KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 44, No. 1, pp. 69~75 (2012)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

대두의 발아시간이 분리 균주로 제조한 청국장의 품질 특성에 미치는 영향

정진보 · 최승권 · 정도연[1] · 김영수 · 김용석*
전북대학교 식품공학과, [1]순창군청

Effects of Germination Time of Soybeans on Quality Characteristics of *Cheonggukjang* Fermented with an Isolated Bacterial Strain

Jin-Bo Jung, Seung-Kwon Choi, Do-Youn Jeong[1], Young-Soo Kim, and Yong-Suk Kim
Department of Food Science & Technology, Chonbuk National University
[1]*Sunchang County*

Abstract To investigate the effects of soybean germination time on the quality of *cheonggukjang,* the physicochemical characteristics and enzyme activities of *cheonggukjang* during fermentation were compared. *B. subtilis* SCD 115035 strain isolated from traditional *cheonggukjang* was selected for making *cheonggukjang.* Germinated (12-h) soybean-*cheonggukjang* produced the highest amount of viscous substance (13.22%) after 48 h of fermentation, and the contents were inversely proportional to the germination time of the soybeans. The acidic- and neutral-protease activities of ungerminated soybean-*cheonggukjang* were higher than those of germinated soybean-*cheonggukjang*. The amino nitrogen content of ungerminated soybean-*cheonggukjang* was the highest (436.93 mg%) at 48 h of fermentation, and its content was similar to that of 12-h germinated soybean-*cheonggukjang*. However, the total isoflavone content of 36-h germinated soybean-*cheonggukjang* was the highest after 72 h of fermentation, and its content was higher than those of *cheonggukjang* made from soybeans germinated for 0, 12, and 24 h.

Keywords: *cheonggukjang,* soybean, germination, enzyme activity, isoflavone

서 론

청국장은 삶은 콩을 볏짚에 깔아 볏짚에 붙어있는 *Bacillus*속 미생물에 의해 40-42°C에서 2-3일간 발효시킨 것으로, 발효과정 중 미생물이 생산하는 효소에 의해 그 특유의 맛과 향, 점질물질이 생성된다(1). 청국장은 오래 전부터 우리가 섭취해왔던 식품임에도 불구하고, *Bacillus*속 미생물로부터 생성되는 alkylpyrazine류, 함황화합물 또는 암모니아 화합물의 특이한 냄새로 인해 소비자들이 기피하는 경향이 있었다(2-4). 그러나 최근에 항산화 효과(5), 혈전 용해(6,7), 항균효과(8) 등의 유용한 생리활성 기능이 보고됨에 따라 기능성 식품으로 관심이 증가하고 있다.

청국장의 제조 방법 및 성분 등에 관한 연구는 많이 진행되어 왔으며, 최근에는 청국장의 점질물질(9,10), 냄새성분(11), 이취발생 저감화(12), 분리 단백질(13,14) 등 여러 분야에서 상당한 연구가 진행되어 왔다. 청국장의 품질은 주로 발효 과정에 관여하는 미생물에 의해 달라지기 때문에 청국장 발효 종균으로 복합균주를 이용하거나, 청국장 발효에 관여되는 미생물을 규명하려는 연구가 진행되어 왔으며, *Bacillus subtilis, B. amyloliquefaciens* 등이 청국장에서 분리되었다(7,9,15).

청국장의 원료인 대두는 단백질과 지방질이 풍부하고 필수아미노산과 필수지방산의 함량이 높아 육류의 섭취량이 비교적 적은 우리나라를 비롯한 동양에서는 중요한 단백질과 지방질의 급원으로 오랫동안 이용하고 섭취해온 영양식품이다(16).

대두는 발아가 진행됨에 따라 호흡과 대사작용으로 비단백태질소성분은 증가하고 지방질과 올리고당은 감소하며(17), phytoestrogen으로 작용하는 isoflavone은 발아 초기에 그 함량이 증가하다가 감소(16,18)하는 등 다양한 영양성분 및 생리활성 물질의 화학적 변화가 일어난다. Isoflavone은 포유동물에서 약한 estrogen 활성을 보이며 항암 효과, 고혈압, 항산화 효과, 폐경기 증후군, 골다공증, 심혈관질환, 유방암, 전립선암, 대장암 등과 같은 호르몬과 관련된 질환에 예방효과가 있는 것으로 알려져 있다(19). 대두의 발아 중 isoflavone의 변화(16,18,20), 발아콩분말의 기능적 특성(21), 발아대두 청국장의 발효 중 변화(22,23) 등에 대한 연구는 많이 수행되었다. 그러나 대두의 발아시간별로 제조한 청국장의 품질 특성에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 청국장에서 분리한 균주를 이용하여 대두의 발아시간에 따라 청국장을 제조하였고, 청국장의 발효기간 중 아미노태질소 및 isoflavone 함량 등의 이화학적 특성과 amylase 및 protease 등 효소활성을 비교함으로써 대두의 발아시간이 발아대두 청국장의 품질특성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

대두 및 균주

청국장 제조를 위한 대두는 2009년 전북 순창지역에서 재배한

*Corresponding author: Yong-Suk Kim, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk 561-756, Korea
Tel: 82-63-270-2567
Fax: 82-63-270-2572
E-mail: kimys08@jbnu.ac.kr
Received September 21, 2011; revised October 31, 2011; accepted October 31, 2011

