

## 두아 청국장의 이화학적 특성

박석규<sup>1</sup> · 유차열 · 이상원\*

진주산업대학교 미생물공학과, <sup>1</sup>순천대학교 식품영양학과

Received May 26, 2009 / Accepted July 23, 2009

**Physico-chemical Characteristics of Dua-Chungkukjang.** Seok-Kyu Park<sup>1</sup>, Cha-Yeol Ryu and Sang-Won Lee\*. Dept. of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea, <sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea - Unlike the traditional preparation method for Chungkukjang, we prepared Dua-Chungkukjang with soybean fermented at 40°C after the soaking, germination and steaming process, and we studied the physico-chemical characteristics of Dua-Chungkukjang. Reducing sugar content in both traditional Chungkukjang and Dua-Chungkukjang increased sharply after 10 hr of fermentation, but it decreased slightly after that. Total nitrogen content in both traditional Chungkukjang and Dua-Chungkukjang increased slowly as fermentation took place. Total nitrogen content reached 3,500 mg% and 3,700 mg%, and soluble nitrogen compound reached 750 mg% and 1,800 mg% after 40 hr of fermentation, respectively.  $\beta$ -Glucosidase activity increased continuously as fermentation took place, and it reached 193, 223, 235 and 248 units in Dua-Chungkukjang while it reached 125, 178, 205 and 214 units in traditional Chungkukjang after 10 hr, 20 hr, 30 hr and 40 hr of fermentation. This means that  $\beta$ -Glucosidase activity in Dua-Chungkukjang was 1.2~1.5 times higher than that in the control treatment, traditional Chungkukjang. Total isoflavone content was 101.44  $\mu\text{g/g}$  and 365.92  $\mu\text{g/g}$  for 10 hr of fermentation, and 225.98  $\mu\text{g/g}$  and 441.37  $\mu\text{g/g}$  for 40 hr in traditional Chungkukjang and Dua-Chungkukjang, respectively. Isoflavone content of Dua-Chungkukjang was 2~3.5 times higher than that of traditional Chungkukjang. Anthocyanin content also increased continuously as fermentation took place, and it reached 5.0  $\text{mg/g}$  and 6.9  $\text{mg/g}$  in traditional Chungkukjang and Dua-Chungkukjang after 40 hr of fermentation, respectively.

**Key words :** Chungkukjang,  $\beta$ -glucosidase, isoflavone, anthocyanin

## 서 론

우리나라의 전통 콩 발효식품 중의 하나인 청국장은 간장, 된장, 고추장과는 달리 전통장류 중 유일하게 소금을 첨가하지 않고 고온에서 속성으로 발효시킨 식품이기 때문에 콩을 수화한 뒤 늦가을부터 초봄 사이에 각 가정에서 손쉽게 제조하여 소금이나 마늘, 고춧가루 등을 섞어 절구통으로 찧어 단지에 다져 넣어 보관하면서 찌개의 재료로 사용하여 왔다. 그러나 그 제조방법은 정형화 된 것이 없고 경험에 의해서 전래된 방법대로 깨끗한 벗장을 사용하여 삶은 콩을 따뜻한 아랫목에서 띄워서 제조하여[16] 왔으나 최근에는 콩 발효식품이 소비자들에게 건강식품으로 인식되면서 발효실 등을 이용한 대량의 상업적 제조도 이루어지고 있다[8]. 이와 같은 청국장은 된장보다 단백질과 지방이 많으나 소화흡수율은 오히려 높으며, 칼슘과 비타민 A, B의 중요한 공급원, 청국장균의 징장효과, 섬유질의 변비예방효과, 발암물질과 콜레스테롤의 체외 배출효과, 점질물(mucin)의 알코올 흡수에 의한

해장효과 등이 우수한 것으로 밝혀져 있다[6,14].

