

훈연공정을 첨가하여 제조한 발아콩 청국장의 맛 성분 변화

박화영 · 최원석 · [†]최웅규

한국교통대학교 식품공학과

Changes in Taste Component of *Cheonggukjang* prepared with Germinated Soybeans by the Addition of Smoking Process

Hwa-Young Park, Won-Seok Choi and [†]Ung-Kyu Choi

Dept. of Food Science & Technology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 368-701, Korea

Abstract

The aim of this study was to investigate the changes in the taste components of *cheonggukjang* made with germinated soybeans, which is produced by the addition of a smoking process. The total organic acid content of smoked *cheonggukjang* made with germinated soybeans (SCGS) was four times higher than that of non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybeans (NCNS). The total organic acid content of SCGS was lower than that of non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybeans (NCGS). The total free sugar content of NCGS and SCGS was approximately three times higher than that of NCNS. The total free amino acid content of NCGS was significantly decreased compared with that of NCNS, whereas the total free amino acid content of SCGS was 1.2 times higher than that of NCGS. The essential amino acid content of SCGS was significantly increased compared with that of NCGS. The ratio of glutamic acid to the total free amino acid in NCNS and SCGS was 19.6%. Similarly, the ratio of glutamic acid to the total free amino acid in NCGS was 19.1%. There were no significant differences in the total fatty acid content of NCNS, NCGS, and SCGS. The sensory evaluation of appearance, aroma, taste, and overall quality of SCGS was significantly increased compared with that of NCNS and NCGS. These results suggest that smoked *cheonggukjang* made with germinated soybeans could be utilized for the development of a novel fermented food.

Key words: *cheonggukjang*, germination, smoked soybean, organic acid, free amino acid

서 론

청국장은 우리나라 고유의 전통발효 식품 중 하나로 발효 과정에서 생성된 여러 가지 생리활성 물질, 항산화 물질 및 혈전용해효소를 다량 함유하고 있기 때문에, 기능성 식품의 소재로서 크게 주목 받고 있다(Sung 등 1984). 청국장은 증자된 대두에 *Bacillus subtilis*를 사용하여 비교적 단 시간 내(2~3일)에 완성할 수 있으며(Kwak 등 2006), 이 균이 생성하는 효소에 의해 대두의 단백질과 당질이 분해되어 실처럼 가늘고 끈끈한 점질물이 형성된다(Ko 등 1999). 이 점질물은 polyglutamate

와 fructan의 혼합물이고, nattokinase로 알려진 혈전용해 효소가 포함되어 있다(Sumi 등 1987). 또한 청국장은 특유의 냄새 성분 때문에 우수한 약리효능을 가진 식품임에도 불구하고, 이를 기피하는 경향이 소비자의 약 절반으로 조사된 바 있다(Choe 등 1996). 이러한 청국장의 냄새는 *Bacillus* sp.로부터 발효과정 중에 발생하는 암모니아 화합물, 함황화합물, alkylpyrazine 등으로부터 유래된다고 보고되고 있다(Nevala 등 2000).

대두는 암조건 하에서 발아하는 동안 호흡과 대사 작용으로 인해 단백질 함량의 감소에 따라 비단백질소성분은 증가하며(Yang & Kim 1980), 지방 성분은 서서히 감소하나, 올

[†] Corresponding author: Ung-Kyu Choi, Dept. of Food Science & Technology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 368-701, Korea. Tel: +82-43-820-5242, Fax: +82-43-820-5240, E-mail: ukchoi@ut.ac.kr

리고당은 빠르게 감소한다(Lee & Chung 1982; Kim 등 2004). 특히, 대두의 중요한 생리활성 물질인 isoflavone의 변화에 있어서는 발아초기에는 증가하다가 차츰 감소된다고 보고된 바 있다(Kim 등 2004).

훈연은 일정한 습도와 온도 하에서 연기성분을 식품에 흡착시키는 것이며, 훈연의 목적은 식품에 독특한 향과 색택을 부여하고, 저장성을 증진시키기 위함이다. 특히, ham이나 dry sausage 등과 같은 육제품에 이용되고 있다(Kang 등 1998). 훈연 성분은 주로 phenol류, organic acids, alcohols, carbonyls, hydrocarbons 등과 같은 화합물로 이루어져 있다(IARC 1979). 훈연공정을 이용한 연구로써 Lee 등(2007)은 훈연처리에 의해서 조피볼락의 저장성 및 기호도를 증진시키고자 하였으며, 훈연시킨 콩으로 제조한 청국장 및 발효식품에 관한 연구는 아직 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 발아콩을 이용한 청국장 제조 시 훈연공정을 첨가함으로써 맛과 향이 우수한 고부가 발아콩 훈연 청국장을 개발하고자 하였다. 발아시킨 콩을 훈연 처리하여 강력한 protease와 amylase를 분비하는 *Bacillus licheniformis* (Lee 등 1999)를 접종한 후 48시간 동안 발효하여 청국장을 제조한 다음, 유리당, 유기산, 유리아미노산 함량 등의 맛 성분을 분석하였고, 관능평가를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

실험에 사용된 콩은 2013년 경상북도에서 생산된 태광 콩 (*Glycine max*)을 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 시약은 모두 특급시약을 사용하였다.

