

Bacillus subtilis-SKm를 스타터로 이용하여 제조한 청국장의 품질 및 기능성 증진 효과

정연비¹ · 정지강¹ · 최혜선² · 박건영^{1*}

¹부산대학교 식품영양학과

²농촌진흥청 국립농업과학원

Increased Quality Characteristics and Physiological Effects of *Chunggukjang* Fermented with *Bacillus subtilis*-SKm

Yanfei Zheng¹, Ji-Kang Jeong¹, Hye-Sun Choi², and Kun-Young Park^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Gyeonggi 441-707, Korea

Abstract

The quality characteristics and physiological effects of *chunggukjang* fermented naturally (NF-c), with *Bacillus subtilis*-SKm (BS-c), with *Bacillus subtilis* HJ18-4 (BH-c), and with *Bacillus subtilis* KCCM 42923 (BK-c) were investigated. The characteristics of fermentation were determined by protease, α -amylase and γ -GTP activities, and additionally the amounts of amino-type and ammonia-type nitrogens. BS-c showed the highest protease, α -amylase, and γ -GTP activities, and also amino-type nitrogen content among the four types of *chunggukjang*. The ammonia-type nitrogen content in BS-c was similar to that of BK-c and NF-c. BH-c showed the lowest enzyme activities and amino-type and ammonia-type nitrogen content. BS-c, BH-c, BK-c, and NF-c showed a similar overall acceptability during sensory evaluation. BS-c also showed the strongest DPPH free radical scavenging and anti-proliferative activities in HT-29 human colon carcinoma cells. These results suggested that *B. subtilis*-SKm was suitable to be used as a starter to enhance the quality and effects of *chunggukjang*.

Key words: increased quality, *chunggukjang*, *Bacillus subtilis*-SKm

서 론

청국장은 재래적인 방법으로 벗짚 유래의 고초균인 *Bacillus subtilis*를 이용하거나 삶은 콩에 *Bacillus*속 미생물을 접종하여 40~42°C에서 2~3일간 발효숙성한 한국의 전통발효식품으로 단백질, 필수아미노산 및 지방산, 비타민 B₁, B₂, 나이아신, 판토텐산 등이 풍부한 식물성 고영양 식품이다(1). 청국장은 발효과정 중에 고초균이 생산하는 효소에 의해서 구수한 맛과 냄새를 내는 동시에 원료대두의 당질과 단백질에서 유래된 levan form fructan(레반형 프럭탄)과 polyglutamate의 중합물질인 끈적끈적한 점질물을 생성한다(2). 또한 발효과정 중에 효소의 작용으로 섬유소 및 세포 내의 당질, 단백질이 분해되어 소화율의 향상과 변비개선효과가 있고 콜레스테롤 저하, 고혈압방지효과, 항산화효과, 항균효과, 항암효과와 혈전용해활성 등 기능성에 관련된 연구가 많이 발표되었다(3-6).

1970년대 초반부터 청국장의 제조방법 및 성분 등에 관한

연구가 많이 진행되어 왔으며, 최근 청국장 품질변화, 풍미 및 기호성, 점질물질, 영양성분, 고기능성 건강 발효식품 및 청국장 스타터를 이용한 제조연구 등이 보고되었다(7-10). 또한 청국장의 불쾌취 감소를 위한 방법이 연구되고 있으며 발효방법을 달리한 기호성 개선 연구와 스타터를 이용한 향미개선 연구 등이 이루어지고 있다. 생리활성 및 기능성에 관한 연구는 혈전용해활성이 우수한 *Bacillus*속 미생물 스타터를 이용한 청국장의 발효특성 연구 및 *Bacillus natto*와 *Bacillus licheniformis*의 혼합 스타터로 제조된 청국장의 품질 특성의 연구 등이 보고되고 있는데, 스타터에 따라 청국장의 발효특성 및 기능성에 차이를 보인다(11).

따라서 본 연구에서는 고품질 청국장을 제조하기 위해 여러 가지 콩 발효식품 유래의 *Bacillus subtilis* 미생물을 스타터로 이용하여 청국장을 제조하고, 이들의 발효특성 및 기능성을 자연발효 청국장과 비교, 관찰함으로써 우수한 균주로 제조된 청국장의 발효특성 및 건강 기능성 증진효과를 검토하였다.

