

## 청국장 점질물의 이화학적 특성

이부용 · 김동만 · 김길환

한국식품개발연구원

### Physico-Chemical Properties of Viscous Substance Extracted from *Chungkook-jang*

Boo-Yong Lee, Dong-Man Kim and Kil-Hwan Kim

Korea Food Research Institute

#### Abstract

The physico-chemical properties of viscous substances extracted from *chungkook-jang* were investigated. The crude protein content of the viscous substance was approximately 61% and 32% of the crude protein content was amino type nitrogen. The contents of glutamic acid in amino acids and potassium in minerals of viscous substances were more higher than those of raw soybean and *chungkook-jang*. The viscosity of 5% viscous substance solution was higher than that of 15% sucrose solution. The transmittance of viscous substance solutions from *Bacillus natto* and *Bacillus subtilis* was lowest at pH 5.0, the absorbances were lowest at pH 5.5 and pH 4.0, respectively. The fibrinolytic activity of viscous substances by *B. natto* and *B. subtilis* was 0.438 and 0.163 unit/mg protein, respectively. Though viscous substances were heated for 5 min and 30 min at 100°C, 90% of and 45% the fibrinolytic activity was remained, respectively.

Key words: *chungkook-jang*, viscous substance, physico-chemical properties

## 서 론

우리나라의 대두발효 식품인 청국장은 발효숙성 과정 중에 *Bacillus natto*, *Bacillus subtilis* 등이 생산하는 효소작용에 의해 콩단백질이 분해되어 그 특유의 구수한 맛과 냄새를 내는 동시에 끈적끈적한 점질물이 생성된다<sup>(12)</sup>. 청국장은 다른 장류와 함께 단백질 섭취량이 비교적 적은 한국인에게는 옛부터 단백질의 중요한 공급원이며, 영양면에서도 된장이나 고추장보다 단백질과 지방함량이 높은 고영양식품이다.

이와 같은 특성을 갖는 청국장에 관하여 수행된 식품학적 연구로는 청국장 배주 발효과정 중 일반성분의 변화 및 대두단백질 중의 질소 성분변화에 대한 연구<sup>(1,3,4)</sup>와 유지성분에 관한 연구<sup>(5)</sup>, 숙성 중 향기성분의 변화<sup>(6)</sup>, 볶짚을 이용한 청국장 제조<sup>(2)</sup>, 균주를 달리한 청국장의 제조에 관한 연구<sup>(7-9)</sup> 등이 있지만 발효과정 중에 생성되는 청국장 점질물에 대한 국내 연구보고는 전무한 실정이다. 또한 청국장과 유사한 제품으로서 일본에는 나토(natto)가 있는데, 이에 관한 일본의 연구동향을

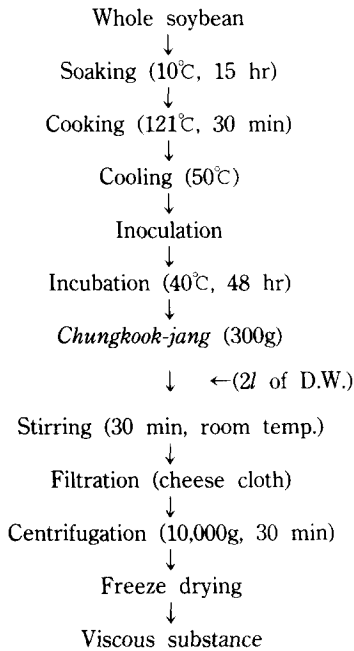
살펴보면, 나토 스타터 생산에 관한 연구<sup>(10)</sup>와 나토 제조공정 중 당성분<sup>(11)</sup>과 식이섬유의 변화<sup>(12)</sup>, 저장 및 숙성 중의 휘발성 향기성분의 변화<sup>(13,14)</sup> 등이 있으며, 나토의 발효과정 중에 생성되는 단백질 분해효소 중에는 혈전증을 예방 및 치료할 수 있는 nattokinase가 함유되어 있다는 최근 연구결과와 보고<sup>(15)</sup>도 있으나, 나토 점질물에 대한 연구는<sup>(16)</sup> 일본에서도 최근에 시작되어 많이 연구되어 있지는 않다. 이에 본 연구에서는 청국장에 우리의 전통 기호식품으로서 뿐만 아니라 기능성 식품으로서의 가치를 부여하기 위해 아직 연구보고된 바가 없는 청국장의 발효과정 중 생성되는 점질물의 성분과 생리활성 기능을 조사하여 청국장 점질물의 특성에 관한 기초자료를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