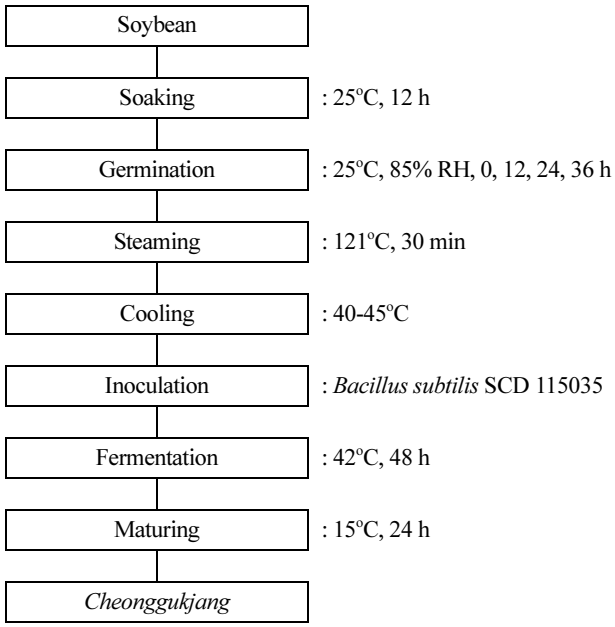

Fig. 1. Procedure of germinated *cheonggukjang* preparation.

'원광' 품종을 사용하였다. 점질물 양이 많고 향미 특성이 우수한 청국장 제조용 균주를 선발하기 위하여 순창지역에서 전통적인 방법으로 제조한 청국장에서 분리한 균주인 *Bacillus subtilis* MB4, SCD 115003, 115026, 115035, 115036, 115037을 사용하여 청국장을 제조하였다.

대두의 발아

대두를 5배의 정제수에 25°C에서 12시간 수침한 후 종자 표면의 수분을 제거하고, 다시 같은 온도의 항온기에서 각각 0, 12, 24, 36시간 발아(25°C, 85% 상대습도)하여 청국장 제조용으로 사용하였다.

청국장 제조

청국장에서 분리한 점질물 생성능이 우수하고 향미 특성이 좋은 균주로 선발된 *B. subtilis* SCD 115035를 사용하여 청국장을 제조하였다(Fig. 1). 발아시킨 대두를 121°C에서 30분간 증자하였고, 증자한 대두는 40-45°C 정도로 냉각한 후 300 g씩 1 L 삼각플라스크에 무균실에서 분주하고 면전한 후 균주(10^8-10^9 CFU/mL)를 대두량의 1%(v/v)가 되게 접종하였다. 42°C에서 48시간 발효 후 15°C에서 24시간 후숙 과정을 거쳤고, 발효 및 숙성 72시간 동안 24시간 간격으로 품질 특성을 분석하였다(18).

수분함량, pH 및 적정산도 분석

청국장의 수분함량은 청국장 2-3 g을 항량을 구한 칭량병에 넣고 105°C dry oven에서 2시간 건조하고 데시케이터에서 30분 방냉 후 측정을 반복해 항량을 구하였다(24). pH는 청국장 5 g을 취해 증류수 45 mL를 가한 후 잘 용해하고, pH meter(Model Orion Star Series, Beverly, MA, USA)로 측정하였다(25). 적정산도는 시료 5 g을 취해 증류수 45 mL를 가한 후 잘 용해하고, 전량에 0.1 N NaOH 용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하고 초산 양으로 환산하였다(26).

총산(g/100 mL)=V_a×f×a×100/W

V_a: 0.1 N NaOH 표준용액의 적정값(mL)
f: 0.1 N NaOH 표준용액의 factor
a: 해당 산의 0.1 N NaOH 1 mL 중화 소요량(초산: 0.0060)
W: 시료량(g)

점질물 함량

청국장 100 g에 8배의 증류수(800 mL)를 가한 뒤, Bagmixer (Interscience, St. Nom, France)로 10분간 균질화하고, 10,000×g에서 20분 동안 원심분리(Model J2-21; Beckman Instruments Inc., Palo Alto, CA, USA)한 후 상등액을 취해서 동결건조하여 측정하였다(22).

효소 활성도

청국장 10 g에 증류수 90 mL를 넣고, 진탕배양기에서 150 rpm, 20°C, 3 h 동안 교반한 후, 10,000×g로 10분간 원심분리(Model J2-21)하여 얻은 상징액을 0.2 μm syringe filter로 여과한 여액을 조효소액으로 하여 효소활성을 측정하였다(27).

α-Amylase 활성을 측정하기 위해 40°C에서 예열한 1% soluble starch용액 1 mL에 조효소액 1 mL를 가하고 40°C에서 30분간 반응시킨 후 1 M acetic acid 10 mL를 가하여 반응을 중지시켰다. 요오드 용액(0.01 N) 1 mL를 가하여 660 nm에서 흡광도를 측정한 후 대조구와의 흡광도 차이를 환산하여 효소액 1 mL가 나타내는 흡광도를 효소역가로 표시하였다.

β-Amylase 활성을 측정하기 위해 0.5% soluble starch 용액 1 mL를 시험관에 넣고 30°C 수조에서 예열한 후 조효소액 1 mL를 가하여 30°C에서 30분간 반응시켰다. 반응용액과 동량의 DNS 시약을 넣고 끓는 물에서 5분간 반응시킨 후 증류수 10 mL를 넣어 희석한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하여 조효소액 1 mL가 나타내는 흡광도를 효소역가로 표시하였다.