본 연구자들은 청국장을 제조할 때 콩이 가지고 있는 여러 가지 특성 등을 보다 효율적으로 이용하기 위하여 일반 청국장 제조법을 약간 변형한 두아청국장의 제조방법을 확립하기 위하여 전보[18]에서 원료 콩의 발아조건 및 발아한 콩의 이화학적 특성 등을 검토 보고하였다. 일반청국장은 콩을 냉수에 수침시켜 증자한 후 발효시키지만 두아청국장은 수침한 콩을 균일하게 발아시킨 다음 증자하여 발효를 행한 청국장이다. 이 두아청국장은 콩을 발아시킴에 따라 대두 종의 일반성분 및 효소활성 등을 발아시키지 않은 대조구에 비하여 약간 감소하거나 거의 변화가 없었지만 isoflavone 함량은 짹의 길이가 20 mm 정도 성장하였을 때 대조구보다 약 2배 이상 높게 나타났다. 또한 이와 같이 20 mm 정도 발아시킨 콩으로 제조한 두아청국장의 기호도를 평가한 결과 청국장의 색깔 및 점질물 생성은 전통청국장과 거의 차이가 없었지만 청국장 고유의 불쾌 쥐는 오히려 두아청국장에서 적게 발생하는 것으로 나타났다[18]. 본 연구에서는 제조한 두아청국장의 여러 가지 특성을 밝히기 위하여 이화학적 성질, 효소활성, isoflavone 및 anthocyanin 함량 등을 검토하여 보고한다.

\*Corresponding author

Tel : +82-55-751-3394, Fax : +82-55-751-3399

E-mail : swlee@jinju.ac.kr

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 연구에서 사용한 콩은 2006년 가을에 수확한 서목태를 사용하였다. 이를 품종은 경상대학교 자원식물환경학부 유전 육종연구실에서 작물유전체 기능연구 및 바이오그린 사업연구비의 협조를 얻어 유전자 조작이 아닌 전통적인 유전·육종기술을 이용하여 육종된 콩 품종의 일부를 분양받아 사용하였다.

### 청국장의 제조

두아청국장의 제조는 콩을 선별, 세정 및 수침한 다음 밟아 시켜 쪽의 길이가 20 mm 정도 균일하게 성장하였을 때 121°C에서 30 분 동안 증자하여 40°C의 항온실에서 발효를 행하였다. 대조구인 전통청국장은 냉수에 콩을 12 시간 수침시킨 후 물빼기를 하고 stainless steel에 담아 두아청국장 제조과정과 동일하게 발효시켰다.

### 환원당

동결건조한 각 청국장 시료 10 g 씩을 250 ml 삼각플라스크에 넣고 중류수 90 ml을 첨가하여 2 시간 동안 교반한 다음 원심분리(8,000×g, 10 min)하여 얻은 상등액 1 ml를 취하여 DNS법[17]으로 환원당 함량을 측정하였다.

### 질소함량의 정량

총질소는 micro Kjeldahl법[3]으로 측정하였으며, 수용성 질소함량은 청국장 5 g 중류수 200 ml, 실리콘 소포제 1방울을 첨가하고 3 분간 마쇄한 다음 250 ml로 정량한 후 3,000 rpm으로 30 분간 원심분리하여 얻은 상등액 25 ml를 취하여 micro Kjeldahl법[3]으로 측정하였다. 아미노태 질소함량은 청국장 시료 2 g을 취하여 기준미증분석법에 준하여 측정하였다[7].

### 효소활성

Protease 활성은 Anson 등[2]의 방법에 준하여 측정하였으며, protease 1 unit는 조효소액 1 ml가 1 분간 1 µg의 tyrosine 을 생성하는 효소의 양으로 나타내었다. β-Glucosidase 활성은 Peralta 등[19]의 방법을 변형하여 조효소액을 50°C에서 5 분간 미리 활성화시켜 사용하였다. 5 mM p-nitrophenyl-β-D-glucopyranoside (sigma chemical Co., U.S.A)를 함유한 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.0) 0.5 ml에 조효소액 0.2 ml를 가하여 50°C에서 10 분간 반응시킨 후 1 ml의 sodium tetraborate 포화용액으로 반응을 중지시켜 유리되는 p-nitrophenol의 양을 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소 활성 1 unit는 1 분 동안에 p-nitrophenol 1 µmole을 생성하는 효소의 양으로 정의하였다. Glucoamylase 활성은 시험판에 0.05 M acetate buffer (pH 4.8)에 1% 가용성전분을 녹인 기질 용액 5 ml와 조효소액 1 ml을 첨가 한 후 30°C에서 30 분간

반응 시키고 그 반응액 1 ml을 취하여 환원당량을 DNS법[17]으로 측정하였다. 효소활성 1 unit는 1 분 동안에 1 µmole의 glucose를 생산하는 효소량으로 나타내었다.