청국장 제조에 사용한 콩은 1989년에 수확한 단엽종으로서 농촌진흥청으로부터 공급받았다. 청국장 발효에 사용한 균주는 유전공학연구소 유전자은행으로부터 분양받은 *Bacillus subtilis*(KCTC 3014)와 고려대학교 식품공학과에서 분양받은 *Bacillus natto*이었다. Fibrinogen, thrombin, plasmin 등의 시약은 Sigma Chemicals Co.로부터 구입하였으며, 기타 분석용 시약은 일급의

Corresponding author: Kil-Hwan Kim, Rice Utilization Research Center, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-Dong, Bundang-Ku, Sungnam-Si 462-420, Korea



**Fig. 1. The procedure for preparation of chungkook-jang and separation of viscous substance from chungkook-jang**

생화학 시험용을 사용하였다.

#### 청국장 제조 및 점질물의 분리

청국장 제조는 Fig. 1에서와 같이 정선한 콩을 10°C에서 15시간 침지 후 물빼기를 하여 스테인레스 용기에 담고 121°C에서 30분간 증자하였다. 증자 후 50°C로 냉각시키고 미리 배양시킨 *B. natto*와 *B. subtilis*를 원료콩에 대해 각각 2%씩 접종하여 40°C에서 48시간 발효시켰다. 점질물의 분리는 청국장 300g을 증류수 2l와 혼합하여 30분간 진탕하고, 여과 및 원심분리(10,000g)하여 상등액을 냉동 건조시켰다.

#### 질소화합물 분석

조단백질 함량은 켈달법<sup>(17)</sup>, 아미노태 질소량은 포몰적정법<sup>(18)</sup>, 아미노산 조성은 HPLC(Model LC 500, Biotronic, West Germany)를 이용하여 Davies<sup>(19)</sup>와 Mason<sup>(20)</sup>의 방법에 따라 시료를 전처리 한후 분석하였다.

#### 무기질 분석

시료를 산으로 가수분해시킨 후 Atomic Absorption Spectrophotometer(Model 2380, Perkin-Elmer, U.S.A)를 이용하여 분석하였다.

#### 점도 측정

점도는 증류수를 사용하여 점질물의 농도를 5, 10, 15

**Table 1. The contents of crude protein, amino type nitrogen and ash of raw soybean, chungkook-jangs and viscous substances**

Sample	Crude protein (% dw)	Amino nitrogen (% dw)	Ash (% dw)
Raw soybean	39.39	—	4.90
Chungkook-jang (by <i>B. natto</i> )	44.26	1.88	5.60
Chungkook-jang (by <i>B. subtilis</i> )	43.57	1.33	5.93
Viscous substance (by <i>B. natto</i> )	61.50	19.70	12.99
Viscous substance (by <i>B. subtilis</i> )	61.38	19.56	13.91

—: not determined

%로 조제하고, 비고용액으로 설탕 15% 용액을 조제하여 원통형 점도계(Hakke Viscometer RV 20, W. Germany)로 20°C에서 측정하였다.

한편 온도에 따른 점질물의 점도변화 조사로 점질물 10% 용액에 대해 온도를 20°C부터 71°C까지 증가시키면서 점도를 측정하였다.

#### pH에 따른 용해도

pH가 각각 3.0에서부터 11.0까지의 universal buffer를 사용하여 2% 농도의 점질물 용액을 조제한 후 10분간 완만하게 교반하고, 원심분리(10,000g, 10분)하여 상등액의 흡광도와 투과도를 280 nm와 660 nm에서 각각 측정하여 점질물의 용해도를 조사하였다<sup>(21)</sup>.

#### Fibrinolytic activity 측정

0.15%(w/v) fibrinogen 용액 6ml에 0.2 ml thrombin (20 NIH/ml) 용액을 잘 혼합하여 페트리접시에 깔고, 30분간 방치하여 fibrin plate를 만들었다. Plate에 2 mg/ml 농도의 점질물 용액을 각각 10 μl씩 적가하여, 37°C에서 5시간 방치시킨 후 형성된 fibrin lysed zone의 직경을 비교하여 점질물의 fibrinolytic activity를 측정하였다<sup>(15,22)</sup>. 한편, 표준 plasmin 용액을 0.075, 0.15, 0.30, 0.45 unit/ml로 조제한 후, fibrin plate에 10 μl씩 적가하여 형성된 lysed zone의 직경을 측정한 후 점질물의 활성과 비교하였다.