Protease 활성은 pH 7.0(중성) 또는 pH 3.0(산성)으로 조정한 0.6% casein 용액 3 mL를 30°C에서 2분간 예열하여 조효소액 1 mL를 첨가한 후 30°C, 10분간 반응시켰다. 여기에 0.4 M trichloroacetic acid(TCA) 5 mL를 첨가하여 30°C에서 30분간 반응시킨 액을 여과지(Whatman No. 2)를 이용하여 여과한 후, 여액 2 mL에 0.4 M Na_2CO_3 5 mL와 Folin시약 1 mL를 혼합한 후 30°C에서 30분 동안 발색시켜 660 nm로 흡광도를 측정하였다. 조효소액 1 mL에서 1분간 1 μM의 tyrosine을 유리할 때를 1 unit로 하였다.

아미노태 질소 함량

청국장 2 g을 취해 증류수 100 mL를 가하고 1시간 동안 교반하여 충분히 용해한 다음 0.1 N NaOH용액으로 pH 8.4로 조정한 후, 여기에 20 mL의 중성 formalin(pH 8.3)을 가하고 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 되도록 중화 적정하였다. 별도로 증류수에 대한 바탕시험을 실시하여 다음 식에 따라 아미노태 질소 함량을 구하였다(28).

Amino nitrogen (mg%)=(A−B)×1.4×F×100/시료량(g)

A: 0.1 N NaOH 용액의 시료적정량(mL)
B: 0.1 N NaOH 용액의 blank test(mL)
F: 0.1 N NaOH 용액의 역가

Isoflavone 함량

동결건조 시킨 청국장분말 0.5 g에 1 N HCl 7.5 mL를 첨가하고 100°C에서 90분간 가수분해시켜 isoflavone 배당체를 aglycone으로 전환시킨 뒤, 상온으로 냉각하였다. 여기에 HPLC-grade methanol을 첨가하여 25 mL로 정용하였고, 6시간 교반 후 3,200×g

에서 10분간 원심분리(Model J2-21)하여 상징액을 0.2 μm syringe filter(Chrom Tech. Inc., Apple Valley, MN, USA)로 여과한 뒤 HPLC로 분석하였다. HPLC 기기는 Supelcosil™ LC-18 column(25 cm×4.6 mm, 5 μm)이 장착된 HPLC(Shimadzu Co., Tokyo, Japan) 제품을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile과 0.005 M KH_2PO_4 혼합액(25: 75, v/v)을 사용하였고, 20 μL를 주입하여 column 온도 40°C와 1.2 mL/min의 flow rate에서 UV detector(Shimadzu, λ=254)로 분석하였다(18).

통계처리

측정값은 각 분석항목에 대하여 3회 반복 측정하였으며, SAS (Statistical Analysis System)통계 package(29)를 이용하여 ANOVA 분석(Duncan's multiple range test)으로 시행하였다($p<0.05$).

결과 및 고찰

청국장 제조를 위한 균주 선발

발아대두 청국장을 제조하기 위한 균주를 선발하기 위하여 순창지역에서 전통적인 방법으로 제조한 청국장에서 분리한 균주 6종을 대상으로 각각의 균주로 제조한 청국장의 점질물 양 측정과 향미 시험을 실시하였다(Table 1).

점질물의 양은 *Bacillus subtilis* SCD 115037로 제조한 청국장이 17.44%로 가장 많았으며, *B. subtilis* SCD 115035와 *B. subtilis* SCD 115036은 각각 14.21%와 12.42%를 나타냈다. Lee 등(30)은 증자콩에 *B. natto* 및 *B. subtilis*를 이용하여 제조한 청국장의 점질물 함량이 각각 6.3%와 5.0%였다고 보고하였으며, Kim 등(22)이 발아대두로 제조한 청국장의 점질물 함량이 약 5.89%였다고 보고한 연구 결과에 비하여 본 연구에서 측정된 점질물 함량은 상당히 높게 나타났다. 이는 청국장 발효에 사용한 균주와 발효조건이 다르기 때문인 것으로 생각된다. 한편, *B. subtilis* SCD 115037과 *B. subtilis* SCD 115036으로 제조한 청국장은 이취가 강하여 청국장 제조용으로 부적합한 것으로 판단되었다. 따라서 본 연구에서는 이취가 상대적으로 적고 점질물 생성량이 비교적 많은 *B. subtilis* SCD 115035 균주를 발아대두 청국장 제조용 균주로 선발하였다.

수분함량, pH 및 적정산도 분석

분리 균주 *B. subtilis* SCD 115035로 발효한 발아대두 청국장의 발아 시간 및 발효 시간에 따른 수분함량(Fig. 2)은 58.46-62.12% 범위에 있었다. 전체적으로 발아 시간이 긴 경우(24-36시간)의 수분함량은 60.31-62.12%로서 발아 시간이 짧은 경우(0-12시간)인

Table 1. Viscous substance contents and smell characteristics of *cheonggukjang* prepared with various strains isolated from Sunchang traditional *cheonggukjang*

Isolated strains	Viscous substance (%)	Smell
Bacillus subtilis MB4	10.83[d]	++
Bacillus subtilis SCD 115003	8.03[e]	+
Bacillus subtilis SCD 115026	11.68[cd]	+
Bacillus subtilis SCD 115035	14.21[b]	+
Bacillus subtilis SCD 115036	12.42[c]	++
Bacillus subtilis SCD 115037	17.44[a]	++

+: weak, ++: moderate, +++: strong
[1)]Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$) (n=3).