2. 발아콩을 이용한 훈연 청국장의 제조

발아된 콩을 이용한 훈연 청국장의 제조법은 대두의 발아를 위해서 정선한 콩을 깨끗이 세척한 후, 20℃의 증류수에 4시간 동안 침지시킨 다음, 각각 지름 30 cm 정도의 플라스틱으로 된 콩나물 재배상자에 20% 정도 넣고 20℃의 항온실에서 매 2시간마다 물 뿌림을 하면서 48시간 동안 발아시켰다. 이때 항온실은 빛을 차단하여 암 조건에서 발아시켰다. 발아된 콩은 1시간 동안 물 빼기를 한 후 121℃에서 40분 동안 가압 증자하여 40℃ 내외로 냉각한 후 훈연을 실시하였다. 훈연은 훈연기(Smoke oven, Jeil corp, Korea)에 톱밥을 넣고 불을 붙인 다음, 훈연기의 아랫부분에 넣고, 증자된 콩을 윗부분에 넣어서 60℃ 내외를 유지하며 2시간 동안 훈연하였다. 훈연된 콩에 *Bacillus licheniformis* B1(Lee 등 1999)을 대두 1 g 당 10^6 CFU가 되게 접종하고, 40℃의 항온실에서 48시간 발효시켰다. 본 연구에서는 발아 훈연 청국장의 제조

중 품질의 오차를 최소화하기 위하여 1회 10 kg 이상의 콩을 사용하였다.

3. 휘발성 유기산 함량 분석

시료 10 g을 초순수로 3배 희석한 후 membrane filter(0.45 μ m, Millipore)로 여과한 시료 5.7 mL에 2% H₂SO₄ 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 μ L를 GC(DS 6200, Donam Systems Inc., Korea)에 주입하였다. 표준물질은 acetic acid, propionic acid 및 butyric acid를 사용하고, 0.1%로 조제한 후 이 용액 5.7 mL와 2% H₂SO₄ 0.3 mL를 첨가하여 이 용액 3 μ L를 GC에 주사했다. 이 때 칼럼 충전제는 10% PEG 6000(3mm \times 1m, stainless), 주입기 온도는 200℃, 검출기(FID) 온도는 220℃, 운반 기체는 질소(20 mL/min), 칼럼온도는 150℃로 분석하였다.

4. 비휘발성 유기산 함량 분석

시료 200 g을 800 mL의 ethanol로 85℃에서 환류 추출한 후 여과액을 감압 건조시킨 후, 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 시료 1 mL를 5 mL test tube형 수기에 넣고 다시 감압 건조시켰다. 여기에 14% BF₃ 2 mL를 넣고 밀봉하여 80℃에서 30분간 반응시킨 후 냉각하고, (NH₄)₂SO₄ 4 mL를 첨가, 여기에 CHCl₃ 용액 2 mL를 첨가하였다. 하층의 메틸화된 유기산이 녹아 나온 CHCl₃층을 주사기로 채취한 액을, pasteur pipette에 비등적으로 입구를 막고 Na₂SO₃로 2/3 채운 다음, 이 pipette에 채취한 액을 흘려보내 수분을 제거하고, 통과한 액을 받아서 GC로 분석하였다. 칼럼은 DB-FFAP(0.53 mm \times 30 m), 칼럼 온도는 100℃(5 min)-4℃/min-220℃(5 min), 주입기 온도 230℃, 검출기(FID) 온도 250℃, 운반 기체는 질소(2 mL/min)로 분석하였다.

5. 유리당 측정

시료 2 g에 80% ethanol 용액 80 mL를 가하여 15분간 균질화 한 후 이형플라스크에 넣어 80℃에서 2시간 환류냉각 추출(Rotary evaporator, N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)한 다음, 냉각시킨 후 8,000 \times g에서 30 min간 원심분리(Centrifuge cooled, Combi 514R, Hanil Corp., Korea)하였다. 잔사에 80% ethanol 용액 20 mL를 가하여 상기와 같이 2회 반복 추출한 후 상층액을 모두 모아 40℃에서 evaporator(Rotary evaporator, N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)로 감압 농축하였다. 3차 증류수를 이용해 10 mL로 정용한 다음 0.22 μ m membrane filter 및 C₁₈ Sep-pak cartridges를 차례로 통과시킨 후 HPLC(Water Co., USA)로 분석하였다. 컬럼은 sugar-pak(monosaccharide)과 dextro-pak(oligosaccharide)을 사용하였고, 당의 검출은 RI detector를 사용하였으며, 용매는 H₂O, 유속은 monosaccharide 검출 시에는 0.5 mL/min, oligosaccharide 경우는 1.0 mL/min로 하였다.

6. 유리아미노산 함량 분석

시료 200 g을 800 mL의 ethanol에 넣고 85°C에서 2시간 동안 환류추출한 후 여과액을 감압 건조하여 초순수 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용한 다음 Amberlite IR-118H와 Amberlite IRA-400이 각각 충전된 칼럼에 연속 통과시켰다. 양이온 교환수지에 흡착된 아미노산은 5% NH₄OH 용액 300 mL로 용출시켜 감압농축한 후 0.2 N sodium citrate(pH 2.2)로 5배 희석한 다음, membrane filter(0.2 µm)로 여과한 액 20 µL를 아미노산 자동 분석기(Bio chrom 30 amino acid analyzer, Amersham bioscience, England)로 분석하였다. Sodium citrate buffer의 flow rate은 35 mL/h, ninhydrin의 flow rate은 25 mL/h, 온도 기울기는 46, 50, 95와 46°C, 분석파장은 440 nm와 570 nm, 칼럼은 Cation exchange resin을 사용하여 분석하였다.