## 결과 및 고찰

#### 점질물의 분리

증자된 콩에 *B. natto* 및 *B. subtilis*를 각각 접종하여, 발효시킨 후, 이들로부터 점질물을 분리하였던 바, *B. natto*를 접종한 경우는 청국장에 대하여 6.3%, *B. subtilis*를 접종한 경우는 5.0%의 수율을 보여, *B. natto*의 점질물 생성능이 *B. subtilis*에 비해 훨씬 높은 것으로 나타났다.

**Table 2. The contents of amino acids of raw soybean, chungkook-jangs and viscous substances**

Amino acids	Raw soybean (mg/100 mg)	Chungkook jang (by <i>B. natto</i> ) (mg/100 mg)	Chungkook-jang (by <i>B. subtilis</i> ) (mg/100 mg)	Viscous substance (by <i>B. natto</i> ) (mg/100 mg)	Viscous substance (by <i>B. subtilis</i> ) (mg/100 mg)
Lysine	2.49	2.27	2.66	3.51	3.92
Histidine	1.46	1.73	1.94	2.49	2.71
Arginine	2.32	1.84	2.27	1.73	1.46
Aspartic acid	4.36	3.61	4.16	4.91	4.72
Threonine	0.64	0.64	0.68	0.86	0.68
Serine	2.31	1.62	2.00	1.36	1.41
Glutamic acid	6.48	7.16	7.70	11.80	12.98
Proline	2.11	2.30	2.19	3.37	3.68
Glycine	1.52	1.36	1.55	1.88	1.70
Alanine	2.01	1.86	2.10	2.55	2.21
Valine	1.57	1.62	1.84	2.35	2.21
Methionine	0.64	0.67	0.97	1.12	1.02
Isoleucine	1.46	1.43	1.56	1.70	1.57
Leucine	2.79	2.90	3.01	3.85	3.48
Tyrosine	1.46	1.70	1.84	2.32	2.40
Phenylalanine	1.78	2.01	2.19	2.66	2.85
Tryptophan	0.74	0.73	0.79	1.07	1.19
Total	36.13	35.45	39.47	49.18	50.18

**Table 3. The contents of minerals of raw soybean, chungkook-jangs and viscous substances**

Minerals	Raw soybean	Chungkook-jang (by <i>B. natto</i> )	Chungkook-jang (by <i>B. subtilis</i> )	Viscous substance (by <i>B. natto</i> )	Viscous substance (by <i>B. subtilis</i> )
Ca(%d.w.)	0.38	0.41	0.41	0.09	0.11
Mg(%d.w.)	0.19	0.29	0.38	0.16	0.21
Na(%d.w.)	0.02	0.03	0.03	0.15	0.15
K(%d.w.)	2.31	2.38	2.43	5.65	6.29
P(%d.w.)	0.55	0.59	0.60	0.28	0.46
Cu(μg/g)	27.10	32.10	33.41	53.74	60.88
Mn(μg/g)	30.37	34.01	33.07	13.96	17.65
Zn(μg/g)	53.27	60.41	57.82	69.43	76.40
Fe(μg/g)	72.68	57.05	67.96	79.10	83.00

**질소화합물**

청국장으로부터 분리한 점질물의 조단백질, 아미노태 질소함량은 Table 1과 같다. 점질물의 조단백질 함량은 *B. natto*로 발효시킨 것이 61.50%, *B. subtilis*가 61.38%로서 원료콩의 조단백질 함량 39.93%와 각 청국장의 조단백질 함량 44.26% 및 43.57% 보다 훨씬 높았다. 점질물의 아미노태 질소량은 *B. natto*의 경우 19.70%, *B. subtilis*가 19.56%로서, 조단백질 함량에 대한 비율로는 각각 32.03%, 31.86%를 나타내어 점질물에 함유된 단백질 중 많은 부분이 저분자의 펩타이드류로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

한편, 점질물의 아미노산 조성을 청국장의 아미노산 조성과의 비교해 볼때, 글루탐산 함량이 특징적으로 높았는데, 점질물의 총 아미노산 함량에 대해 글루탐산이 차지하는 비율이 *B. natto*의 경우 23.99%, *B. subtilis*가 25.87%로 나타났다.