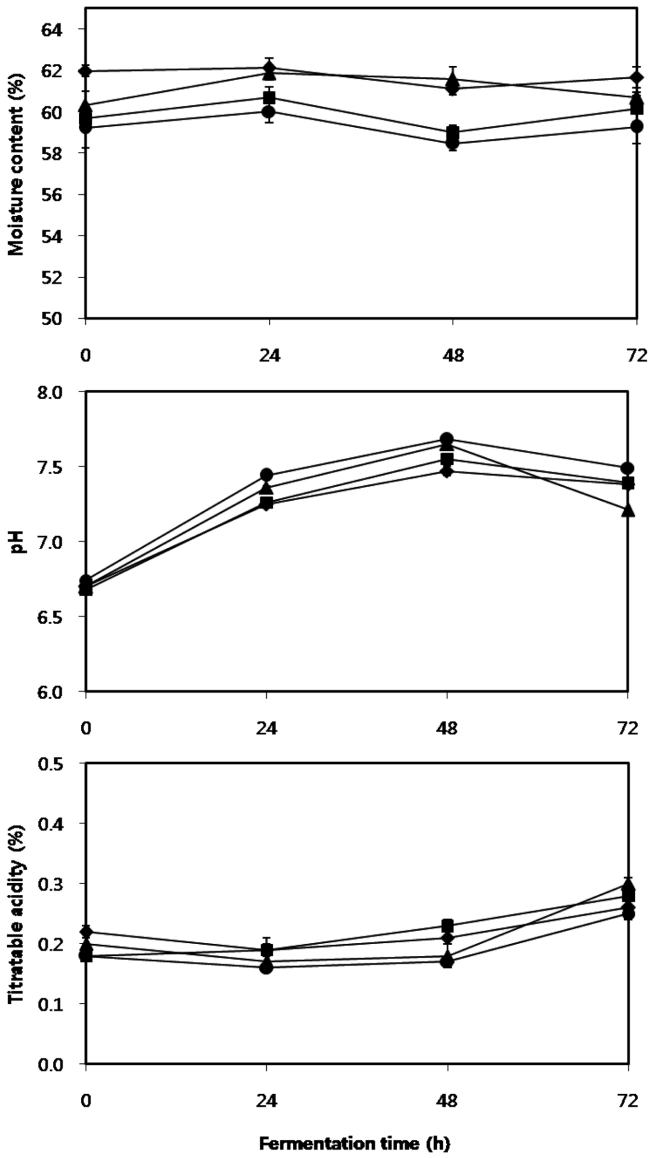

Fig. 2. Changes in moisture contents, pH, and titratable acidity of *cheonggukjang* made of soybean with different germination time. -■-, 0 h; -●-, 12 h; -▲-, 24 h; -◆-, 36 h. Vertical bars represent standard deviations (n=3).

58.46-60.67%보다 다소 높은 값을 나타내었다.

발아대두 청국장의 발아시간과 발효시간에 따른 pH(Fig. 2)는 모든 처리구에서 발효초기에 6.68-6.74에서 발효 시간이 경과함에 따라 증가하여 발효 48시간에는 pH 7.47-7.68까지 증가하였고, 발효 72시간에는 7.21-7.49로 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 대두의 발아 시간에 따른 청국장의 pH 차이는 발효 0, 24, 48, 72시간에 각각 최대 0.36, 0.19, 0.21, 0.28로서 크지 않았다. 청국장의 발효가 진행될수록 pH가 상승하는 것은 콩 단백질이 아미노산으로 분해되고 탈아미노화로 암모니아가 생성되어 pH는 높아지고 산도가 낮아지기 때문이다(31). Choi 등(32)은 발아대두로 제조한 청국장의 pH가 콩의 발아 정도에 관계없이 pH 7.2-7.7 범위를 나타냈다고 보고하여 본 연구의 결과와 비슷하였다.

발아대두 청국장의 총산(Fig. 2)은 모든 처리구에서 발효 0시간에 0.18-0.22%에서 발효 48시간까지 0.17-0.23% 범위를 유지하다가 발효 72시간에 0.25-0.30%로 증가하는 경향을 나타내었다.

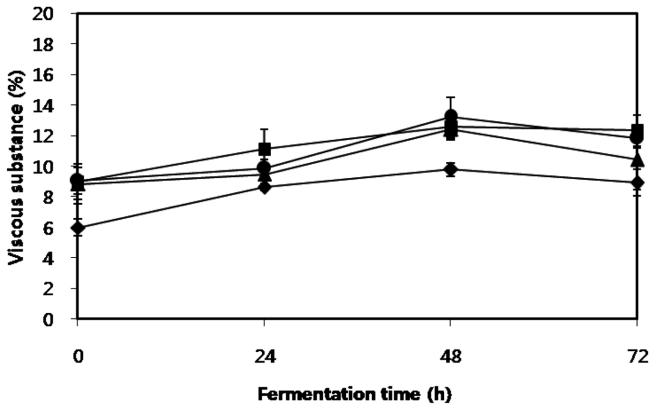

Fig. 3. Changes in viscous substance contents of *cheonggukjang* made of soybean with different germination time. -■-, 0 h; -●-, 12 h; -▲-, 24 h; -◆-, 36 h. Vertical bars represent standard deviations (n=3).

각각의 발효시간에서 발아시간에 따른 총산 함량의 차이는 0.03-0.06%로서 발아 시간에 따른 변화는 크지 않아 pH의 변화와 일관된 경향을 나타냈다.