7. 지방산 함량 분석

지방산 함량 분석을 위해서는 시료 10 g에 혼합 유기용매 [chloroform : methanol, 2:1(v/v)] 150 mL를 넣고 균질기로 3분간 2,500×g에서 마쇄하여 Whatman No.1 여과지를 이용하여 여과한 후 그 잔사에 다시 혼합 유기용매 100 mL를 이용하여 재차 마쇄, 용출시켰다. 이 여액에 물을 총 여액에 대하여 1/3 정도 가하여 균형을 맞추고 3,000×g에서 10분간 원심분리한 후 하층액(lipid layer)을 사용하였다. 이때 하층액을 여과하되 sodium sulfate를 이용하여 남은 수분을 흡착 여과하였다. 얻어진 여액을 560~565°C에서 evaporator(Rotary evaporator, N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하고, 농축된 지질은 질소가스를 주입한 후 파라필름으로 밀봉하고, methylation까지 -20°C에서 냉동 보관하였다. 지질시료 4~10 mg을 0.5-N NaOH (2 g NaOH/100 mL methanol) 용액 1 mL를 가하여 밀봉한 다음 90°C에서 30분간 가열하여 냉각한다. 그 후 다시 2 mL BF₃-methanol을 넣고 90°C에서 30분 동안 가열한 후 0.5 mL를 취하여 여기에 1 mL의 heptane을 가하고 흔든 후 2 mL의 NaCl 포화용액을 가하여 1분간 혼합한 다음 30분간 방치하였다. 얻어진 상층액을 0.5 µL 취하여 GC(Agilent 7890, Agilent, USA)로 분석하였다. 컬럼은 HP-INNOWAX(30 m×0.25 mm ID, 0.25 µm film), 검출기 온도는 260°C, 주입기 온도는 260°C, 오븐의 온도는 100°C/2min-3°C/min-230°C/20min, 운반기체는 질소를 사용하였다.

8. 벤조피렌 추출 및 정제

시료의 전처리 과정은 균질화된 시료 10 g을 정밀히 달아 내부표준물질 1 mL, 1M KOH/EtOH 100 mL와 함께 둥근바닥 플라스크에 취한 후 환류냉각 장치에서 80°C, 3시간 동안 알칼리 분해를 한 다음 신속히 냉각하여 핵산 50 mL를 환류냉각기를 통해서 넣어주었다. 에탄올 : 핵산(1:1) 용액 50 mL와

물 50 mL를 분액깔때기에 옮겨 진탕시킨 다음, 핵산 층을 분리하고 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 이용하여 탈수 여과하여 40°C 이하의 수욕 상에서 감압하여 2 mL로 농축하였다. 후로리실카트리지(미리 디클로로메탄 10 mL 및 핵산 20 mL를 초당 2~3방울 속도로 유출시켜 활성화시킨 후 사용하였고, 이 카트리지에 농축액 2 mL를 1 mL/min의 속도로 가하였다. 이어서 핵산 5 mL와 핵산 : 디클로로메탄(3:1) 15 mL로 각각 용출하였다. 이 용출액을 40°C 이하의 수욕 상에서 질소가스 하에 날려 보낸 후 잔류물을 아세토니트릴에 용해시켜 전량을 1 mL로 하여 0.45 µm 멤브레인 필터로 여과한 다음 여과액을 20 µL 취하여 HPLC(Agilent 1100, Agilent, USA)로 분석하였다. 컬럼은 Waters LC-PAH C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 µm), 검출기는 Agilent 1100 FLD(Ex 294 nm - Em 404 nm), 오븐의 온도는 35°C, Flow rate은 1.0 mL/min, 이동상은 ACN : DW=8 : 2를 사용하였다.

9. 관능검사

청국장의 관능적 품질 평가를 조사하기 위해 관능 요인 9명을 선별하였고, 검사의 오류를 방지하기 위해 시료의 순서는 무작위로 정하였다. 평가 항목은 색(color), 냄새(aroma), 맛(taste) 및 종합적 기호도(overall quality)에 대해 7점 척도법으로 측정하였다. 그 기준은 아주 싫다 또는 전혀 없다(1점), 보통 싫다 또는 보통 약하다(2점), 약간 싫다 또는 약간 약하다(3점), 약하지도 강하지도 않다 또는 좋지도 싫지도 않다(4점), 약간 좋다 또는 약간 강하다(5점), 보통 좋다 또는 보통 강하다(6점), 아주 좋다(7점)로 평가하였다.

10. 통계 처리

모든 실험은 3회 반복 측정하여 평균(mean)±표준편차(standard deviation)로 나타내었으며, 관능검사 결과는 관능요인 9명의 평균치로 나타내었다. 실험결과에 대한 통계 처리는 SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package(version 12)를 이용하여, student *t*-test 또는 Duncan's multiple range test(Lee 등 1999)를 이용하여 유의수준 *p*<0.05에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 유기산 함량

25°C에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121°C에서 50분간 증자한 후 2시간 동안 혼연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종한 후 제조한 청국장의 유기산 함량을 확인한 결과는 Table 1에 나타내었다. 발아, 혼연한 콩으로 제조한 청국장(이하: 발아콩 혼연 청국장)의 총 유기산 함량은 637.4±18.6 mg%로 발

Table 1. Composition of organic acids in smoked *cheonggukjang* fermented with germinated soybeans