### Isoflavone 분석

Isoflavone 분석은 동결건조하여 분쇄한 시료 1 g에 0.1 N HCl 2 ml와 acetonitril (HPLC grade, 99.9%) 10 ml를 첨가한 다음 실온에서 2 시간 교반한 후 여과지(No. 4)로 여과하여 그 여과액을 30°C 이하에서 진공농축 시켜 80% methanol (HPLC grade, 99.9%) 10 ml에 용해시킨 다음 0.45 µm membrane filter로 다시 여과하여 HPLC의 분석시료로 사용하였다. Isoflavone isomer 분석을 위한 HPLC (LC-10AD, Liquid Chromatograph)의 칼럼은 YMC-pack ODS-AM-303 (5 µm, 25 cm × 4.6 mm i.d.)을 사용하였고, UV/VIS Detector 유속은 solvent 1 ml/min으로 하였다. 파장은 254 nm에서 3차 중류수의 0.1% glacial acetic acid를 용매로 하여 0.1% glacial acetic acid / acetonitrile linear을 이동상으로 하여 linear gradient법으로 분석하였다. Isoflavone의 표준품은 일본 후지코 주식회사에서 구입하여 사용하였다[12].

### Anthocyanin 함량 측정

Anthocyanin 성분은 동결건조하여 분쇄한 각 청국장 시료 2 g을 추출용액(Ethanol : Water : HCl = 85 : 13 : 2) 40 ml에 혼합하여 암실에서 24시간 교반하여 추출한 다음 그 추출용액을 원심분리(4,500×g, 30 min)하여 100 ml로 정용한 후 660 nm에서 optical density (O.D.)를 측정하여 cyanidin-3-glucoside 함량으로 나타내었다[4,5,9].

## 결과 및 고찰

### 환원당

발효시간에 따라 각 청국장 중의 환원당 함량을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 대조구인 전통청국장 및 두아청국장 모

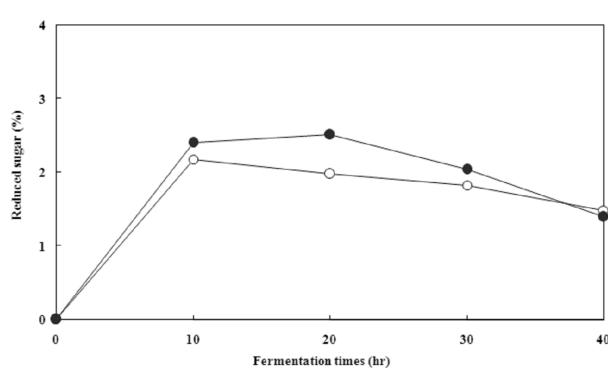


Fig. 1. Reduced sugar contents of a variety of *Chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

두 발효 10 시간째까지는 환원당의 함량이 급격하게 증가하였으나 그 이후부터 정도의 차이는 있지만 약간 감소하는 경향을 나타내어 발효 40 시간째에 약 1.4~1.5%의 비슷한 환원당 함량을 나타내었다. 이와 같은 결과는 청국장의 발효가 왕성하게 시작되면서 발효초기에는 청국장 중에 환원당을 축적하지만 발효후기에는 발효균주가 환원당을 소비하기 때문인 것으로 추측된다. 손 등[21]은 여러 종류의 발효균주를 첨가하여 청국장을 제조할 때 발효 24 시간째까지 환원당의 함량이 지속적으로 증가하는 것으로 보고하였고, 김 등[10]은 발효 48 시간째에 최대의 환원당 함량을 나타내었다가 그 이후로는 감소하는 경향을 보였다는 결과와 유사한 패턴을 나타내었다.

