 조제 및 추출

동결건조시킨 시료를 마쇄하여 시료에 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공 농축기로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었으며, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 측정을 위해서는 ethanol, ·OH 측정을 위해서는 PBS에 녹여 사용하였다.

pH, 색도, 아미노태 질소 및 암모니아태 질소 측정

pH는 시료를 10배 희석하여 pH meter(Corning 220, USA)로 측정하였다. 색도는 시료를 간 후 즙액을 취해 10배 희석한 후 Minolta Chroma Meter(CT-310, Japan)로 명도(lightness, L*), 적색도(redness, a*), 황색도(yellowness, b*)를 측정하였다. 이 때 표준색은 L값이 100.0, a값이 0.24, b값이 0.01인 calibration plate를 표준으로 사용하였다.

아미노태 질소함량(NH₂-N)은 청국장 2 g을 취하여 formal법으로 측정하였다(22). 암모니아태 질소 함량(NH₃-N)은 증류수를 가하여 청국장을 5배 희석, 진탕추출 후 여과지 로 여과한 여액을 Indophenol법으로 측정하였다(22).

DPPH radical 소거능

Ethanol에 녹인 각 농도별 시료 100 µL와 60 µM DPPH 100 µL를 96-well plate에 주입하여 혼합해서 30분간 실온에 방치한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(23). 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 소거효과를 백분율과 IC₅₀(DPPH radical 생성을 50%까지 억제하는데 필요로 하는 샘플 농도)로 나타내었다.

·OH 소거효과

Fenton 반응에 따라 10 mM FeSO₄·7H₂O-EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 농도에 따른 sample solution을 혼합한 다음, 10 mM의 H₂O₂를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid와 1.0% thiobarbituric acid solution을 각각 첨가하여 10분간 boiling한 후 cooling하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다(24).

관능검사

녹차첨가 검정콩 청국장의 관능특성을 측정하기 위해 20인의 panel을 대상으로 청국장의 외관, 향, 맛 및 종합적 기호도의 4개 항목에 대한 검사를 9점 평점법(1, 매우 싫다; 9, 매우 좋다)으로 평가하였다.

통계분석

실험 결과는 평균±표준편차(n=5)로 나타내었고, 대조군과 실험군의 실험결과는 one way ANOVA로 검증한 후 Duncan's multiple range test로 유의수준 p<0.05에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

pH, 색도, 아미노태 질소 및 암모니아태 질소

녹차 첨가 비율에 따른 청국장의 pH는 Table 1과 같다. 발효 후 청국장의 pH는 발효전에 비해 증가하는 것으로 나타났다. 이는 다른 연구보고와도 일치하였는데(8-10), 발효기간이 경과되면 탈아미노 현상이 일어나 이취성분의 주체인 암모니아가 생성되기 때문에 pH가 증가하는 것으로 볼 수 있다. 일반 대두청국장장에 비해 서리태청국장이 전반적으로 pH가 낮게 나타났으며, 이는 청국장의 주재료에 따라 발효양상의 차이를 보임을 시사하였다. 또한 서리태청국장에서 녹차의 첨가는 pH를 증가시키는 경향을 보였다.

녹차첨가량에 따른 색도를 비교한 결과는 Table 2와 같다. 녹차첨가 서리태청국장의 lightness(L*), redness(a*), yellowness(b*)는 모두 대조군에 비해 감소하는 것으로 나타났다. 또한 녹차첨가량이 많아질수록 명도와 적색도는 감소하였고, 황색도는 증가하는 경향을 보였다.

Table 3에서는 청국장의 NH₂-N와 NH₃-N 함량을 나타내고 있다. 청국장의 구수한 맛을 좌우하는 아미노산 성분인 아미노태 질소는 대두청국장이 가장 높았고, 반면 서리태청국장은 대두청국장에 비해 다소 낮게 나타났다. 또한 녹차첨가가 암모니아태 질소의 함량은 감소시키고 녹차첨가량이 많아짐에 따라 청국장의 아미노태 질소 함량은 서서히 감소

Table 1. pH of various kinds of Chungkukjang after fermentation at 40°C for 60 hr

Materials	pH
Control	8.30±0.05 ^a
SC	7.86±0.01 ^d
SCG 0.5	7.99±0.01 ^b
SCG 2.0	7.99±0.01 ^b
SCG 5.0	7.92±0.01 ^c

Values are mean±SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Control: soybean Chungkukjang, SC: Seolitae Chungkukjang, SCG 0.5, 2.0 and 5.0: SC added with green tea 0.5%, 2.0% and 5.0%, respectively.