Organic acid	(Unit: mg%)		
	NCNS ¹⁾	NCGS ²⁾	SCGS ³⁾
Acetic acid	- ⁴⁾	453.1±11.9 ^a	399.9±13.0 ^b
Fumaric acid	3.7±0.2 ^b	7.0±0.2 ^a	2.6±0.2 ^c
Lactic acid	2.9±0.1 ^c	293.3±9.7 ^a	94.9±1.7 ^b
Succinic acid	113.6±5.1 ^b	193.3±5.8 ^a	66.9±2.1 ^c
Malic acid	16.6±1.1 ^c	50.3±2.5 ^a	31.2±1.2 ^b
Citric acid	6.3±0.7 ^c	28.4±1.0 ^b	41.9±2.9 ^a
Total	143.1±7.0 ^c	1,025.4±28.3 ^a	637.4±18.6 ^b

In a column, means followed by the same letter are not significantly different at 5% level. Values are means±standard deviations of triplicate determinations. ¹⁾ NCNS: Non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybean, ²⁾ NCGS: Non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ³⁾ SCGS: Smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ⁴⁾ -: Not detected

아, 혼연하지 않은 콩으로 제조한 청국장(이하: 일반 청국장)의 143.1±7.0 mg%에 비해 4배 이상 증가하였으나, 발아시킨 콩으로 제조한 청국장(이하: 발아콩 청국장)의 1,025.4±28.3 mg%와 비교하여서는 상당히 감소된 것으로 확인되었다. Chang CM(1998)은 전통 청국장의 유기산 중에서 citric acid의 함량이 가장 높았고, 시험구의 총 유기산 함량은 882.9 mg%를 나타낸다고 보고한 바 있으며, 이는 발아콩 청국장의 유기산 함량보다 낮은 함량을 나타낸다. 본 실험의 citric acid의 함량(6.3±0.7 mg%)과 Chang CM(1998)의 citric acid의 함량(782.0 mg%)은 상당히 상이한 결과를 나타내는데, 이는 콩의 종류에 따른 청국장 발효 시 발효 균주와 발효 환경 및 기간에 따라 발효양상이 다양화되기 때문인 것으로 사료된다. 분석된 유기산은 acetic acid, fumaric acid, lactic acid, succinic acid, malic acid 및 citric acid 등 6종이었으며, acetic acid는 일반 청국장에서는 검출되지 않았으나, 발아콩 청국장과 발아콩 혼연 청국장에서는 각각 453.1±11.9 mg%와 399.9±13.0 mg%가 검출되었다. 발아콩 혼연 청국장의 lactic acid는 94.9±1.7 mg%로 일반 청국장(2.9±0.1 mg%)에 비해 30배 이상 증가하였으나, 발아콩 청국장(293.3±9.7 mg%)과 비교하여서는 상당히 감소된 것으로 확인되었다. 이는 Choi 등(2014)의 연구에서 혼연에 따른 청국장의 lactic acid는 13.2±0.2 mg%로 일반 청국장(3.5±0.1 mg%)보다 4배 가까이 증가하여 본 실험과 동일한 결과를 나타내었는데, 원료 콩의 혼연에 따른 수분함량 감소, 원료 콩의 혼연 시 콩에 흡수되는 혼연 관련 성분 등 다양한 원인에 의한 것으로 사료된다.

2. 유리당 함량

25℃에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121℃에서 50분간 증자한 후 2시간 동안 혼연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종한 후 제조한 청국장의 유리당 함량을 확인한 결과는 Table 2에 나타내었다. 분석된 유리당은 maltose, fructose 및 glucose였으며, 이중 glucose 함량이 가장 많았으며, fructose와 maltose의 순이었다. 발아콩 청국장과 발아콩 혼연 청국장의 총 유리당 함량은 각각 909.0±21.3 mg%와 951.4±35.7 mg%로 일반 청국장(354.3±14.9 mg%)에 비해 3배 가까이 증가하는 것으로 확인되었으며, 혼연에 따른 총 유리당 함량의 차이는 유의적이지 않은 것으로 나타났다. Maltose는 일반 청국장에서 19.6±1.7 mg%가 검출되었으나, 발아콩 청국장과 발아콩 혼연 청국장에서는 검출되지 않았다. Kim 등(2007)은 발아된 콩으로 제조한 청국장의 발효과정 중 유리당 함량을 본 결과, sucrose와 fructose는 발아 초기에 급격하게 감소되고, raffinose는 12시간 발효 시 약간 증가하였다가 이후 서서히 감소한다고 보고하였으며, glucose의 경우에는 24시간 발효 시 다소 증가한 후 36시간까지 유의적인 변화가 없다가 48시간 발효 후에는 다소 증가된다고 보고하였다. 이러한 결과로 인해 본 실험결과에서 glucose의 함량이 가장 높게 나타난 것으로 사료된다. Choi 등(1998)이 *Bacillus subtilis* DC-2균을 이용하여 제조한 청국장의 발효 중 유리당의 함량 변화를 측정된 결과, sucrose 함량이 가장 높았으며, stachyose, raffinose, fructose, glucose의 순이었다고 보고하여 본 실험과는 조금 차이를 보였는데, 이는 사용한 균주가 다르고, 청국장의 제조법이 상이하기 때문이라고 사료된다. 혼연 처리를 이용한 청국장의 유리당 함량에 관한 연구는 아직 보고된 바 없으며, 이에 대한 후속 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