*Corresponding author. E-mail: kunypark@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2839, Fax: 82-51-514-3138

재료 및 방법

사용 균주 및 배양

스타터로 사용된 *Bacillus subtilis*-SKm(KFCC11520P)는 전라북도 순창지역의 전통 메주에서 분리하여 동정한 후 본 실험에 사용하였다. *Bacillus subtilis* HJ18-4는 전통 별미장 가운데 한 종류인 생황장에서 분리, 동정된 것으로 농촌진흥청에서 분양받아 사용하였다. *Bacillus subtilis* KCCM 42923는 선행연구에 의해 전라북도 순창지역의 청국장에서 분리, 동정된 것으로 본 실험에 사용하였다(5).

각 균주는 nutrient broth(Difco Co., Detroit, MI, USA)에 접종하여 40°C에서 24~48시간 배양한 후 10⁶ cfu/g이 되게 희석하여 사용하였다.

청국장의 제조

대두는 충북 괴산군 장연면에서 2011년 생산된 백태를 구입하여 사용하였다. 대두를 정선 및 수세하여 1.5배의 물(15°C)에 12시간 침지한 후 autoclave(HB-506, HAN BACK Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 121°C에서 30분 동안 증가하여 50°C로 냉각하였다. 여기에 10⁶ cfu/g 되게 희석한 각 균주 배양액을 접종하여 40°C에서 72시간 발효시켜 청국장을 제조하였다(12). 이때 스타터를 사용한 청국장과의 비교를 위하여 자연 발효하여 제조한 청국장을 사용하였다.

pH 및 산도

시료를 증류수로 희석하여 pH meter(TP-93, Toko Chemical Laboratories, Tokyo, Japan)로 실온에서 측정하였다. 산도는 AOAC 표준시험법에 따라 20배 희석한 시료를 20 mL 취하여 pH 8.4가 될 때까지 0.1 N NaOH로 적정하고, 이때 소요되는 0.1 N NaOH의 양으로 나타내었다(13).

호기성 미생물수 측정

시료를 단계별로 희석한 후 plate count agar 배지(Difco Co.)에 100 µL씩 분주하여 도말한 후 30°C에서 48시간 배양한 다음 나타난 colony를 계수하여 나타내었다.

아미노태 및 암모니아태 질소 함량 측정

아미노태는 시료를 10배 희석하여 formalin법으로 측정하였다. 즉, 시료액 20 mL에 중성 formalin 용액 20 mL를 가한 다음 pH 8.4가 될 때까지 0.1 N NaOH로 적정하여 소비된 0.1 N NaOH용액의 mL수를 측정하여 아미노태 질소의 함량을 계산하였다(14).

암모니아태는 시료를 40배 희석하여, AM 505-K(Asan Pharmaceutical, Hwasung, Korea)에 의한 Indophenol법으로 측정하였다(13).

γ-Glutamyltranspeptidase(γ-GTP)

시료를 10배 희석하여 조효소액으로 사용하였다. 이것을 아산셋트 γ-GTP(AM158-K, Asan Pharmaceutical)를 이용하여 5-aminolicylic acid법으로 mU/mL 단위로 측정하였

다(12).

효소 활성의 측정

Protease 활성은 0.6% casein을 기질로 하여 생성된 tyrosine을 Folin's법으로 측정하였으며, 효소의 활성은 30°C에서 1분간 생성되는 tyrosine의 µg수로 표시하였다(15). α-Amylase 활성은 1% soluble starch를 기질로 하여 반응액을 요오드 용액으로 발색시키고 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 효소의 활성은 40°C에서 분해된 soluble starch의 mL수로 표시하였다(16).

관능검사

반복된 랜덤화 완전 블록 계획에 따라서 훈련된 11명의 관능요원이 각 청국장을 청국장짜개(물 500 mL, 청국장 50 g, 두부 10 g, 소금 3 g, 무 10 g)로 만들어 평가하게 하고, 이를 2회 반복 실시하였다(17). 평가항목은 주관적인 평가로 색과 종합적인 평가를 1에서 9까지 분류한 등급을 사용하여 평가하였으며, 1에 가까울수록 싫고, 9에 가까울수록 좋은 것으로 나타내었다. 객관적인 평가로는 후각적 지각인 냄새와 미각적 지각인 단맛, 감칠맛, 종합적인 맛을 평가하였으며, 그 정도는 1에 가까울수록 감지 불가능하고, 9에 가까울수록 극도로 강하게 감지하는 것으로 나타내었다. 후각적 지각은 코로 감지되는 것으로 평가하였고, 미각적 지각은 여러 차례 어금니로 씹은 후 입과 코로 감지되는 것으로 평가하였다.