#### 총질소 및 수용성질소 함량

청국장의 발효과정 중 총 질소함량 및 수용성질소함량을 측정하여 Fig. 2과 Fig. 3에 나타내었다. 총 질소함량은 발효시간이 경과함에 따라 전통청국장 및 두아청국장 모두 약간씩 증가하는 현상을 보여 발효 40 시간째에 각각 약 3,500 mg%과 3,700 mg%를 나타내어 두아청국장에서 약간 높은 함량을 나

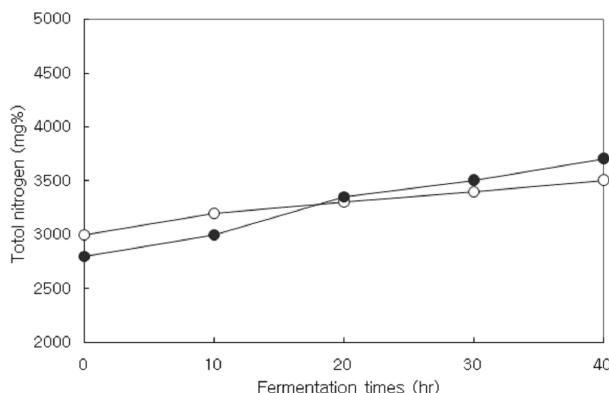


Fig. 2. Total nitrogen contents of a variety of *Chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

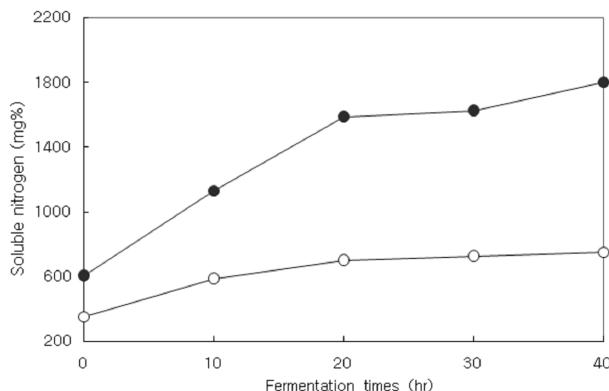


Fig. 3. Soluble nitrogen contents of a variety of *Chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

타내었다(Fig. 2). 수용성 질소함량은 발효시간이 경과함에 따라 대조구인 전통청국장에서는 서서히 증가하는 현상을 보였으나 두아청국장에서는 발효 20 시간째까지 급격하게 증가하고 그 이후로는 서서히 증가하여 발효 40 시간째에 각각 750 mg%와 1,800 mg%를 나타내어 두아청국장에서 약 2.5배 정도 높게 나타났다(Fig. 3).

#### 아미노태 질소

대두단백질이 발효미생물에 의해 분해되어 청국장의 구수한 맛을 내는 아미노산 성분인 아미노태 질소함량을 검토하여 Fig. 4에 나타내었다. 전통청국장 및 두아청국장 모두 발효가 진행되면서 아미노태 질소 함량이 급격하게 증가하여 발효 10 시간째에 그 함량이 각각 240 mg% 및 250 mg%를 나타내었지만 그 이후로는 아주 완만하게 증가하여 발효 40 시간째에 342 mg% 및 345 mg%를 나타내어 2종류의 청국장 모두 아주 유사한 아미노태 질소 생성패턴과 함량을 나타내었다. 본 연구의 결과는 김 등[13]이 작두콩을 30% 첨가하여 제조한 청국장의 발효 40 시간째에 아미노태질소 함량이 297.5 mg%로 보고한 것 보다는 약간 높았으며, Joo [8]가 시판 청국장의 아미노태 질소함량이 121.1~642.1 mg%로 보고한 내용과는 유사하였다.