3. 유리아미노산 함량

25℃에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121℃에서 50분간 증자한 후 2시간 동안 혼연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종

Table 2. Free sugar contents of smoked *cheonggukjang* fermented with germinated soybeans

Free sugar	(Unit: mg%)		
	NCNS ¹⁾	NCGS ²⁾	SCGS ³⁾
Maltose	19.6±1.7 ^a	- ⁴⁾	-
Fructose	60.5±2.1 ^c	96.7±3.8 ^a	75.0±2.9 ^b
Glucose	274.2±12.3 ^c	812.3±19.5 ^b	876.4±34.6 ^a
Total	354.3±14.9 ^b	909.0±21.3 ^a	951.4±35.7 ^a

In a column, means followed by the same letter are not significantly different at 5% level. Values are means±standard deviations of triplicate determinations. ¹⁾ NCNS: Non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybean, ²⁾ NCGS: Non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ³⁾ SCGS: Smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ⁴⁾ -: Not detected

한 후 제조한 청국장의 유리아미노산 함량을 확인한 결과는 Table 3에 나타내었다. 아미노산은 총 18종이 분석되었으며, sweet taste(threonine, serine, glycine, alanine 및 lysine), savory taste(aspartic acid, glutamic acid, cysteine), bitter taste (methionine, isoleucine, leucine) 및 others(proline, valine, tyrosine, phenylalanine, histidine, arginine 및 tryptophan)로 구분하여 함량을 비교하였다. 일반 청국장의 총 유리아미노산은 8,671.7±334.5 mg%로 나타났으며, 발아콩 청국장은 7,810.6±297.8 mg%로 나타나 원료의 발아에 따른 청국장의 유리아미노산 함량은 유의적으로 감소하는 것이 확인되었다. 이는 Park 등(2007)의 연구에서 발아 48시간 이후의 총 유리아미노산 함량이 감소하는 것과 동일한 결과를 나타낸다. 발아콩 혼연 청국장의 총 유리

아미노산은 9,385.4±336.2 mg%로 발아콩 청국장에 비해 1.2 배 정도 많이 검출되어 청국장의 총 유리아미노산 함량은 혼연 공정에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 확인되었다. 분석된 아미노산 18종 중 serine과 cysteine을 제외한 16종이 발아콩 청국장에 비해 증가하는 것으로 확인되었다. Sweet taste를 내는 아미노산의 함량은 일반 청국장과 발아콩 혼연 청국장에서 각각 2,108.5±76.9 mg%와 2,164.5±108.1 mg%로 유의적인 차이가 없었으나, 발아콩 청국장의 1,706.7±68.3 mg%와 비교했을 때는 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Savory taste를 내는 아미노산의 함량은 일반 청국장과 발아콩 혼연 청국장에서 각각 2,809.9±101.2 mg%와 2,969.6±161.4 mg%로 유의적인 차이가 없었으나, 발아콩 청국장의 2,466.8±

Table 3. Free amino acid contents of smoked *cheonggukjang* fermented with germinated soybeans (Unit: mg%)

Free amino acid	NCNS ¹⁾	NCGS ²⁾	SCGS ³⁾	
Sweet taste	Thr	331.7±16.7 ^a	219.3±12.9 ^b	287.0±30.1 ^a
	Ser	483.3±31.2 ^a	336.7±21.0 ^c	425.4±26.9 ^b
	Gly	355.8±15.3 ^a	308.4±16.5 ^b	356.4±18.0 ^a
	Ala	401.6±20.3 ^a	336.3±11.2 ^b	441.4±27.5 ^a
	Lys	536.1±13.9 ^b	506.0±16.7 ^b	654.3±31.2 ^a
Subtotal	2,108.5±76.9 ^a	1,706.7±68.3 ^b	2,164.5±108.1 ^a	
Savory taste	Asp	1,001.2±29.3 ^a	922.4±28.6 ^b	1,061.1±77.5 ^a
	Glu	1,699.9±60.7 ^a	1,493.8±99.0 ^b	1,837.0±101.2 ^a
	Cys	108.8±16.5 ^a	50.6±7.3 ^c	71.5±2.4 ^b
Subtotal	2,809.9±101.2 ^a	2,466.8±105.4 ^b	2,969.6±161.4 ^a	
Bitter taste	Met	149.3±11.7 ^a	140.5±6.9 ^a	155.0±16.1 ^a
	Ile	381.9±17.4 ^b	384.3±10.7 ^b	449.3±15.6 ^a
	Leu	672.0±31.9 ^b	654.9±26.4 ^b	783.3±23.3 ^a
Subtotal	1,203.2±55.1 ^b	1,179.7±43.3 ^b	1,387.6±43.4 ^a	
Others	Pro	441.5±22.7 ^{ab}	417.5±22.1 ^b	489.2±19.6 ^a
	Val	465.0±23.1 ^b	450.2±15.9 ^b	528.1±21.4 ^a
	Tyr	321.6±21.4 ^b	309.5±20.1 ^b	372.8±15.0 ^a
	Phe	436.1±19.5 ^b	429.7±17.7 ^b	513.4±16.8 ^a
	His	205.4±11.9 ^b	199.6±10.4 ^b	233.0±11.3 ^a
	Arg	481.1±23.5 ^{ab}	465.9±23.3 ^b	517.9±20.9 ^a
	Trp	199.4±15.6 ^{ab}	185.0±9.8 ^b	209.3±11.4 ^a
Subtotal	2,550.1±123.5 ^b	2,457.4±107.6 ^b	2,863.7±97.9 ^a	
Glu/TA ⁴⁾ (%)	19.6	19.1	19.6	
EAA ⁵⁾	3,176.9±142.6 ^b	2,969.9±113.2 ^b	3,579.7±167.3 ^a	
EAA/TA (%)	36.6	38.0	38.1	
Total	8,671.7±334.5 ^b	7,810.6±297.8 ^c	9,385.4±336.2 ^a	