메탄올 추출물의 제조

동결건조한 청국장 시료를 마쇄하고 시료에 20배(w/v)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이들 추출물들은 dimethyl sulfoxide에 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다(12).

항산화 효과 측정

항산화 효과는 Blois 등(18)의 방법을 이용하여 DPPH free radical scavenging 효과를 측정하였다. 시료 100 µL와 150 µm DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)용액 100 µL를 96-well plate에 혼합하여 30분간 실온에 빛이 차단된 상태를 반응시킨 후 515 nm에서 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

암세포 배양 및 MTT assay

실험에 사용된 HT-29 인체 결장암 세포는 한국세포주은행으로부터 분양 받아 배양하면서 실험에 사용하였다. 즉, 암세포를 100 unit/mL의 penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640 medium(GIBCO, Grand Island, NY, USA)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하고, 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2~3회 refeeding하면

서, 6~7일마다 계대 배양하여 실험에 사용하였다. 배양된 암세포는 96 well plate에 well당 2×10^4 cells/mL이 되도록 180 μ L씩 분주하고, 일정 농도로 제조한 시료 20 μ L을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS를 이용하여 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT 용액 20 μ L를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 더 배양한 후, 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader(model 680, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(19).

통계분석

본 연구의 실험 결과는 실험군당 평균(mean)과 표준편차(SD)로 나타내었고, Statistic Analysis System(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 분석(ANOVA)을 시행한 후, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군간 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

스타터를 이용하여 제조한 청국장의 pH, 산도 및 호기성 균수

B. subtilis-SKm, *B. subtilis* HJ18-4, *B. subtilis* KCCM 42923을 스타터로 이용하여 제조한 청국장(BS-c, BH-c, BK-c) 및 자연발효 청국장(NF-c)의 pH, 산도 및 호기성 균수 측정 결과는 Table 1에 나타내었다. pH는 BS-c, BK-c, NF-c가 7.4~7.6의 분포를 보인 반면, BH-c는 5.9로 가장 낮았고, 산도의 경우도 이와 비슷한 경향을 보였다. Suh 등(20)의 보고에 따르면, pH 6.25~6.84인 증자공에 *B. subtilis*를 접종하여 40°C에서 72시간 발효시킨 청국장의 pH는 7.25~8.26의 범위로 알칼리화 되는 것으로 나타났는데, 이것은 발효 시 생성되는 암모니아 등 때문이라고 할 수 있다. BS-c, BK-c, NF-c는 모두 정상적인 pH를 나타낸 반면, BH-c의 경우는 증자공보다도 낮은 pH를 보였는데, 이는 *B. subtilis*에 의한 정상 발효가 충분히 일어나지 않았기 때문인 것으로 보인다.

청국장에서의 호기성균은 대부분이 *B. subtilis*라고 할 수

Table 1. pH, acidity and aerobic bacteria counts of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter

Samples ¹⁾	pH	Acidity (%)	Total aerobic bacteria count (log cfu/g)
NF-c	7.4±0.01 ^b	0.8±0.00 ^c	10.0±0.02 ^b
BS-c	7.5±0.01 ^b	0.9±0.03 ^b	10.3±0.18 ^{ab}
BH-c	5.9±0.01 ^c	1.5±0.03 ^a	9.7±0.31 ^c
BK-c	7.6±0.02 ^a	0.7±0.01 ^d	10.6±0.22 ^a

¹⁾NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BS-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis*-SKm, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923.

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

있고 호기성 균수는 BS-c, BH-c, BK-c, NF-c에서 10.0 log cfu/g 대로 비슷한 분포를 보였지만, BH-c의 경우는 9.7 log cfu/g로 비교적 낮게 나타났다. BH-c의 경우는 다른 청국장들에 비해 *B. subtilis*가 충분히 성장하지 못하여 상대적으로 낮은 호기성 균수를 나타내는 것으로 보인다.