Table 2. Hunter's color value of various kinds of Chungkukjang

Materials	L*	a*	b*
Control	89.02±0.08 ^a	0.41±0.03 ^a	7.30±0.04 ^b
SC	82.32±0.26 ^c	0.38±0.04 ^a	5.25±0.04 ^c
SCG 0.5	85.88±0.62 ^b	0.40±0.11 ^a	4.48±0.08 ^d
SCG 2.0	80.64±0.05 ^{cd}	0.38±0.07 ^a	7.35±0.01 ^b
SCG 5.0	79.42±0.44 ^d	0.32±0.10 ^a	8.26±0.13 ^a

Values are mean±SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

L*: lightness, a*: redness b*: yellowness.

Control: soybean Chungkukjang, SC: Seolitae Chungkukjang, SCG 0.5, 2.0 and 5.0: SC added with green tea 0.5%, 2.0% and 5.0%, respectively.

Table 3. The content of amino and ammonia type of nitrogens in Chungkukjang

Materials	NH ₂ -N (mg%)	NH ₃ -N (μg/dL)
Control	576.40 ± 0.90 ^a	143.75 ± 0.87 ^a
SC	486.27 ± 18.48 ^b	142.00 ± 1.00 ^a
SCG 0.5	427.00 ± 19.75 ^{cd}	147.87 ± 1.76 ^a
SCG 2.0	436.80 ± 7.27 ^c	123.27 ± 3.61 ^b
SCG 5.0	399.47 ± 23.27 ^d	95.03 ± 5.58 ^c

Values are mean ± SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

Control: soybean Chungkukjang, SC: Seolita Chungkukjang SCG 0.5, 2.0 and 5.0: SC added with green tea 0.5%, 2.0% and 5.0%, respectively.

하였다. 녹차 5% 첨가 청국장에서 399.47 mg(%)로 청국장 중에 가장 낮았으나 식품공전의 아미노태 질소 함량 기준인 280 mg(%) 이상을 만족하였다. 반면, 청국장 불쾌취의 원인인 암모니아태 질소 함량은 녹차 5% 첨가 서리태청국장이 가장 낮았고 일반 대두청국장과 서리태청국장, 녹차 0.5% 첨가 서리태청국장은 유의적 차이를 보이지 않았다.

DPPH 소거효과

Table 4는 일반 대두청국장, 서리태청국장, 녹차첨가 서리태청국장의 MeOH 추출물을 이용하여 DPPH 소거능을 측정된 결과이다. 그 결과를 IC₅₀로 살펴보면, SCG 5.0이 82.1 μg/mL로 가장 우수한 DPPH 소거능을 나타냈으며, 그 다음으로 SCG 2.0, SCG 0.5, SC, Control 순으로 DPPH 소거능이 높은 것으로 나타났다. 본 연구의 예비실험으로 청국장 재료의 DPPH 소거능을 검토한 결과, 서리태가 대두보다 우수한 효과를 보였다(data not shown). 콩의 항산화효과를 비교한 다른 연구 결과에서도 검정콩이 대두보다 항산화효과가 높았다고 하였다(21). 따라서 서리태가 대두보다 높은 항산화효과를 나타내는 것은 검정콩 종피 색소인 안토시아닌 계열의 생리활성 물질에 의한 것으로 사료된다. 또한 녹차의 항산화활성은 많은 연구 보고에 의해 잘 알려져 있으므로(13-18), 청국장의 제조에 있어서 검정콩에 녹차를 첨가함으로써 일반 대두청국장에 비해 우수한 DPPH 소거능을 나

Table 4. DPPH scavenging activity of MeOH extracts from Chungkukjang

Materials	IC ₅₀ (μg/mL)
Control	723.2 ± 62.9
SC	450.5 ± 44.6
SCG 0.5	228.7 ± 17.7
SCG 2.0	208.8 ± 16.8
SCG 5.0	82.1 ± 18.4
Ascorbic acid	1.1 ± 0.03

Values are mean ± SD.

IC₅₀ is concentration in μg/mL required to inhibit DPPH radical formation by 50%.