이러한 결과는 일본 Natto 점질물의 주성분이  $\gamma$ -polyglutamic acid와 fructan이라는 보고<sup>(23)</sup>와도 유사한 관계가 있음을 나타내는 결과로 판단된다.

**무기물**

점질물의 회분함량은 *B. natto*의 12.99%, *B. subtilis*가 13.91%이었으며, 주요 무기물 성분의 함량은 Table 3과 같다. 원료콩이나 청국장에 비해 점질물의 경우는 Ca, Mg, P, Mn 등의 무기질 함량은 적지만 Na, K, Cu, Zn, Fe 함량은 더 높은 것으로 나타났다. 특히 K는 원료콩이나 청국장에 비해 2~3배, Cu는 2배 정도 많이 함유되어 있었다.

**점도**

점질물의 점도특성을 조사한 결과는 Fig. 2, 3과 같다. Fig. 2는 20℃에서 전단속도를 2,000s<sup>-1</sup>까지 증가시키

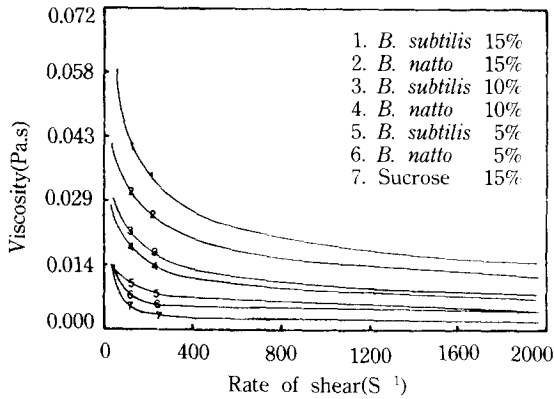


Fig. 2. Viscosity of solutions with different concentration of viscous substances extracted from chungkook-jang

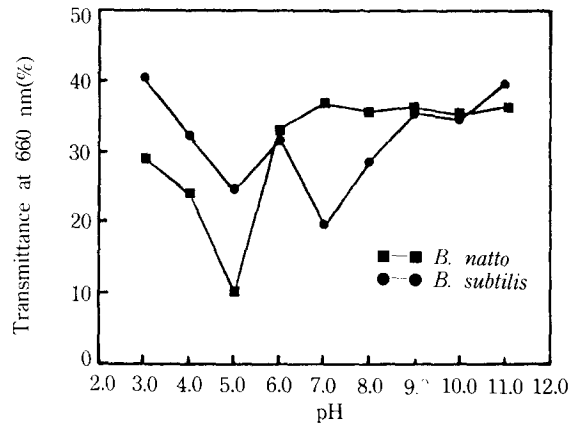


Fig. 4. The effect of pH on solubility of viscous substances extracted from chungkook-jang

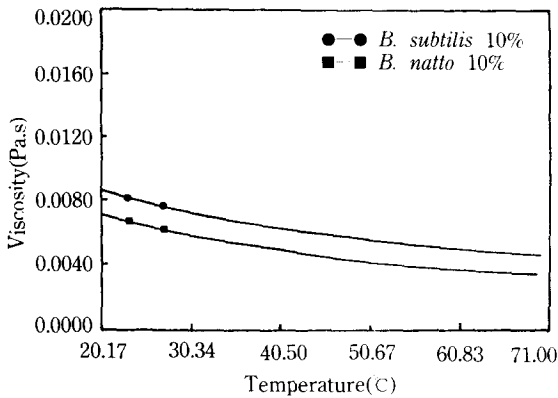


Fig. 3. The effect of temperature on viscosity of the solutions of viscous substances extracted from chungkook-jung

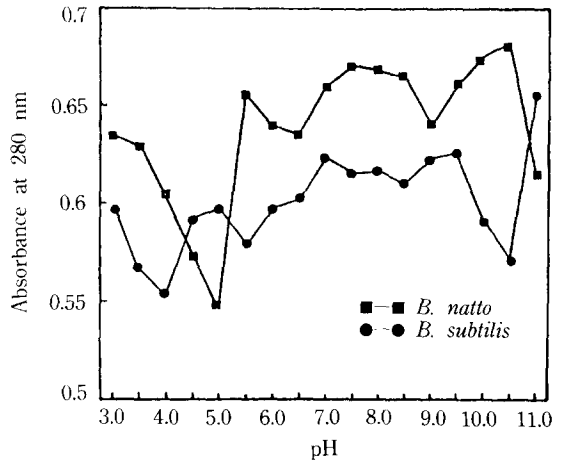


Fig. 5. The effect of pH on solubility of viscous substances extracted from chungkook-jang