스타터를 이용하여 제조한 청국장의 아미노태 및 암모니아 질소 함량과 γ -GTP 역가

Fig. 1에는 각 청국장의 아미노태 및 암모니아 질소 함량

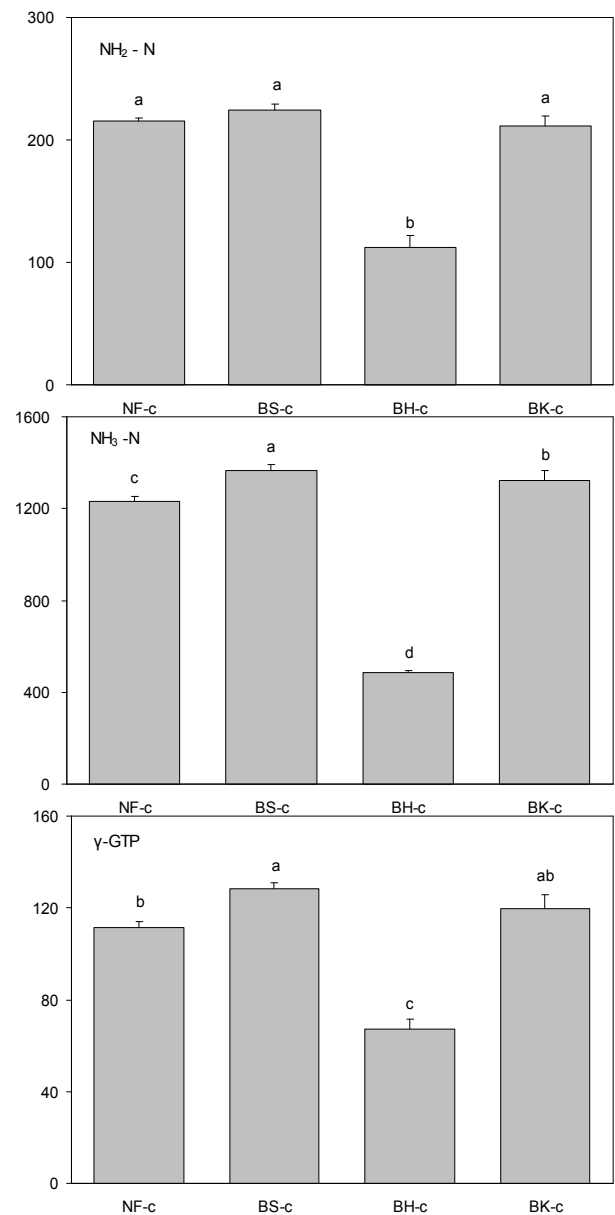


Fig. 1. The content of amino and ammonia type nitrogens and γ -GTP activity of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter. NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BS-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis*-SKm, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923. ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

과 γ -GTP 역가를 나타내었다. 아미노태 질소 함량은 단백질이 아미노산 형태로 분해된 정도를 나타내며, 청국장의 구수한 맛과 관련된 지표라고 할 수 있다. 아미노태 질소 함량은 BS-c에서 224 mg%로 4종의 청국장 중 가장 높게 나타났으며, BH-c가 112 mg%로 가장 낮았다. 본 연구에 사용된 청국장들의 아미노태 질소 함량은 식품공전 상의 청국장의 아미노태 질소 함량(280 mg%)에는 다소 미치지 못하는 것으로 나타났다. 그러나 모든 시료에서 전체적으로 아미노태 함량이 낮은 것과 다른 발효 지표들의 수치에 이상이 없는 것으로 볼 때, 이것은 스타터에서 기인한 것이라기보다는 발효환경 등에 의한 영향인 것으로 생각되어진다.

암모니아태 질소 함량 역시 BS-c, BK-c, NF-c에서는 1232~1367 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 의 분포로 비슷하게 나타났는데 비해, BH-c는 486 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 로 가장 낮았다. 암모니아태 질소는 단백질 분해과정에서 탈아미노화 반응에 의하여 생성되며, 이것이 식품 내에 과량 축적되면 불쾌취가 나타나지만, 발효정도를 나타내는 지표로 사용되기도 한다(20). BH-c의 경우는, 일반적인 청국장의 암모니아태 함량에 훨씬 못 미치는 양을 나타내어 발효 정도가 일반 청국장에 비해 훨씬 낮음을 알 수 있었다.