점질물의 양

발아대두 청국장의 발아시간과 발효시간에 따른 점질물의 양은 발효가 진행되면서 모든 처리구에서 증가하는 경향을 보였으며, 발효 48시간에 12시간 발아시킨 대두로 제조한 청국장에서 13.22%로 가장 높은 함량을 나타내었다(Fig. 3). 청국장 발효 24시간과 72시간에 점질물의 함량이 발아 0, 12, 24시간 순으로 유의적 차이 없이 적어졌으며, 발아 36시간인 경우는 발효기간 중 다른 처리구에 비해 점질물의 함량이 적은 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 대두의 발아시간이 증가함에 따라 청국장의 점질물 함량은 감소하는 것으로 나타났다. Kim 등(22)은 싹튼 콩으로 제조한 청국장의 점질물 함량이 발효시간에 따라 증가하여 발효 48시간에 최고에 이르렀다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 나타냈다. Choi 등(32)은 원료 콩의 발아시간에 비례하여 청국장의 점질물 함량이 증가하였다고 보고하여 본 연구와 다른 결과를 나타냈으나 점질물의 함량은 최고 1.08±0.01%로서 본 연구의 결과보다 매우 낮았다.

효소활성

Protease와 amylase는 원료 대두의 단백질과 탄수화물을 가수분해하여 청국장의 맛을 형성하는데 중요한 역할을 한다. 발아시간이 다른 대두로 제조한 청국장의 발효기간 중 효소활성의 변화는 Table 2와 같다.

산성 protease 활성은 발효 0시간에 0.073-0.084 unit/mL에서 발효가 시작되면서 급격하게 증가하여 발효 48시간에 0.285-0.320 unit/mL를 나타냈으며, 이후에는 비슷한 수준을 유지하였다. 발아 0시간-발효 72시간 처리구에서 0.323 unit/mL로 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었다. 발아시간에 따른 산성 protease 활성을 보면 발효기간 동안 발아 0시간 처리구에서 가장 높았으며, 12시간과 24시간 발아시 활성이 감소하였다가 36시간 발아 처리구에서 다시 증가하였으나 0시간 발아 처리구보다는 낮았다. Oh 등(23)은 볏짚으로 제조한 청국장의 산성 protease 활성이 발효 60시간까지 증가하였으나, 비발아대두 청국장과 발아대두 청국장에서 활성의 차이가 없다고 보고하여 본 연구결과와 차이가 있었다.

중성 protease 활성은 산성 protease 활성의 경우와 비슷한 경향을 나타내었다. 즉 발효 0시간에 0.066-0.083 unit/mL에서 발효 48시간까지 활성이 급격하게 증가하였으며, 이후에는 0.280-0.332 unit/mL 수준을 유지하였다. 발아시간에 따른 중성 protease 활성도 산성 protease 활성의 경우와 비슷한 경향을 나타내 산성 및 중성 protease 활성 모두 발아를 시키지 않은 경우가 발아를 시킨 경우에 비하여 높게 나타났다. Oh 등(23)은 볏짚으로 제조한 청국장의 중성 protease 활성이 발효 60시간까지 증가하다가 이후 감소하였으며, 비발아대두 청국장의 활성이 발아대두 청국장의 활성보다 높았다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 나타내었다. Ann(31)은 청국장의 단백질가수분해효소 활성이 발효 36시간에 가장 높았으며, 이후 점차 낮아졌다고 보고하였다.

α-Amylase 활성은 발효 초기에 2.394-2.405 unit/mL 범위에서 발효가 진행됨에 따라 약간 감소하는 경향을 보여 발효 72시간에는 2.155-2.194 unit/mL 범위를 나타냈다. 발아대두로 제조한 청국장의 α-amylase 활성이 비발아대두 청국장보다 약간 높았으나 그 차이는 적었으며, 발아시간에 따른 일관된 경향은 보이지 않았다. Oh 등(23)은 볏짚으로 제조한 청국장의 α-amylase 활성이 발효 24시간까지 약간 감소하였으나 이후에는 큰 변화없이 일정하였으며, 발효기간 동안 발아대두 청국장의 활성이 비발아대두 청국장보다 약간 높았다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

β-Amylase 활성은 발효 0시간에 0.068-0.092 unit/mL 범위에서 발효 24시간까지 증가하는 경향을 보여 0.187-0.225 unit/mL 범위를 나타냈다가 이후 약간 감소하여 발효 72시간에 0.177-0.189 unit/mL 범위를 나타냈다. 발아시간에 따른 차이를 보면 β-amylase 활성은 발효 24시간에 발아 0시간 처리구에서 유의적으로 약간 높은 활성을 나타냈으나 그 차이는 크지 않았으며, 다른 발효시간에서는 활성의 차이가 적었다. Oh 등(23)은 볏짚으로 제조한 청국장의 β-amylase 활성이 발효 12시간까지 증가하다가 이후 약간 감소하는 경향이었으며, 발효 12시간에 비발아대두 청국장의

Table 2. Amylase and protease activities of *cheonggukjang* prepared with germinated soybean with different germination time