Control: soybean Chungkukjang, SC: Seolita Chungkukjang, SCG 0.5, 2.0 and 5.0: SC added with green tea 0.5%, 2.0% and 5.0%, respectively.

타낸 것으로 여겨진다.

·OH 소거효과

Table 5는 일반 대두청국장과 서리태청국장 및 녹차첨가 서리태청국장의 ·OH 소거능을 나타낸 결과이다. 100 μg/mL의 농도에서 일반 대두청국장과 서리태청국장은 각각 1.6%, 14.8%의 ·OH 소거능을 보여 다소 낮은 효과를 나타내었다. 반면, 일반 대두청국장과 서리태청국장에 비해 녹차를 첨가한 서리태청국장이 높은 ·OH 소거능을 나타내었으며, 특히 녹차첨가량이 증가할수록 ·OH 소거능은 우수하였다. 500 μg/mL의 농도에서 SCG 0.5, SCG 2.0, SCG 5.0은 각각 20.3%, 35.7%, 41.6%의 ·OH 소거능을 보였다. 이러한 결과로부터 반응성과 독성이 가장 강한 라디칼인 ·OH에 대한 소거능이 서리태에 5%의 녹차를 첨가한 청국장이 가장 우수한 효과를 보임을 알 수 있었다.

관능검사

Table 6은 앞선 연구 결과를 바탕으로, 항산화 가능성이 *in vitro*와 세포실험에서 가장 우수했던 녹차 5.0% 첨가 서리태청국장의 관능성을 일반 대두청국장과 관능성을 비교한 것이다. 9점 척도법으로 관능검사를 하였고, 9에 가까울수록 매우 좋다, 1에 가까울수록 매우 나쁘다로 측정하였다. 관능검사 결과 녹차 5% 첨가 서리태청국장은 이취 항목에서 일반청국장보다 이취가 약하다는 평가를 얻었고 전체적인 선호도나 외관, 냄새, 맛에 있어서는 일반 대두청국장과 유사하게 높은 선호도를 나타냈다. SCG 5.0은 구수한 맛을 좌우하는 아미노태 질소의 함량은 낮았으나, 청국장에서 이취와 관

Table 5. Hydroxyl radical scavenging activity of Chungkukjang

Materials	Concentration (μg/mL)	·OH scavenging effect (%)
Control	100	1.6 ± 0.8 ⁱ
	250	7.1 ± 2.1 ^h
	500	30.3 ± 3.6 ^c
SC	100	14.8 ± 2.4 ^f
	250	15.6 ± 3.9 ^f
	500	12.3 ± 2.7 ^g
SCG 0.5	100	23.4 ± 1.6 ^{de}
	250	26.4 ± 2.9 ^d
	500	20.3 ± 0.7 ^g
SCG 2.0	100	16.9 ± 1.5 ^f
	250	46.8 ± 4.9 ^a
	500	35.7 ± 4.2 ^c
SCG 5.0	100	23.0 ± 3.2 ^{de}
	250	31.9 ± 3.5 ^c
	500	41.6 ± 2.7 ^b

Values are mean ± SD.

^{a-i}Means with the different letters are significantly different (p < 0.05) by Duncan's multiple range test.

Control: soybean Chungkukjang, SC: Seolita Chungkukjang, SCG 0.5, 2.0 and 5.0: SC added with green tea 0.5%, 2.0% and 5.0%, respectively.

Table 6. Sensory evaluation of Chungkukjang

Characteristics	Control	SCG 5.0
Appearance	6.83±0.05 ^a	6.08±1.73 ^a
Off-odor	1.75±0.01 ^a	1.33±0.49 ^a
Overall flavor	8.17±1.11 ^a	7.25±0.14 ^b
Overall taste	7.17±0.72 ^a	8.00±1.04 ^a
Overall acceptability	7.83±0.93 ^a	7.17±1.40 ^a

Values are mean±SD.

^{a,b}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Control: soybean Chungkukjang, SCG 5.0: Seolite Chungkuk-jang added with green tea 5.0%.