청국장 점질물의 구성성분은 fructose와 glutamic acid가 중합된 levan form fructan과 polyglutamate(PGA)의 혼합 물질이며, PGA는 γ -GTP에 의해 생성되는 것으로 γ -GTP 역가 역시 청국장의 발효 정도를 나타내는 지표라고 할 수 있다(12). γ -GTP 역가는 BS-c, BH-c, BK-c, NF-c에서 각각 128 mU/mL, 67 mU/mL, 120 mU/mL, 111 mU/mL로 나타나 이 또한 BS-c에서 가장 높고, BH-c에서 가장 낮았다.

장류의 발효 정도 및 품질의 지표로 사용되는 아미노태 및 암모니아태 질소 함량과 γ -GTP의 역가의 결과를 관찰한 결과, 세 가지 지표 모두 BS-c에서 가장 높게 나타나 발효가 잘 이루어졌음을 알 수 있었고, 이것은 NF-c보다 높거나 비슷한 경향을 보였다. BH-c의 경우 모든 지표가 가장 낮게 나타나, 메틸이 주원료인 생활장 유래의 *B. subtilis* HJ18-4

는 콩만을 원료로 사용하는 청국장 발효에는 적합하지 않는 것으로 보인다.

스타터를 이용하여 제조한 청국장의 효소 활성

Protease는 대두 단백질을 분해하여 펩톤, 펩타이드, 아미노산 등을 생성하며, 청국장의 맛을 형성하는데 중요한 역할을 하는 효소인 것으로 알려져 있다(21). Fig. 2에 나타난 바와 같이 protease 활성은 4~31 unit/g 범위를 나타내었으며, BS-c가 31 unit/g로 가장 높았고, BH-c의 경우는 가장 낮은 활성을 보였다. 이러한 protease의 활성 정도의 변화는 앞서 서술하였던 청국장의 아미노태 암모니아 질소 함량과 유사한 경향을 보인다.

α -Amylase는 당분의 감미성분 등에 관여하여 청국장의 품질 면에서 중요한 효소라고 할 수 있다(22). 각 청국장에서 α -amylase 활성은 12~26 unit/g 범위를 나타내었으며, BS-c가 가장 높고 BH-c가 가장 낮은 활성을 보였다.

스타터의 종류에 따라, 발효와 직접적으로 관계가 있는 효소들의 활성에 차이가 있는 것으로 보아 청국장의 품질을 향상시키는 데에는 스타터의 선택이 매우 중요한 것으로 생각되어지며, *B. subtilis*-SKm를 청국장 등의 장류 제조 시 스타터로 사용할 경우, 장류의 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

관능검사

네 가지 종류의 청국장으로 청국장찌개를 만들어 관능평가를 실시한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 색, 냄새, 단맛, 감칠맛, 종합적인 맛, 종합적인 평가의 여섯 가지 항목에서 4종의 청국장은 대체로 비슷한 경향을 나타내었는데, BS-c의 경우 색, 단맛, 종합적인 맛, 종합적인 평가 등 4가지 항목에서 가장 높은 선호도를 나타내었다. 높은 효소 활성 및 발효 정도를 나타내었던 BS-c가 관능적인 면 역시 우수함을 알 수 있었으며, 스타터의 종류가 발효식품의 품질과 생리활성 뿐 아니라 기호적인 측면에도 영향을 미치는 것으로 나타났다.