In a column, means followed by the same letter are not significantly different at 5% level. Values are means±standard deviations of triplicate determinations. ¹⁾ NCNS: Non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybean, ²⁾ NCGS: Non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ³⁾ SCGS: Smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ⁴⁾ TA: Total Amino acid, ⁵⁾ EAA: Essential Amino acid

105.4 mg%와 비교했을 때는 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Bitter taste를 내는 아미노산의 함량은 일반 청국장과 발아콩 청국장에서 각각 1,203.2±55.1 mg%와 1,179.7±43.3 mg%로 유의적인 차이가 없었으나, 발아콩 혼연 청국장에서는 1,387.6±43.4 mg%가 검출되어 유의적인 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 기타의 맛을 내는 아미노산의 함량은 일반 청국장과 발아콩 청국장에서 각각 2,550.1±123.5 mg%와 2,457.4±107.6 mg%로 유의적인 차이가 없었으나, 발아콩 혼연 청국장에서는 2,863.7±97.9 mg%가 검출되어 유의적인 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 유리아미노산 중 필수 아미노산의 함량은 일반 청국장에서 3,176.9±142.6 mg%를 나타내었으며, 발아콩 청국장에서 2,969.9±113.2 mg%를 나타내었다. 발아콩 혼연 청국장의 필수아미노산은 3,579.7±167.3 mg%를 나타내어, 필수아미노산의 함량도 혼연공정에 따라 유의적인 증가를 보이는 것으로 확인되었다. 총 유리아미노산에 대한 필수아미노산의 비율은 일반 청국장, 발아콩 청국장 및 발아콩 혼연 청국장에서 각각 36.6%, 38.0% 및 38.1%를 나타내었다. 함량별로 보면 세 종류의 청국장 모두에서 glutamic acid의 함량이 가장 많았으며, aspartic acid가 그 다음으로 많이 검출되었다. 분석된 아미노산 18종 중 tryptophan과 cysteine를 제외한 16종이 혼연 청국장에서 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 청국장 감칠맛의 주요 물질인 glutamic acid의 총 아미노산에 대한 비율은 일반 청국장과 발아콩 혼연 청국장에서 19.6%를 나타내었고, 발아콩 청국장에서 19.1%를 나타내었으며, 유의적인 차이는 확인할 수 없었다. Suh 등(1982)은 *B. subtilis*를 이용하여 제조한 청국장에는 glutamic acid, leucine, alanine의 함량이 가장 많았다고 보고하여 본 실험과 유사한 경향을 나타내었다. 또한, Kim 등(1998)도 청국장의 유리아미노산 함량 변화에서 glutamic acid, aspartic acid, leucine의 함량이 특히 많았음을 보고하여 본 실험 결과와 유사하였다. 청국장의 유리아미노산 함량 변화에 있어서 Kim 등(1982)은 벧짚을 이용한 전통 청국장에서는 arginine, glutamic acid, alanine 등이 많았고, 청국장의 유리아미노산 함량은 원료 대두의 것보다 높다고 보고한 바 있다. 본 실험의 결과는 Kim 등(1982)의 연구와 상이한 결과를 나타내는데, 이는 청국장 제조에 사용되는 원료 성분의 차이에 따른 숙성과정 중의 효소작용이 상이하기 때문인 것으로 사료된다. 혼연 처리를 이용한 청국장의 유리아미노산 함량에 관한 연구는 아직 보고된 바 없으며, 이에 대한 후속 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

4. 지방산 함량

25℃에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121℃에서 50분간 증자한 후 2시간 동안 혼연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종

Table 4. Fatty acid composition of total lipid of smoked *cheonggukjang* fermented with germinated soybeans

(Unit: mg%)				
Fatty acid	NCNS ¹⁾	NCGS ²⁾	SCGS ³⁾	
SFA	16:0	9.9±0.2 ^a	10.1±0.2 ^a	10.0±0.2 ^a
	18:0	3.1±0.1 ^a	3.4±0.1 ^a	3.4±0.1 ^a
	20:0	0.2±0.1 ^a	t ⁴⁾	t
	Subtotal	13.2±0.3 ^a	13.5±0.2 ^a	13.4±0.2 ^a
MUFA	16:1	0.1±0.1 ^a	0.1±0.1 ^a	t
	18:1	23.5±0.3 ^a	23.7±0.8 ^a	23.4±0.4 ^a
	Subtotal	23.6±0.4 ^a	23.8±0.7 ^a	23.4±0.4 ^a
PUFA	18:2	52.4±1.0 ^a	51.7±2.5 ^a	52.0±0.6 ^a
	18:3	9.5±0.6 ^a	9.4±0.4 ^a	9.4±0.2 ^a
	Subtotal	61.9±1.4 ^a	61.1±2.2 ^a	61.4±0.5 ^a
Total (%)	98.7 ^a	98.4 ^a	98.2 ^a	