련된 암모니아태 질소의 함량이 또한 낮아 관능평가에서 SCG 5.0이 좋은 점수를 얻은 것으로 사료된다. 이상의 결과로부터 녹차를 첨가한 서리태청국장이 관능성과 라디칼 소거능이 일반 대두청국장에 비해 우수함을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 청국장의 기능성과 관능적 품질개선을 위한 연구의 일환으로 서리태청국장에 녹차를 0.5%, 2.0%, 5.0% 첨가(w/w)하여 청국장을 제조한 후 특성을 비교하고 항산화능을 검토하였다. 녹차 5% 첨가한 서리태청국장이 *in vitro*상에서 DPPH와 ·OH 소거능이 우수하였고 관능검사 결과는 향, 맛, 종합적 기호도가 일반청국장과 유사하게 높게 나타났다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 녹차 5% 첨가 서리태청국장이 청국장의 관능적 품질이 뛰어날 뿐만 아니라 항산화활성이 가장 높은 것으로 평가되었다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

문 헌

- Pratt DE. 1972. Water soluble antioxidant activity in soybean. *J Food Sci* 37: 322-323.
- Hammerschmidt PA, Pratt DE. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J Food Sci* 43: 556-559.
- Pratt DE, Bibrac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybean and soy products. *J Food Sci* 44: 1720-1722.
- Coward L, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein and their β-glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 41: 1961-1967.
- Iwai K, Nakaya N, Kawasaki Y, Matsue H. 2002. Antioxidative functions of natto, a kind of fermented soybeans: Effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol fed rats. *Agric Food Chem* 50: 3597-3601.
- Sung NJ, Ji YA, Chung SY. 1984. Changes in nitrogenous compounds of soybean during chungkookjang koji fermentation. *J Korean Soc Food Nutr* 13: 275-284.
- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, Shin SY. 2004. Survey on preparation method and consumer response of Chungkukjang. *Korea Soybean Digest* 13: 29-43.
- Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. 2002. Quality characteristics of the Chungkook-jang fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 204-210.
- Kim YS, Jung HJ, Park YS, Yu TS. 2003. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 chungkukjang. *J Korean Food Sci Technol* 35: 475-478.
- Suh JS, Lee SG, Ryu MK. 1982. Effect of *Bacillus* strains on the Chungkook-jang processing. *J Korean Food Sci Technol* 14: 309-314.
- Yoo CK, Seo WS, Lee CS, Kang SM. 1998. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from Chung guk jang. *J Korean Appl Microbiol Bioeng* 26: 507-514.
- Shon MY, Kim MH, Park SK, Park JR, Sung NJ. 2002. Taste components and palatability of black bean Chungkuk-jang added with kiwi and radish. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 39-44.
- Hibasami H, Komiya T, Achiwa Y, Ohnishi K, Kojima T, Nakanishi K, Hara Y. 1998. Induction of apoptosis in human stomach cancer cells by green tea catechins. *Oncol Rep* 5: 527-529.
- Liao S, Umekita Y, Guo J, Kokontis JM, Hiipakka RA. 1995. Growth inhibition and regression of human prostate and breast tumors in athymic mice by tea epigallocatechin gallate. *Cancer Lett* 96: 239-243.
- Yukihiko H, Tadashi I. 1989. Antibacterial activities of tea polyphenols against foodborne pathogenic bacteria. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36: 996-999.
- Okubo S, Sasaki T, Hara Y, Mori F, Shimamura T. 1998. Bactericidal and antitoxin activities of catechin on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Kansenshogaku Zasshi* 72: 211-217.
- Abe Y, Umemura S, Sugimoto K, Hirawa N, Kato Y, Yokoyama T, Iwai J, Ishii M. 1995. Effect of green tea rich in gamma-aminobutyric acid on blood pressure of Dahl salt-sensitive rats. *Am J Hypertens* 8: 74-79.
- Sagesaka-Mitane Y, Sugiura T, Miwa Y, Yamaguchi K. 1996. Effect of tea leaf saponin on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Yakugaku Zasshi* 116: 388-395.
- Francis FJ. 1989. Food colorants anthocyanins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28: 273-314.
- Mazza G, Miniati E. 1993. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. p 29-40.
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Chung MG, Moon GS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *J Korean Food Sci Technol* 37: 73-77.
- Shin HS. 1983. 식품분석 이론과 실제. 신광출판사, 서울. p 91.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
- Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *J Biosci Biotech Biochem* 61: 118-123.

(2008년 1월 17일 접수; 2008년 3월 19일 채택)