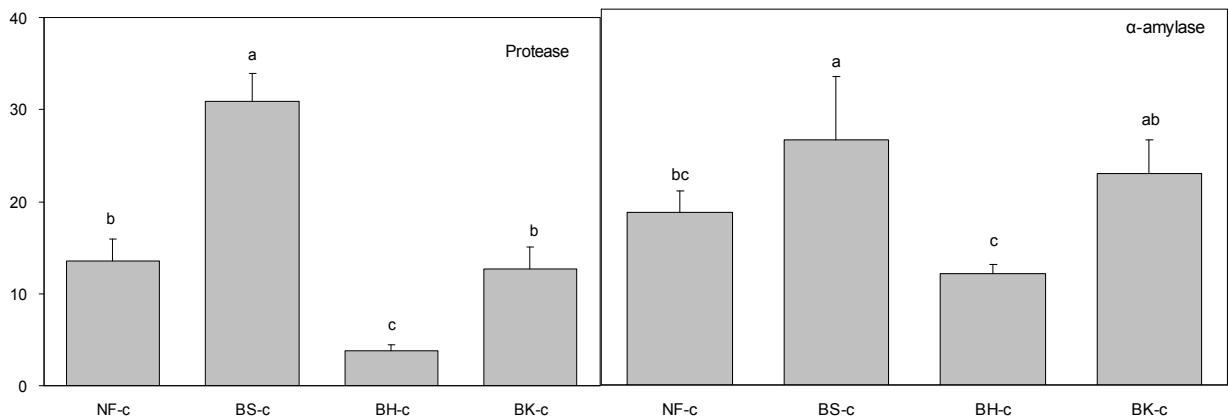


Fig. 2. Enzyme activities of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter. NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BS-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis*-SKm, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923. ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

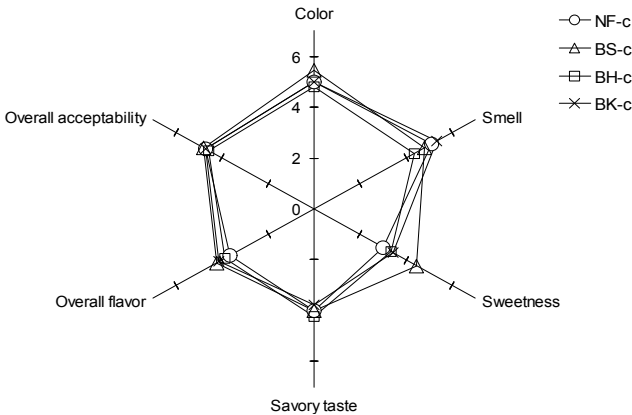


Fig. 3. Sensory evaluation of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter. NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BS-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis*-SKm, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923.

DPPH 소거능을 이용한 항산화 효과

스타터를 이용하여 제조한 각 청국장의 DPPH free radical 소거 효과를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타나 있다. BS-c, BH-c, BK-c, NF-c는 1 mg/mL 농도에서 각각 63%, 44%, 45%, 39%, 2 mg/mL 농도에서 82%, 74%, 69%, 63%의 free radical 소거 효과를 나타내었으며, 스타터를 이용하여 제조한 3종의 청국장 모두 NF-c보다 우수한 free radical 소거 효과를 나타내었고, BS-c가 가장 높은 소거 효과를 보였다 (p<0.05).

콩을 이용하여 제조된 발효식품은 발효과정을 거치면서 콩 속에 함유되어 있는 isoflavone 및 유용성분의 배당체가 당이 떨어진 aglycone 형태로 변화하여 콩 자체보다 높은 생리활성 나타내는 것으로 알려져 있다(23). 따라서 발효 정

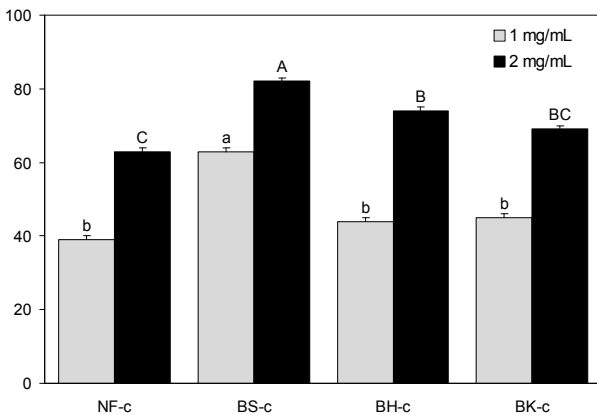


Fig. 4. DPPH free radical scavenging activity of methanol extracts of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter. NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BS-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis*-SKm, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923. a-c, A-C Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

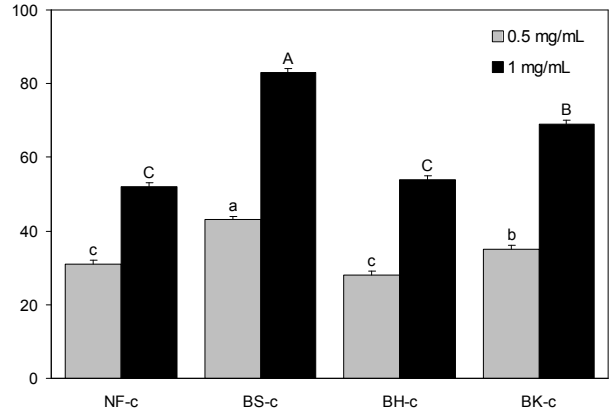


Fig. 5. Inhibitory effect of methanol extracts of *chunggukjang* fermented at 40°C for 72 hours with different kinds of starter on HT-29 human colon carcinoma cells in MTT assay. NF-c: Naturally fermented *chunggukjang*, BH-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* HJ18-4, BK-c: *Chunggukjang* fermented with *B. subtilis* KCCM 42923. a-c, A-C Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