면서, 농도가 서로 다른 점질물의 점도변화를 살펴본 것으로서, *B. natto*나 *B. subtilis*로 발효시킨 청국장의 점질물 모두 Ostwald식을 따르고 있었다. 전단속도 1600 s<sup>-1</sup>에서 비교한 겔보기 점도는 설탕 15% 용액이 0.0018 Pa.s인데 비해 *B. natto* 점질물 5% 용액이 0.0038 Pa.s로서 점질물의 점도가 훨씬 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 볼때 점질물이 5% 농도만 되더라도 설탕 15%와 비교하여 구성분자의 중합도가 상당히 큰 것으로 판단된다.

한편, 온도변화에 따른 점도변화는 Fig. 3에서와 같이 온도가 증가할수록 점도가 반비례적으로 조금씩 감소하여, 점질물을 구성하는 성분 중 단백질 부분을 제외한 나머지 성분들이 전분과 같이 60~70°C에서 호화되어 점도가 증가하는 고중합도의 분자는 아닌 것으로 판단되었다.

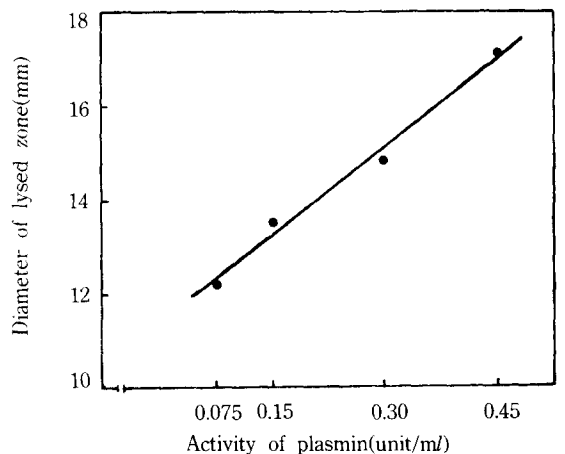


Fig. 6. The diameter of lysed zone observed with increasing amounts of plasmin.

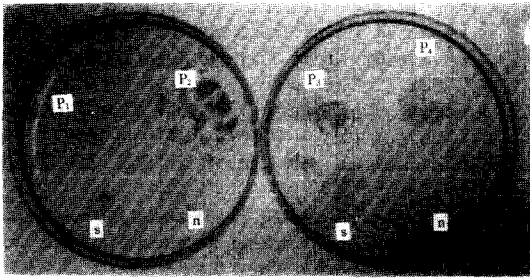
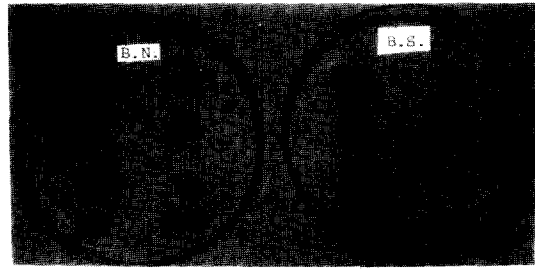


Fig. 7. The fibrinolytic activity of plasmin and viscous substances

P<sub>1</sub>; 10  $\mu$ l of plasmin (0.075 unit/ml), P<sub>2</sub>; 10  $\mu$ l of plasmin (0.15 unit/ml), P<sub>3</sub>; 10  $\mu$ l of plasmin (0.30 unit/ml), P<sub>4</sub>; 10  $\mu$ l of plasmin (0.45 unit/ml), s; 10  $\mu$ l of viscous substance by *B. subtilis*, n; 10  $\mu$ l of viscous substance by *B. natto*



*B. natto*

*B. subtilis*

Fig. 9. The effect of heating time on fibrinolytic activity of viscous substances extracted from chungkook-jang (Heating temp.: 100°C)