In a column, means followed by the same letter are not significantly different at 5% level. Values are means±standard deviations of triplicate determinations. ¹⁾ NCNS: Non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybean, ²⁾ NCGS: Non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ³⁾ SCGS: Smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ⁴⁾ t: trace

한 후 제조한 청국장의 지방산 함량을 확인한 결과는 Table 4에 나타내었다. 주요 구성 지방산은 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid 및 linolenic acid로 나타났다. 포화지방산 함량은 일반 청국장과 발아콩 청국장 및 발아콩 혼연 청국장에서 각각 13.2±0.3%와 13.5±0.2% 및 13.4±0.2%로 발아와 혼연에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 단일불포화지방산과 다가불포화지방산의 조성도 발아와 혼연에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. Kim 등(1995)의 보고와도 일치하는 결과이다. 구성 지방산 중 linoleic acid의 함량이 모든 처리구에서 51.7% 이상 차지하였으며 oleic acid와 linolenic acid의 함량이 각각 23%와 9% 이상 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 일반 청국장, 발아콩 청국장 및 발아콩 혼연 청국장의 총 불포화지방산 함량은 각각 85.3±1.6%, 84.9±2.7% 및 84.8±0.8%로 나타났으며, SFA : MUFA : PUFA의 비율은 혼연 청국장과 일반 청국장 모두에서 0.2 : 0.4 : 1.0으로 나타났다. Choi 등(2001)은 보리등겨로 제조한 전통 발효식품인 시금장의 지방산 함량 중 SFA : MUFA : PUFA의 비율이 0.4 : 0.4 : 1.0이라고 보고한 바 있다.

5. 벤조피렌 함량

25℃에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121℃에서 50분간 증자한 후 혼연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종한 후 제조한 청국장의 벤조피렌 함량을 확인한 결과를 Table 5에 나타내

Table 5. Benzo(a)pyrene contents of smoked *cheonggukjang* fermented with germinated soybeans (Unit: $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Benzo(a)pyrene	Smoked <i>cheonggukjang</i>
Total	1.425 \pm 0.017

었다. 검출된 벤조피렌은 1.425 \pm 0.017 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 현재 전통 장류에 대한 벤조피렌 기준은 없으나, 식품의약품안전처 기준에 의하면 식용유지의 경우 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하, 훈제어육 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하, 훈제식육제품 및 그 가공품 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하, 흑삼 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하로 되어있다. 본 연구에서는 벤조피렌의 함량이 증가하였으나, 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하로 식품위생법 상의 기준에 만족하였다.

6. 관능검사

25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 발아시킨 콩을 121 $^{\circ}\text{C}$ 에서 50분간 증자한 후 훈연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종한 후 제조한 청국장의 관능적 특성을 9명의 패널을 대상으로 검사하여 비교한 결과는 Table 6에 나타내었다. 시험된 모든 항목(외관, 냄새, 맛 및 종합적 기호도)에서 원료 콩을 훈연함에 따라 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 원료의 발아에 따른 기호도의 상승은 유의적이지 않았으며, 외관은 발아에 따라 약간 기호도가 감소하는 것으로 나타났다. 냄새는 원료 콩을 발아시키고 훈연함에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 이는 청국장 특유의 이취가 완화되어 기호도가 상승함을 나타낸다. 유사 연구 결과로, 조피블락의 훈연처리에 의한 관능검사의 모든 항목에서도 대조군보다 훈연 처리한 시료에서 유의적으로 가장 우수하게 평가되었다(Lee 등 2007). 즉, 청국장의 제조 시 발아, 훈연공정을 거칠 경우, 관능적 특성에서도 일반 청국장에 비해 유의적으로 상승하는 것으로 확인되어, 발아, 훈연공정은 새로운 청국장 제품의 개

Table 6. Sensory evaluation of smoked *cheonggukjang* made with germinated soybeans

Parameters	NCNS ¹⁾	NCGS ²⁾	SCGS ³⁾
Appearance	4.7 \pm 1.0 ^{ab}	4.5 \pm 0.8 ^b	5.7 \pm 0.8 ^a
Aroma	4.3 \pm 1.2 ^b	4.3 \pm 1.2 ^b	6.3 \pm 0.8 ^a
Taste	3.8 \pm 0.8 ^b	4.2 \pm 1.0 ^b	6.0 \pm 0.6 ^a
Overall	4.1 \pm 1.2 ^b	4.3 \pm 0.8 ^b	5.7 \pm 0.5 ^a

Each value indicates the average of the sensory scores in the range from 1 (dislike extremely) to 7 (like extremely) that 9 panels records. In a column, means followed by the same letter are not significantly different at 5% level. ¹⁾ NCNS: Non-smoked *cheonggukjang* made with non-germinated soybean, ²⁾ NCGS: Non-smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean, ³⁾ SCGS: Smoked *cheonggukjang* made with germinated soybean