Fermentation time (h)	Germination time (h)	Enzyme activities (unit/mL)			
		Acidic protease	Neutral protease	α-amylase	β-amylase
0	0	0.083$^{h1)}$	0.083^{h}	2.395^{a}	0.074^{e}
	12	0.073^{h}	0.069^{i}	2.405^{a}	0.068^{e}
	24	0.084^{h}	0.082^{h}	2.394^{a}	0.092^{d}
	36	0.073^{h}	0.066^{i}	2.405^{a}	0.077^{e}
24	0	0.251^{e}	0.252^{e}	2.227^{d}	0.225^{a}
	12	0.163^{f}	0.157^{f}	2.315^{c}	0.208^{b}
	24	0.126^{g}	0.123^{g}	2.352^{b}	0.211^{b}
	36	0.170^{f}	0.163^{f}	2.308^{c}	0.187^{c}
48	0	0.320^{a}	0.327^{a}	2.158^{i}	0.180^{c}
	12	0.301^{bc}	0.294^{b}	2.177^{gh}	0.176^{c}
	24	0.285^{d}	0.269^{c}	2.203^{e}	0.187^{c}
	36	0.304^{b}	0.291^{d}	2.174^{h}	0.180^{c}
72	0	0.323^{a}	0.332^{a}	2.155^{i}	0.188^{c}
	12	0.284^{d}	0.280^{c}	2.194^{ef}	0.183^{c}
	24	0.292^{cd}	0.287^{bc}	2.186^{fg}	0.177^{c}
	36	0.296^{bc}	0.293^{b}	2.182^{gh}	0.179^{c}

[1)]Mean values with different superscripts in the same column are significantly different ($p<0.05$) (n=3).

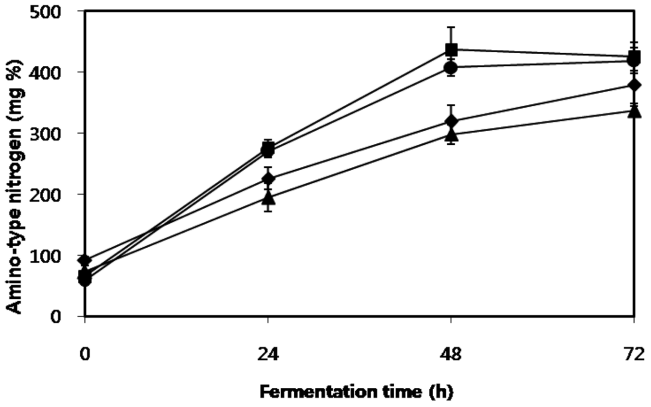

Fig. 4. Changes in amino-type nitrogen contents of *cheonggukjang* made of soybean with different germination time. -■-, 0 h; -●-, 12 h; -▲-, 24 h; -◆-, 36 h. Vertical bars represent standard deviations (n=3).

활성이 발아대두 청국장보다 약간 높았으나 이후에는 차이가 없었다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

아미노태 질소 함량

청국장의 구수한 맛을 좌우하는 아미노태질소 함량(Fig. 4)은 발효 0시간 58.68-92.38 mg%에서 발효가 진행되면서 급격하게 증가하여 발효 72시간에는 336.53-425.03 mg%의 범위를 나타내었다. 비발아대두로 제조한 청국장의 아미노태질소 함량이 발효 48시간에 436.93 mg%로서 가장 높았다. 발아 0시간 처리구의 아미노태질소의 함량은 발효기간 동안 발아 12시간 처리구와 비슷하였으나 발아 24시간 및 36시간 처리구보다 높은 값을 나타내어 산성 및 중성 protease 활성의 결과와 일관된 경향을 나타냈다. Eom 등(33)은 볏짚을 이용하여 비발아대두와 발아대두로 제조한 청국장의 아미노태질소 함량이 발효 36시간까지 증가하다가 이후 약간 감소하는 경향이었으며, 발효 12시간에 비발아대두 청국장의 활성이 발아대두 청국장보다 약간 높았으나 이후에는 차이가 없었다고 보고하여 본 연구결과와 비슷한 경향을 나타내었다. Youn 등(34)은 청국장 발효 45시간까지 아미노태질소 함량이 계속 증가하였으며, 사용한 균주에 따라 그 함량이 다르다고 보고하였다.

Isoflavone 함량 측정

발아 시간 및 발효 시간에 따른 발아대두 청국장의 isoflavone 함량은 Table 3과 같다. 발아 0, 12, 24시간 처리구의 총 isoflavone 함량은 발효 초기 760.39±10.55-774.96±9.46 μg/g에서 발효 48시간까지 점차 감소하다가 발효 72시간에 다시 증가하여 705.64±11.68-722.76±7.21 μg/g을 나타냈다. 발아 36시간 처리구는 발효 초기 792.47±7.29 μg/g에서 발효 24시간에 감소하였다가 이후 증가하여 발효 72시간에 839.86±8.24 μg/g로서 유의적으로 가장 높은 함량을 나타냈다. 발아 36시간 처리구의 총 isoflavone 함량이 발효기간 동안 발아 0, 12, 24시간 처리구보다 유의적으로 높게 나타났으며, 발아 0, 12, 24시간 처리구 사이에는 큰 차이가 없었다. Kim 등(16)은 콩의 발아 24시간까지 총 isoflavone 함량이 증가하다가 감소한 후 발아 106시간이후 다시 증가하는 경향을 보였다고 보고하였다. Jeong 등(18)은 24시간 발아한 콩으로 제조한 청국장의 총 isoflavone과 genistein 함량이 발효 12시간까지 감소하였다가 이후에 증가하여 발효 48시간에 가장 높았으며, 발아대두로 제조한 경우가 비발아대두로 제조한 경우보다 발효기간 동안 그 함량이 높았다고 보고하였다. Choi 등(32)은 24시간 발아한 콩으로 제조한 청국장의 총 isoflavone 함량이 0, 12, 36, 48시간 발아한 콩으로 제조한 경우보다 높았다고 보고하였다. 청국장의 총 isoflavone 함량이 발아 및 발효시간에 따라 다른 경향을 나타내는 것은 원료 대두의 품종, 발아 및 발효조건, 발효균주 등이 다르기 때문인 것으로 생각된다.