#### 청국장의 효소활성

두아 청국장의 발효 시간이 청국장 중의 효소활성에 미치는 영향을 검토하여 Fig. 5와 6에 나타내었다. Protease 활성은 발효 10 시간째 까지 급격하게 증가하여 전통청국장에서는 40.39 unit, 두아청국장에서는 42.35 unit를 나타내었으나 그 이후로는 거의 일정한 효소활성을 보였다. Ahn [1] 등은 전통 청국장으로부터 protease 분비능이 우수한 *Bacillus* sp. 균주를 분리 동정하여 청국장의 제조에 사용한 결과 발효 72 시간째에 97~201.9 unit의 높은 protease 활성을 얻었다고 보고하였다. Glucoamylase 활성은 발효가 진행됨에 따라 아주 완만하게 증가하여 발효 40 시간째에 전통청국장에서는 0.46 unit,

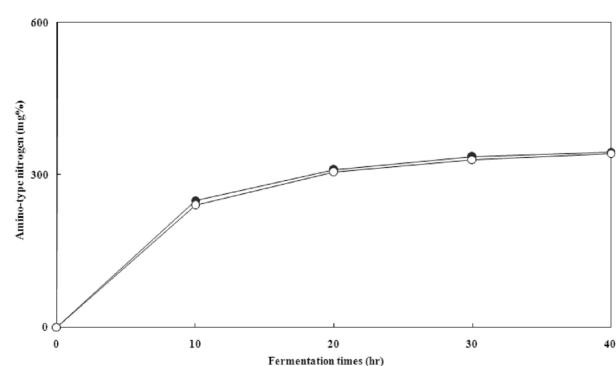


Fig. 4. Amino-type nitrogen contents of a variety of *Chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

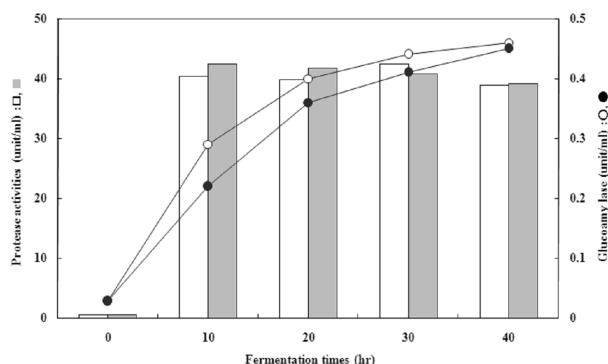


Fig. 5. Protease and glucoamylase activities of a variety of *chungkukjang* by fermentation times. ○, □: Traditional *chungkukjang*, ●, ■: *Dua-chungkukjang*

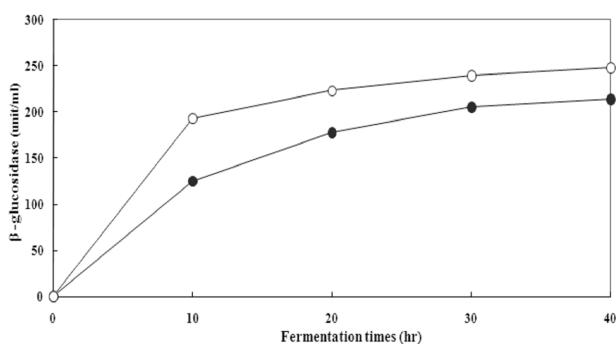


Fig. 6.  $\beta$ -Glucosidase activities of a variety of *chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

두아청국장에서는 0.45 unit의 아주 대등한 활성을 나타내었다(Fig. 5).  $\beta$ -Glucosidase는 콩에 비활성 형태로 다량 존재하는 isoflavone을 활성형인 aglycone의 형태로 전환하는 역할을 하

는 것으로 보고 되어져 있다[15]. 발효시간이 전통청국장 및 두아청국장의  $\beta$ -glucosidase 활성에 미치는 영향을 검토하여 Fig. 6에 나타내었다. 발효가 진행됨에 따라  $\beta$ -glucosidase 활성은 지속적으로 증가하여 대조구인 전통청국장은 발효 10, 20, 30 및 40 시간째에 각각 효소활성이 125, 178, 205 및 214 units를 나타내었으나 두아청국장은 193, 223, 235 및 248 units를 나타내어 대조구에 비하여 1.2~1.5배 정도 높은 것으로 나타났다.