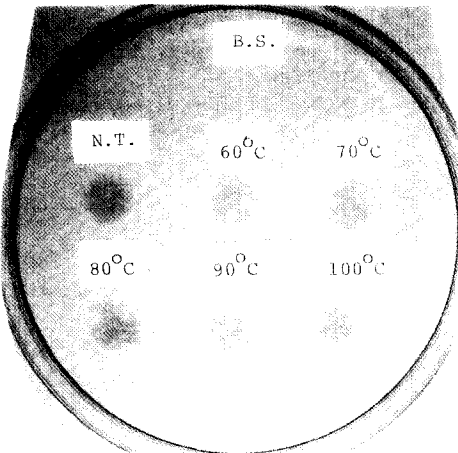
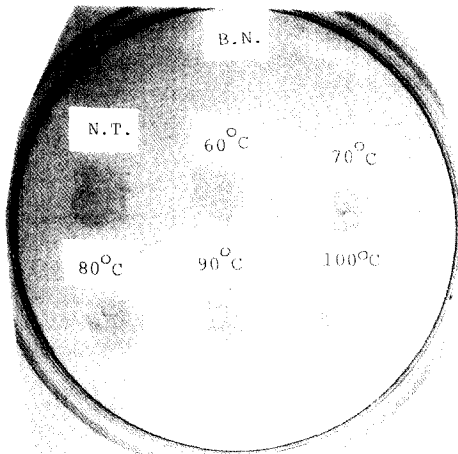


Fig. 8. The effect of heating temperature on fibrinolytic activity of viscous substances extracted from chungkook-jang (Heating time: 5 min)

B.N.; *B. natto*, B.S.; *B. subtilis*, N.T.; No heat treatment

pH에 따른 용해도

점질물의 pH에 따른 용해도를 알아보기 위하여 점질물 용액의 pH를 3.0부터 11.0까지 변화시키면서 660 nm에서는 투과도를 280 nm에서는 흡광도를 측정 한 결과는 각각 Fig. 4 및 5와 같다. Fig. 4에서 보면 *B. natto*로부터 분리한 점질물은 pH 5.0과 7.0 부근에서 최저 투과도를 나타내었으며, *B. subtilis*의 경우는 pH 5.0 부근에서 가장 낮은 투과도를 나타내어, pH에 따라 점질물의 용해도가 차이가 나는 것으로 판단되었다. 한편, 점질물의 주요 구성성분으로 나타난 단백질들의 용해도를 측정하기 위해서 280 nm에서 흡광도를 측정 한 결과는 Fig. 5에서와 같이 *B. natto*로부터 분리한 점질물은 pH 5.5 부근에서 최저 흡광도를 나타내었으며, *B. subtilis*로부터 분리한 점질물은 pH 4.0과 10.5에서 최저 흡광도를 나타내었다.

Fibrinolytic activity

점질물의 fibrinolytic activity를 비교 측정하기 위하여 plasmin 표준(3.3 unit/mg protein)을 사용하여 Fig. 6과 같이 검량선을 작성하였다. 2 mg/ml 농도의 *B. natto*와 *B. subtilis* 점질물에 의한 lysed zone은 Fig. 7과 같이 *B. subtilis*로부터 얻은 점질물 보다는 *B. natto*로부터 얻은 것의 lysed zone이 훨씬 크게 나타났다. 이것을 specific activity로 비교하면 각각 0.163, 0.438 unit/mg protein으로 *B. natto*로부터 얻은 점질물의 효소활성이 약 3배 정도 높았다.

한편 점질물을 60, 70, 80, 90, 100°C에서 각각 5분간씩 열처리한 후 fibrinolytic activity를 측정 한 결과는 Fig. 8과 같다. Lysed zone의 직경으로 비교할 때 100°C에서 5분간 열처리 하더라도, *B. natto*와 *B. subtilis* 모두 90% 정도의 효소활성이 남아 있었다. 또한 100°C에서 5, 10, 20, 30분간 열처리 했을 때의 fibrinolytic activity는 Fig. 9와 같다. 100°C에서 열처리 시간이 증가할수록 효소활성이 감소하나, 30분간 열처리시에도 Fig. 8의 열처리하지 않은 lysed zone의 직경과 비교할 때 *B. natto*나 *B. subtilis* 모두 45% 정도의 효소활성이 유지되었다.