도에 따라 isoflavone의 여러 가지 대사물질들의 함량이 달라지고 생리활성에 차이를 보이게 된다(5). 앞서 기술한 바와 같이, 각 청국장은 스타터 사용 유무 및 사용한 스타터의 종류에 따라 발효 정도에 차이를 보였는데, 이로 인해 대사물질 및 생리활성에 차이를 가져오게 되며, 따라서 DPPH free radical 소거 효과에도 위와 같은 차이를 나타낸다고 생각되어진다.

HT-29 인체 결장암 세포 성장억제 효과

HT-29 인체 결장암 세포를 이용하여 청국장의 암세포 성장억제 효과를 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. BS-c, BH-c, BK-c, NF-c는 0.5 mg/mL에서 각각 43%, 28%, 35%, 31%, 1 mg/mL에서 83%, 54%, 69%, 52%의 암세포 성장억제 효과를 나타내어 free radical 소거 효과와 비슷한 경향을 나타내었으며, 역시 BS-c가 가장 높은 효과를 보였다. 이러한 결과 역시, 스타터의 종류에 따른 발효 정도의 차이에서 기인한 것으로 생각되어진다.

Ryu 등(24)의 연구에 의하면 순창 민속마을에서 판매되는 대표적인 전통 청국장들은 1 mg/mL 농도에서 44~86%의 암세포 성장 저해율을 나타낸다고 하였는데, 이와 비교하였을 때 BS-c는 상당히 높은 저해율을 보인다고 할 수 있다. 따라서 스타터의 종류에 따라 장류의 기능성도 차이를 나타내며, *B. subtilis*-SKm는 장류의 품질 및 건강기능성을 향상시킬 수 있는 우수 스타터로, 청국장 발효 및 장류 산업에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

B. subtilis-SKm, *B. subtilis* HJ18-4, *B. subtilis* KCCM 42923을 스타터로 이용하여 40°C에서 72시간 발효시켜 청국장(BS-c, BH-c, BK-c)을 제조하였으며, 이때 자연 발효하