전보[18]의 결과와 비교하면 원료 콩에서는  $\beta$ -glucosidase의 활성은 0.14 unit 정도로 매우 낮은 활성을 보였으나 두아청국장에서는 발효 40 시간째에 248 unit를 나타내어 약 1,700배 이상의 높은 활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 청국장의 발효과정에서 발효미생물의 작용인 것으로 생각되어진다. Ra [20] 등은 된장 중의  $\beta$ -glucosidase의 활성을 측정한 결과 457.1 unit에서 1,995 unit의 활성을 보여 본 연구의 실험과 상이한 결과를 보였다.

### 두아청국장의 Isoflavone 함량

발효시간에 따라 각 청국장의 isoflavone 함량을 측정하여 Table 1에 나타내었다. 대조구인 전통청국장은 발효 10 시간째에 malonylglycinin을 중심으로 daidzien과 genistein 등의 4종류의 성분이 검출되어 총 isoflavone 함량은 101.44  $\mu\text{g/g}$ 으로 나타났으나 발효가 진행됨에 따라 glycinein 및 daidzin을 비롯한 여러 종류의 다른 성분들이 생성되어 발효 40 시간째에 441.37  $\mu\text{g/g}$ 이 검출되어 약 2배 이상 증가한 것으로 나타났다. 그러나 두아청국장에서는 발효 10 시간째에 malonylglycinin, glycinein 및 daidzien 등의 성분이 급격하게 증가하여 총 isoflavone 함량이 365.92  $\mu\text{g/g}$ 을 검출되었으며, 발효 20 시간째에는 462.21  $\mu\text{g/g}$ 이 검출되어 가장 높은 isoflavone 함량을

Table 1. Isoflavone contents of Traditional *chungkukjang* and *Dua-chungkukjang* by fermentation times

Items	Contents of isoflavone ( $\mu\text{g/g}$ , dry basis)							
	10 hr		20 hr		30 hr		40 hr	
	A <sup>1)</sup>	B <sup>2)</sup>	A	B	A	B	A	B
Daidzien	4.25	21.45	12.86	36.35	32.71	39.78	35.07	41.92
Genistein	2.92	2.82	2.08	1.90	1.04	2.31	1.02	2.06
Glycitein	- <sup>3)</sup>	45.17	-	116.09	94.58	140.25	107.55	131.98
Daidzin	-	1.15	-	17.87	0.37	23.22	0.50	31.51
Genistin	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycitin	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetyl daidzin	-	-	-	-	4.96	-	11.70	-
Acetylgenistin	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetylglycitin	1.07	0.70	2.92	5.40	5.78	5.31	5.28	5.50
Malonyldaidzin	-	10.35	27.29	21.25	6.39	17.22	16.21	15.01
Malonylgenistin	-	-	-	-	TR <sup>4)</sup>	TR	0.12	TR
Malonylglycitin	93.20	284.28	95.36	263.35	52.02	231.08	48.53	213.39
Total	101.44	365.92	140.51	462.21	197.85	459.17	225.98	441.37

<sup>1)</sup>A: Traditional *chungkukjang*, <sup>2)</sup>B: *Dua-chungkukjang*, <sup>3)</sup>: not detected, TR<sup>4)</sup>: trace

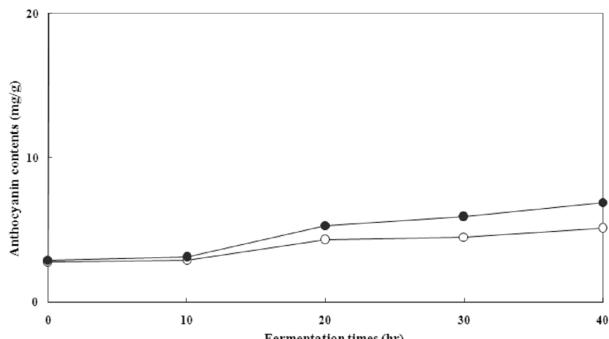


Fig. 7. Anthocyanin contents of a variety of *chungkukjang* by fermentation times. ○: Traditional *chungkukjang*, ●: *Dua-chungkukjang*