## 요 약

국내에 아직 연구보고된 바 없는 청국장 점질물의 이화학적 특성을 조사하기 위하여 *B. natto*와 *B. subtilis*로 발효시킨 청국장으로부터 각각 6.3%, 5.0%의 점질물을 얻었다. 이 점질물의 조단백질 함량은 모두 약 61% 정도이었고, 점질물의 단백질 중 아미노태 질소함량은 약 32%이었고, 구성아미노산 중에는 글루탐산이, 무기질 중에는 K함량이 특히 높았다. 점질물의 점도는 5% 농도에서는 설탕 15% 용액의 점도보다도 높게 나타났다. *B. natto*와 *B. subtilis*로부터 분리한 점질물은 pH 5.0과 7.0, pH 5.0에서 각각 최저 투과도를 나타내었고, 280 nm에서 측정된 흡광도는 각각 pH 5.5, pH 4.0과 10.5에서 최저흡광도를 나타내었다. 점질물의 fibrinolytic activity는 *B. natto*가 0.438 unit/mg protein, *B. subtilis*가 0.163 unit/mg protein이었고, 100°C에서 5분간 열처리하여도 효소활성이 90% 정도 유지되었으며, 30분간 열처리하였을 때도 45% 정도의 효소활성이 남아 있었다.

## 문 헌

1. 주현규 : 청국장 제조에 관한 연구. 한국식품과학회지, **3**, 64(1971)
2. 김경자, 유명기, 김상순 : 벗짚을 이용한 청국장 제조에 관한 연구. 한국식품과학회지, **14**, 301(1982)
3. 박계인 : 청국장 메주 발효과정 중 질소화합물의 소장에 관한 연구(I). 한국농화학회지, **15**, 93(1972)
4. 박계인 : 청국장 메주 발효과정 중 질소화합물의 소장에 관한 연구(II). 한국농화학회지, **15**, 111(1972)
5. 이숙희, 김선기, 최홍식 : 한국 장류식품의 유지성분에 관한 연구. 한국식품과학회지, **15**, 399(1983)
6. 최성의, 지영애 : 청국장 숙성 중의 향기성분 변화. 한국식품과학회지, **21**, 229(1989)
7. 이현자, 서정숙 : 균주를 달리한 청국장의 제조에 관한 연구(I). 한국영양학회지, **14**, 97(1981)
8. 서정숙, 이상건, 유명기 : 균주를 달리한 청국장의 제조에 관한 연구(II). 한국식품과학회지, **14**, 309(1982)
9. 서정숙, 유명기, 허운행 : 균주를 달리한 청국장의 제조에 관한 연구(III). 한국식품과학회지, **15**, 385(1983)
10. Sulisty, J., Taya, N., Funane, K. and Kiuchi, K.: Production of natto starter. *Nippon shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **35**, 278(1988)
11. Kanno, A., Takamatsu, H., Takano, N. and Akinoto, T.: Change of saccharides in soybean during manufacturing of natto. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **29**, 105(1982)
12. Taguchi, K., Kawabata, M., Ohtsuki, K. and Tanaka, Y.: Change in dietary fiber of natto and tempeh during fermentation. *日本營養・食糧學會誌*, **39**, 203(1986)
13. Kanno, A. and Takamatsu, H.: Changes in the volatile components of natto during manufacturing and storage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **34**, 330(1987)
14. Suguwara, E., Ito, T., Odagiri, S., Kubotu, K. and Kobayashi, A.: Comparison of compositions of odor components of natto and cooked soybean. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 311(1985)
15. Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H.: A novel fibrinolytic enzyme (natto kinase) in the vegetable cheese natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia*, **43**, 1110(1987)
16. Onishi, R., Abe, K., Honma, S. and Aida, K.: Studies on a viscous substance of the natto. *日本家政學會誌*, **38**, 871(1987)
17. A.O.A.C.: *Official Methods of analysis.*, 11th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. D. (1980)
18. 김재욱 : 식품학 실험서. 개문사 (1985)
19. Davies, M.G. and Thomas, A.J.: An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of food-stuffs. *J. Sci. Food Agric.*, **24**, 1525(1973)
20. Mason, V.C., Bech-Andersen and Rudemo, M.: Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents. *Z. Tierernahr. U. Futtermittelkde.*, **41**, 226(1979)
21. Versteeg, D., Rombouts, F.M., Spaansen, C.H. and Pilnik, W.: Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *J. Food Sci.*, **45**, 969(1980)
22. Astrup, T. and Müllertz, S.: The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Archs. Biochem. Biophys.*, **40**, 346(1952)
23. Kosaku, N., Keiko, I., Yoshiko, H. and Hisao, F.: Synthesis of  $\gamma$ -glutamyl peptides catalysed by transaminase from *Bacillus natto*. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 2419(1980)

(1991년 8월 1일 접수)