여 제조한 청국장(NF-c)과 함께 발효 특성을 비교, 관찰하였다. pH는 BS-c, BK-c 및 NF-c에서 7.6으로 비슷하게 나타났고, BH-c가 5.9로 가장 낮았다. 호기성 균수는 BS-c, BK-c, NF-c에서 10.0 log cfu/g대로 비슷한 분포를 보였고, BH-c의 경우는 9.7 log cfu/g로 비교적 낮게 나타났다. 아미노태 및 암모니아태 질소 함량과 γ -GTP의 역가의 결과를 관찰한 결과, 모두 BS-c에서 높게 나타나 발효가 가장 잘 이루어졌음을 알 수 있었으며, BH-c의 경우 발효 정도가 낮음을 알 수 있었다. Protease와 α -amylase 활성 역시 BS-c에서 높게 나타났다. 관능평가에서는 4종의 청국장이 대체로 비슷한 기호도를 나타냈으나, 종합적인 맛과 종합적인 평가에서 BS-c가 가장 높은 선호도를 나타내었다. 또한 DPPH free radical 소거 효과와 HT-29 암세포 성장 억제 효과는 스타터를 이용하여 제조된 청국장인 BS-c, BH-c, BK-c가 NF-c에 비해 우수한 효과를 보였으며, 역시 BS-c가 가장 높은 효과를 나타냈다. 따라서 스타터의 종류에 따라 청국장의 품질 및 기능성에 차이가 나타나며, *B. subtilis*-SKm을 스타터로 이용할 경우 청국장의 품질 및 기능성 증진 효과를 기대할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 2011년 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ006762)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, Shin SY. 1996. Survey on preparation method and consumer response of *chungkukjang*. *Korean Soybean Digest* 13: 29-43.
- Lee YL, Kim SH, Choung NH, Yim MH. 1992. A study on the production of viscous substance during the *Chungkook-jang* fermentation. *J Korean Agric Chem Soc* 35: 202-209.
- 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. *Appl Biol Chem* 43: 247-252.
- 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. *J Agric Food Chem* 50: 3597-3601.
- Seo HR, Kim JY, Kim JH, Park KY. 2009. Identification of *Bacillus cereus* in a *chungkukjang* that showed high anticancer effects against AGS human gastric adenocarcinoma cells. *J Med Food* 12: 1274-1280.
- Kim SS, Lee JH, Ahn YS, Kim JH, Kang DK. 2003. A fibrinolytic enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* D4-7 isolated from *chunggukjang*: its characterization and influence of additives on thermostability. *Korean J Microbiol Biotechnol* 31: 271-276.
- Joo HK. 1971. Studies on the manufacturing of *Chungkukjang*. *Korean J Food Sci Technol* 3: 64-67.
- Hwang HA, Lee NK, Cho IJ, Hahm YT, Kwon KO, Kim BY. 2008. Selection of microorganism and optimization of manufacture process for *cheonggukjang*. *Korean J Food Sci Technol* 40: 406-411.
- Lee BY, Lim DH, Kim KH. 1991. Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *Cheonggukjang*. *Korean J Food Sci Technol* 25: 64-67.
- Lee SH, Baek LM, Park LY. 2008. Physiological of *Bacillus* spp. isolated from rice straw as *cheonggukjang* starter. *Korean J Food Sci Technol* 40: 562-567.
- Lee HJ, Suh JS. 1981. Effects of *Bacillus* strains on the chungkook-jang processing (I). changes of the components and enzyme activities during chungkookjang-koji preparation. *Korean J Nutr* 14: 97-104.
- Im CM, Kwon SH, Bae MS, Jung KO, Moon SH, Park KY. 2006. Characteristics and increased antimutagenic effect of black soybean (var. Seoritae) *chungkukjang*. *Cancer Prev Res* 11: 218-224.
- AOAC. 1990. *Official method of analysis*. Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC, USA. p 79.
- Park SK, Seo KI, Shon MY, Moon JS, Lee YH. 2000. Quality characteristics of home-made doenjang, a traditional Korean soybean paste. *Korea J Soc Food Cookery Sci* 16: 121-218.
- Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim MS, An EY. 1998. Changes in microflora and enzymes activities of traditional Kochujang prepared with various raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 29: 901-906.
- Chae SK, Kang KS, Lew ID, Ma SJ, Bang KY, Oh MH, Oh SH. 2004. *Food Analysis*. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea. p 675.
- Kim YA. 1995. Effective components on the sensory characteristics of commercial soy-sauce and ordinary Korean soy-sauce. *The Research Reports of Miwon Research Institute of Korean Food & Dietary Culture* 6: 245-270.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Skehan P, Storeng R, Monks SA, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenny S, Boyd MR. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J Natl Cancer Inst* 82: 1107-1112.
- Suh JS, Ryu MK, Hur YH. 1983. Effect of *Bacillus* stains on the *chungkookjang* processing. III. Changes of the free amino acid contents and nitrogen compounds during *chungkukjang koji* preparation. *Korean J Food Sci Technol* 15: 385-391.
- Lee KH, Lee HJ, Chung MK. 1971. Studies on *chungkook-jang* (Part 1). On the changes of soybean protein in manufacturing *chungkookjang*. *J Korean Agric Chem Soc* 14: 191-200.
- Park JS, Lee MY, Lee TS. 1995. Compositions of sugars and fatty acids in soybean paste (*Doenjang*) prepared with different microbial sources. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 917-924.
- Jeong EJ, Kim JY, Moon SH, Park KY. 2010. Characteristics, antioxidative activities and growth inhibitory effects in AGS human gastric adenocarcinoma cells of soymilk fermented by *Bacillus subtilis* KC-3 during fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1113-1118.
- Ryu KJ, Zhao X, Bak SS, Kim BK, Jeon JT, Park KY. 2008. *In vitro* anticancer effect of chungkukjangs from folk villages of Sunchang region in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Prev Res* 13: 62-67.

(2011년 10월 28일 접수; 2011년 12월 7일 채택)