청국장을 제조하기 위하여 대두를 발아했을 때 점질물의 함량, protease 활성 및 아미노태 질소 함량은 대조구보다 감소하였으나 기능성 성분인 isoflavone 함량은 발아 36시간 처리구에서 가장 높은 것으로 나타났다.

Table 3. Isoflavone contents of *cheonggukjang* prepared with germinated soybean with different germination time

Fermentation time (h)	Germination time (h)	Isoflavones (μg/g)			
		Daidzein	Genistein	Glycitein	Total
0	0	262.75$^{bc1)}$	150.54^{b}	361.67^{bc}	774.96^{d}
	12	259.49^{cd}	139.82^{bc}	361.08^{bc}	760.39^{e}
	24	260.25^{cd}	139.13^{c}	362.80^{bc}	762.18^{e}
	36	272.46^{b}	150.34^{b}	369.67^{b}	792.47^{c}
24	0	229.00^{e}	109.42^{ef}	343.14^{d}	681.56^{h}
	12	224.98^{e}	100.28^{fgh}	335.09^{de}	660.35^{i}
	24	227.76^{e}	102.81^{fg}	337.16^{de}	667.73^{i}
	36	251.64^{cd}	122.13^{d}	353.98^{c}	727.75^{f}
48	0	224.00^{e}	97.27^{igh}	334.82^{de}	656.09^{ij}
	12	220.01^{e}	87.69^{i}	336.18^{de}	643.87^{jk}
	24	220.36^{e}	91.85^{ih}	328.35^{e}	640.56^{k}
	36	284.45^{a}	145.38^{bc}	379.86^{a}	809.70^{b}
72	0	247.68^{d}	119.03^{de}	338.93^{de}	705.64^{g}
	12	254.56^{cd}	126.09^{d}	342.12^{d}	722.76^{f}
	24	252.28^{cd}	121.68^{d}	340.97^{d}	714.93^{fg}
	36	295.84^{a}	162.99^{a}	381.02^{a}	839.86^{a}

[1)]Mean values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05) (n=3).

요 약

대두의 발아시간이 발아대두 청국장의 품질특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 청국장의 발효기간 중 아미노태질소 및 isoflavone 함량 등의 이화학적 특성과 amylase 및 protease 등 효소활성을 비교하였다. 전통 청국장에서 분리한 균주 중 이취가 상대적으로 적고, 점질물 생성량이 많은 *B. subtilis* SCD 115035 균주를 선발하여 청국장 제조에 사용하였다. 청국장의 pH는 발효 초기 pH 6.68-6.74에서 발효가 진행됨에 따라 점차 증가하여 발효 48시간에 pH 7.47-7.68을 나타냈다. 청국장의 점질물 함량은 발효 48시간에 발아 12시간 처리구에서 13.22%로 가장 높았으며, 대두의 발아시간이 증가함에 따라 점질물 함량은 감소하였다. 산성 protease 활성은 발아 0시간 처리구에서 발효 72시간에 0.323 unit/mL로 가장 높았다. 산성 및 중성 protease 활성은 비발아대두로 제조한 청국장에서 발아대두로 제조한 청국장보다 높게 나타났다. α-Amylase와 β-amylase 활성은 발아 시간 및 발효 시간에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 비발아대두로 제조한 청국장의 아미노태질소 함량이 발효 48시간에 436.93 mg%로 가장 높았으며, 그 함량은 발아 12시간 처리구와 비슷하였다. 발아 36시간 처리구의 총 isoflavone 함량은 발효 72시간에 839.86±8.24 μg/g로서 가장 높았으며, 발효기간 동안 발아 0, 12, 24시간 처리구보다 높게 나타났고, 발아 0, 12, 24시간 처리구 사이에는 큰 차이가 없었다. 청국장을 제조하기 위하여 대두를 발아했을 때 점질물의 함량, protease 활성 및 아미노태 질소 함량은 대조구보다 감소하였으나 기능성 성분인 isoflavone 함량은 발아 36시간 처리구에서 가장 높은 것으로 나타났다.