발에 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 훈연한 대두에 *B. licheniformis*를 접종한 후 제조한 청국장의 유기산, 유리당, 유리아미노산, 지방산 함량을 측정하고, 관능검사를 통해 청국장의 맛 성분 변화를 분석하였다. 발아콩 훈연 청국장의 총 유기산 함량은 일반 청국장에 비해 4배 이상 증가하였으나, 발아콩 청국장과 비교하여서는 상당히 감소된 것으로 확인되었다. 발아콩 청국장과 발아콩 훈연 청국장의 총 유리당 함량은 일반 청국장에 비해 3배 가까이 증가하는 것으로 확인되었으며, 훈연에 따른 총 유리당 함량의 차이는 유의적이지 않은 것으로 나타났다. 발아콩 훈연 청국장의 총 유리아미노산은 발아콩 청국장에 비해 1.2배 정도 많이 검출되어 청국장의 총 유리아미노산 함량은 훈연 공정에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 확인되었다. 필수아미노산의 함량도 훈연공정에 따라 유의적인 증가를 보이는 것으로 확인되었다. 포화 지방산 함량은 일반 청국장과 발아콩 청국장 및 발아콩 훈연 청국장에서 발아와 훈연에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났으며, 단일불포화 지방산과 다가불포화 지방산의 조성도 발아와 훈연에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 확인되었다. 벤조피렌은 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하로 식품위생법 상의 기준에 만족하였다. 관능검사에서 시험된 모든 항목(외관, 냄새, 맛 및 종합적 기호도)에서 원료 콩을 훈연함에 따라 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

References

- Chang CM. 1998. The research institute of soybean fermentation foods. *Symposium and Expo for Soybean Fermentation Foods*. Yeungnam University. pp.155-180
- Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, Shin SY. 1996. Survey on preparation method and consumer response of *chunggukjang*. *Korea Soybean Digest* 13:29-43
- Choi SJ, Ko HM, Choi WS, Lee NH, Choi UK. 2014. Change in sensory characteristics of *cheonggukjang* made with smoked soybeans. *Korean J Food Nutr* 27:280-286
- Choi UK, Kwon OJ, Son DH, Cha WS, Cho YJ, Lee SI, Yang SH, Chung YG. 2001. Changes in quality attributes of *sigumjang* with fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 33: 107-112
- Choi UK, Son DH, Ji WD, Im MH, Choi JD, Chung YG. 1998. Changes of taste components and palatability during *chung-*

- gugjnag* fermentation by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:840-845
- IARC Environmental Carcinogens. Selected Methods of Analysis. Lyon. France. 1979. Vol.3. PAHs : IARC publication 29
- Kang HG, Lee MS, Lee KH, Kim CH. 1998. Effect of smoking process on the contents of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke flavouring. *Korean J Food Sci Ani Resour* 18:42-49
- Kim BN, Park CH, Ham SS, Lee SY. 1995. Flavor component, fatty acid and organic acid of natto added with spice. *J Korean Soc Food Nutr* 24:219-227
- Kim JS, Kim JK, Kim WJ. 2004. Changes in isoflavone and oligosacharies of soybeans during germination. *Korean J Food Sci Technol* 36:294-298
- Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Chang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional *chonggugjnag* produced in different regions. *Agric Chem Biotechnol* 41:377-383
- Kim KJ, Ryu MK, Kim SS. 1982. *Chungkookjang* koji fermentation with rice straw. *Korean J Food Sci Technol* 14:301-308
- Kim MH, Kang WW, Lee NH, Kwon DJ, Kwon OJ, Chung YS, Hwang YH, Choi UK. 2007. Changes in quality characteristics of *cheonggukjang* made with germinated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 39:676-680
- Ko HS, Cho DO, Hwang SY, Kim YM. 1999. The effect of quality improvement by *chungkukjang* processing methods. *Korean J Food Nutr* 12:1-6
- Kwak CS, Kim MY, Kim SA, Lee MS. 2006. Cytotoxicity on human cancer cells antitumorogenesis of *cheonggukjang*, a fermented soybean product, in DMBA-treated rats. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 39:347-356
- Lee HY, Kim JS, Kim YS, Kim WJ. 2005. Isoflavone and quality improvement of soymilk by using germinated soybean. *Korean J Food Sci Technol* 37:443-448
- Lee IS, Kim IC, Chae MH, Chang HC. 2007. Storage and acceptability of a smoked *Sebastes schlegeli* product. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:1458-1464
- Lee JJ, Lee DS, Kim HB. 1999. Fermentation pattern of *cheonggukjang* and *ganjang* by *Bacillus licheniformis* B1. *Korean J Microbiol* 35:296-301
- Lee SH, Chung DH. 1982. Studies on the effects of plant growth regulator on growth and nutrient compositions in soybean sprout. *J Korean Agric Chem Soc* 25:75-82
- Nevala R, Vaskonen T, Vehniainen J, Korpela R, Vapaatalo H. 2000. Soy based diet attenuates the development of hypertension when compared to casein based diet in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 66:115-124
- Park SH, Kang WW. 2007. Change in free amino acid with germinated quinoa. *2007 International Symposium and Annual Meeting* 10:183-183
- Suh JS, Lee SG, Ryu MK. 1982. Effect of *Bacillus* strains on the *chungkookjang* processing II. Changes of the components and enzyme activities during the storage of *chungkookjang*. *Korean J Food Sci Technol* 14:309-314
- Sumi H, Hamada H, Tsushima H, Mihara H, Muraki H. 1987. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese natto: A typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia* 43:110-1111
- Sung NJ, Ji YA, Chung SY. 1984. Changes in nitrogenous compounds of soybean during *chungkukjang* koji fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 13:275-284
- Yang CB, Kim JU. 1980. Changes in nitrogen compounds in soybean sprout. *J Korean Agric Chem Soc* 23:7-13

Received 24 March, 2015

Revised 21 May, 2015

Accepted 23 June, 2015