나타내었으나 그 이후로는 약간 감소하여 발효 40 시간째에 441.37 μg/g을 나타내었다. 콩을 발아시켜 제조한 두아청국장의 isoflavone 함량은 대조구인 전통청국장 보다 발효 10 시간째에는 3.5배 이상, 발효 40 시간째에는 약 2배 정도의 높은 것으로 나타내었다. 김 등[11]은 대두 및 대두가공식품 8 종류의 isoflavone 함량(mg%)을 검토한 결과 생대두분말(489.1) > 대두(398.4) > Natto(308.3) > 두부(247.3) > 두유(138.1) > 분리 대두단백(109.7) > 된장(77.7) > 템페(25.9) 순으로 높게 나타났다고 보고한 내용과 비교할 때 생대두분말 보다는 isoflavone 함량이 약간 낮지만 Natto보다는 훨씬 높은 것으로 나타났다.

### Anthocyanin의 함량

전통청국장과 두아청국장의 발효시간별 anthocyanin의 함량을 측정하여 Fig. 7에 나타내었다. 발효가 진행되기 전의 anthocyanin 함량은 약 3.0 mg/g정도로 비슷한 함량을 나타내었으나 발효가 진행됨에 따라 그 함량이 서서히 증가하여 발효 40 시간째에 대조구인 전통청국장에서는 5.0 mg/g, 두아청국장에서는 6.9 mg/g이 검출되어 두아청국장에서 약간 높은 경향을 나타내었다. 손 등[21]은 검정콩으로 청국장을 제조하였을 때 발효초기에는 anthocyanin의 함량이 5.26~9.32 mg% 이었으나 발효 3 일 후에는 4.72~8.78 mg%로 미량 감소하는 것으로 보고하였고, 또한 청국장 제조 시 부재료 및 균주를 침가하였을 때는 그 함량이 더 적게 나타나는 것으로 보고하였다.

### 요약

종래의 전통청국장 제조방법과는 달리 원료 콩을 수침하여 균일하게 발아시켜 증자한 다음, 40°C에서 발효를 행한 두아청국장의 이화학적 성분 등을 검토하였다. 환원당 함량은 전통청국장 및 두아청국장 모두 발효 10 시간째까지는 급격하게 증가하였으나 그 이후부터 약간 감소하였다. 총 질소함량은 전통청국장 및 두아청국장 모두 서서히 증가하여 발효 40 시

간째에 각각 약 3,500 mg%과 3,700 mg%를 나타내었으며, 수용성 질소함량은 750 mg%와 1,800 mg%를 나타내었다. 그리고 아미노태질소 함량은 발효 10 시간 이후로는 아주 완만하게 증가하여 발효 40 시간째에 345 mg% 및 342 mg%를 나타내었다.  $\beta$ -glucosidase 활성은 전통청국장에서 발효 10, 20, 30 및 40 시간째에 각각 125, 178, 205 및 214 units를 나타내었으나 두아청국장은 193, 223, 235 및 248 units를 나타내어 대조구에 비하여 1.2~1.5배 정도 높은 것으로 나타났다. 전통청국장 및 두아청국장의 총 isoflavone 함량은 발효 10 시간째에 각각 101.44 μg/g 및 365.92 μg/g, 40 시간째에는 225.98 μg/g 및 441.37 μg/g이 검출되어 두아청국장의 isoflavone 함량이 전통청국장 보다 3.5배~약 2배 높은 것으로 나타났다. Anthocyanin 함량은 발효 40 시간째에 대조구인 전통청국장에서는 5.0 mg/g, 두아청국장에서는 6.9 mg/g이 검출되었다.