문 헌

1. Son DH, Kwon OJ, Ji WD, Choi UK, Kwon OJ, Lee EJ, Cho YJ, Cha WS, Chung YG. The quality changes of *cheonggukjang* prepared with *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 43: 1-6 (2000)
2. Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, Shin SY. Survey on preparation method and consumer response of *cheonggukjang*. Korean J. Soybean Res. 13: 29-43 (1996)
3. Allagheny N, Obanu ZA, Campbell-Platt G, Owens JD. Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legumes. Int. J. Food Microbiol. 29: 321-333 (1996)
4. Choi SH, Ji YA. Changes in flavor of *cheonggukjang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 229-234 (1989)
5. Hwang JS, Kim SJ, Kim HB. Antioxidant and blood-pressure reduction effects of fermented soybean, *cheonggukjang*. Korean J. Microbiol. 45: 54-57 (2009)
6. Ko JA, Koo SY, Park HJ. Effects of alginate microencapsulation on the fibrinolytic activity of fermented soybean paste (*cheonggukjang*) extract. Food Chem. 111: 921-924 (2008)
7. Sohn BH, Song YJ, Oh KH. Fibrinolytic activity and characterization of *Bacillus licheniformis* HK-12 isolated from *cheonggukjang*. Korean J. Biotech. Bioeng. 23: 251-256 (2008)
8. Shon MY, Seo KI, Lee SW, Choi SH, Sung NJ. Biological activities of *cheonggukjang* prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 936-941 (2000)
9. Bang BH, Jeong EJ, Rhee MS, Kim YM, Yi DH. Isolation of *Bacillus subtilis* GS-2 producing -PGA from *cheonggukjang* bean paste and identification of γ-PGA. J. Appl. Biol. Chem. 54: 1-6 (2011)
10. Ashiuchi M, Kamei T, Baek DH, Shin SY, Sung MH, Soda K, Yagi T, Misono H. Isolation of *Bacillus subtilis* (*cheonggukjang*), a polyglutamate producer with high genetic competence. Appl. Microbiol. Biot. 57: 764-769 (2001)
11. Kim YS, Jung HJ, Park MS, Yu TS. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 *cheonggukjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 475-478 (2003)
12. Hong EJ, Kim YJ, Noh BS. The reduction of “off-flavor” in *cheonggukjang* and kimchi. Korean J. Food Culture 25: 324-333 (2010)
13. Seo JH, Lee SP. Production of fibrinolytic enzyme from soybean grits fermented by *Bacillus firmus* NA-1. J. Med. Food 7: 442-449 (2004)
14. Santos I, Sohn IY, Choi HS, Park SM, Ryu SH, Kwon DY, Park CS, Kim JH, Kim JS, Lim JK. Changes of protein profiles in *cheonggukjang* during the fermentation period. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 438-446 (2007)
15. Ahn YS, Kim YS, Shin DH. Isolation, identification, and fermentation characteristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional *cheonggukjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 82-87 (2006)
16. Kim JS, Kim JG, Kim WJ. Changes in isoflavone and oligosaccharides of soybeans during germination. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 294-298 (2004)
17. Yang CB, Kim ZU. Changes in nitrogen compounds in soybean sprout. J. Korean Agric. Chem. Soc. 23: 7-13 (1980)
18. Jeong PH, Shin DH, Kim YS. Effects of germination and osmopriming treatment on enhancement of isoflavone contents in various soybean cultivars and *cheonggukjang* (fermented unsalted soybean paste). J. Food Sci. 73: H187-H194 (2008)
19. Adlercreutz H, Hockerstedt K, Bannwart C, Bloigu S, Hamalainen E, Fotsis T, Ollus A. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin. J. Steroid Biochem. 27: 1135-1144 (1987)
20. Jeon SH, Lee KA, Byoun KE. Studies on changes of isoflavone and nutrients during germination of soybean varieties. Korean Assoc. Human Ecol. 14: 485-489 (2005)
21. Lee HS, Eom KY, Choi HS, Kim DH, Yoo SH, Kim WJ. Functional properties of germinated whole soy flour. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 483-487 (2006)
22. Kim MH, Kang WW, Lee NH, Kwon DJ, Kwon OJ, Chung YS, Hwang YH, Choi UK. Changes in quality characteristics of *cheonggukjang* made with germinated soybean. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 676-680 (2007)
23. Oh HI, Eom SM. Changes in microflora and enzyme activities of *cheonggukjang* prepared with germinated soybeans during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 56-62 (2008)
24. Choi HS, Kim MK, Kim MK, Park HS, Song GS, Lee KK, Kim TY, Kim JG. An approach to increase vitamin D2 level in *doenjang* (fermented soybean paste) using mushrooms. Food Sci. Biotechnol. 14: 828-831 (2005)
25. Kim IJ, Lee JK, Pack MH, Shon DH. Preparation method of *meju* by three step fermentation. Korean. J. Food Sci. Technol. 34: 536-539 (2002)
26. Sadler GO. Titratable acidity. pp. 83-94. In: Introduction to the Chemical Analysis of Foods. Nielsen SS (ed). James and Bartlett Publisher, London, UK (1994)
27. Kim HE, Han SY, Kim YS. Quality characteristics of *gochujang meju* prepared with different fermentation tools and inoculation time of *Aspergillus oryzae*. Food Sci. Biotechnol. 19: 1579-1585 (2010)
28. Chae SG. Standard Food Analysis. Jigumunhwasa, Seoul, Korea. pp. 299-301 (2000)
29. SAS Institute, Inc. SAS User’s Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
30. Lee BY, Kim DM, Kim KH. Physico-chemical properties of viscous substance extracted from *cheonggukjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 599-604 (1991)
31. Ann YG. Changes in components and peptides during fermentation of *cheonggukjang*. Korean J. Food Nutr. 24: 124-131 (2011)
32. Choi UK, Kim MH, Lee NH, Jeong YS, Kwon OJ, Kim YC, Hwang YH. The characteristics of *cheonggukjang*, a fermented soybean product, by the degree of germination of raw soybeans. Food Sci. Biotechnol. 16: 734-739 (2007)
33. Eom SM, Jung BY, Oh HI. Changes in chemical components of *cheonggukjang* prepared with germinated soybeans during fer-

mentation. J. Appl. Biol. Chem. 52: 133-141 (2009)
34. Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. Quality characteristics of the *cheonggukjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. J. Korea Soc. Food Sci. Nutr. 31: 204-210 (2002)