### 감사의 글

본 연구는 2007년도 농림기술개발사업의 연구비지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

### References

- Ahn, Y. S., Y. S. Kim, and D. H. Shin. 2006. Isolation, identification and fermentation characteristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional *cheongukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 82-87.
- Anson, M. L. 1939. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **22**, 79-85.
- A.O.A.C. 1990. *Official methods of analysis*. pp. 32-33, 15th eds., Association of official analytical chemists, Washington D.C. U.S.A.
- Chung, K. W., Y. H. Joo, and D. J. Lee. 2004. Content and color difference of anthocyanin by different storage periods on seed coats of black soybean [*Glycine max (L.) Merr.*]. *Korean J. Intl. Agri.* **16**, 196-199.
- Chung, K. W., Y. H. Joo, and D. J. Lee. 2004. Content and color difference of anthocyanin by different planting dates and growth stages in seed coats of black soybean [*Glycine max (L.) Merr.*]. *Korean J. Intl. Agri.* **16**, 200-204.
- Hong, S. P., J. S. Kime, C. M. Jang, S. M. Ryu, J. S. Choi, and H. J. Park. 1998. Physicochemical properties of traditional chungkukjang produced in different regions. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **41**, 423-430.
- Institute of Miso Technologists. 1968. *Official methods of Miso analysis*, pp. 1-34, Institute of Miso Technologists, Tokyo, Japan.
- Joo, H. K. 1996. Studies on chemical composition of commercial *Chungkukjang* and flavor compounds of *Chungkukjang* by mugwort(*Artemisia asiatica*) or red prpper seed oil. *Korea Soybean Society* **13**, 44-56.
- Joo, Y. H., K. W. Chung, and D. J. Lee. 2004. Content and

- color difference of anthocyanin by different seed size and cotyledon colors in black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Korean J. Intl. Agri.* **16**, 249-252.
10. Kim, B. N., C. H. Park, B. M. Yun, M. C. Jung, and S. Y. Lee. 1995. Changes of Saccharides and amino acid in Natto added with spice during fermentation. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 114-120.
  11. Kim, C. H., J. S. Park, H. S. Sohn, and C. W. Chung. 2002. Determination of isoflavone, total saponin, dietary fiber, soy oligosaccharides and lecithins from commercial soy products based on the one serving size. -Some bioactive compounds from commercialized soy products-. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 96-102.
  12. Kim, E. M., K. J. Lee, and K. M. Chee. 2004. Comparison on isoflavone contents between soybean and soybean sprouts of various soybean cultivars. *Kor. Nutrition Society* **37**, 45-51.
  13. Kim, S. S., K. T. Kim, and H. D. Hong. 2001. Development of *Chunggukjang* adding the sword beans. *Korea soybean society* **18**, 33-50.
  14. Kim, S. S., K. T. Kim, and H. D. Hong. 2001. Development of *Chunggukjang* adding the sword beans. *Korea Food Research Institute* **18**, 208-214.
  15. Ko, H. S., D. H. Sho, S. Y. Hwang, and Y. M. kim. 1999. The effect of quality improvement by *chungkuk-jang's* processing methods. *Korean J. Food & Nutr.* **12**, 1-6.
  16. Lee, C. Y. 1989. Korean soy seasongings and culture. *Food Science and Industry* **22**, 3-7.
  17. Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**, 426-432.
  18. Park, S. K., C. Y. Ryu, and S. W. Lee. 2008. Establishment of Preparation Method of *Dua-Chungkukjang*. *Journal of Life Science* **18**, 1758-1763.
  19. Peralta, R. M., M. K. Kadawaki, H. F. Terenzi, and J. A. Jorge. 1997. A highly thermostable  $\beta$ -glucosidase activity from the thermophilic fungus *humicola-grisca* var. *thermopedia*: purification and biochemical characterization. *FEMS Microbiol. Letter* **146**, 291-295.
  20. Ra, K. S., S. H. Oh, J. M. Kim, and H. J. Suh. 2004. Isolation of fibrinolitic enzyme and  $\beta$ -glucosidase producing strains from *Doenjang* and optimum conditions of enzyme production. *J. Korean Soc. Food Sci. Nuri.* **33**, 439-442.
  21. Shon, M. Y. 1999. Physicochemical properties and biological activities of *Chungkuk-jang* produced from Korean black bean. Ph.D. Dissertation, GyeongSang National University. Jinju, Korea.