

당귀 · 지황 · 홍삼 첨가에 따른 발효 청국장의 기능성 변화 연구

최은지¹ · 이정숙² · 장홍배³ · 이미숙¹ · 장해동¹ · 권영인^{1*}

¹한남대학교 식품영양학과, ²충청남도 금산군 농업기술센터, ³한국폴리텍바이오대학

Changes in the Functionality of *Cheonggukjang* During Fermentation Supplemented with *Angelica gigas*, *Rehmanniae Radix*, and *Red ginseng*. Choi, Eun-Ji¹, Jung-Sook Lee², Hung-Bae Chang³, Mee-Sook Lee¹, Hae-Dong Jang¹, and Young-In Kwon^{1*}. ¹Department of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea, ²Geumsan Agriculture Development & Technology Center, Chungnam 312-911, Korea, ³Department of Bio Quality Control, Korea Bio Polytechnic, Chungnam 320-905, Korea – *Cheonggukjang* is one of the traditional fermented soy-based foods in Korean diets. Studies in cell cultures, humans have revealed anti-hypertension, anti-stress, anticancer, antioxidant, immune enhancing effects. *Angelica gigas*, *Rehmanniae radix*, and *Red ginseng* are popular medicinal plants and widely used for oriental medicine. In this study a strategy had been developed to mobilize beneficial phenolics from *Angelica gigas*, *Rehmanniae radix*, and *Red ginseng* combined with fermented soy by *Cheonggukjang* fermentation for antioxidant and Type II diabetes management. The quality and functional characteristics of *Cheonggukjang* fermented with *Angelica gigas*, *Rehmanniae radix* and *Red ginseng*. *Cheonggukjang* (CKJ), *Angelica gigas* *Cheonggukjang* (CKJ-DD), *Rehmanniae radix* *Cheonggukjang* (CKJ-RG), *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix* *Cheonggukjang* (CKJ-DD+RG) and *Red ginseng* *Cheonggukjang* (CKJ-RED) were evaluated. The mobilized phenolic profile was evaluated for antioxidant activity and the potential to inhibit α -amylase linked to hyperglycaemia. This research has important implications for the development of functional soy-based-fermented foods enriched with *Angelica gigas*, *Rehmanniae radix* and *Red ginseng* phenolics for oxidative stress - induced diabetic complications. Furthermore, Hunter's color values of 5 types *cheonggukjang*, lightness (L-values), redness (a-values) and yellowness (b-values) were evaluated. Free amino acid content of CKJ-RED (0.993 mg/g-d.w.) showed higher than that of CKJ (0.205 mg/g-d.w.).

Key words: *Cheonggukjang*, α -amylase inhibition, antioxidant, fermentation, *Angelica gigas*, *Rehmanniae radix*, *Red ginseng*

서 론

청국장은 고유한 우리 민족 전통 대두발효 식품으로서 예로부터 우리가정의 식생활에 빠지면 안될 주요한 영양원의 하나로 사용되어 왔다. 대두발효식품인 청국장은 고초균 (*Bacillus subtilis*)을 사용하여 비교적 단 시간 내에 발효를 진행시켜 제조되는 발효장류의 하나로서, 최근 들어서는 각종 만성퇴행성질환의 예방 및 증상완화에 효과가 있음이 과학적으로 밝혀짐에 따라 건강기능식품의 소재로서 다양한 제품으로의 연구개발이 활발히 진행되고 있다[13, 26, 28, 16]. 대두에는 isoflavone, saponin, phytic acid, oligosaccharides 등과 같은 항암작용, 항고혈압활성, 혈중콜레스테롤 저하, 항산화 작용 등에 효과가 있는 기능성 성분이 많이 함유되어 있으며, 단백질과 지방질이 풍부하다[4]. 대두발효속성 중에

*Bacillus subtilis*가 생산하는 효소에 의해서 당질과 단백질이 분해되어 가용성 질소 화합물인 amide, peptone, polyglutamate, polypeptide 등과 같은 새로운 기능성 생리활성 물질이 생성 및 향상되며, 당뇨증세 개선, 혈압강하, 혈전용해능향상[3, 12, 25]. 지질대사 개선효과, 항산화, 항균 작용 등이 증강되는 것으로 보고되어 있다[14, 17].

당귀(*Angelica gigas*)에는 약효성분인 Coumarine계의 decursin, decursinol, decursinol aneglate, β -sitosterol, α -pinene 등이 함유되어 있어[6], 한의학에서는 혈액순환촉진, 뇌혈관계질환, 순환계질환, 치매예방, 노화방지에 널리 사용되어 왔다[15]. Phytosterol류, 당류, amino acid, iridoid glycosides, inorganic elements, chryseoriol, luteoline 등이 함유되어 있는 지황(*Rehmanniae radix*)은 혈당강하작용이 있으며, 심혈관계질환, 자궁출혈, 생리불순, 변비예방에 대한 효능이 보고되어 있다[7]. 수삼(*Panax ginseng*)을 열처리공정을 통해 가공한 홍삼(*Red ginseng*)은 사포닌계인 ginsenoside와 비사포닌계의 panaxytriol과 panaxadiol, peptide, 전분성 다당체들로 인해, 고혈압, 간질환, 당뇨병, 암, 피로 및 스

*Corresponding author

Tel: 82-42-629-8795, Fax: 82-42-629-8789

E-mail: youngk@hnu.kr

트레스, 수족냉증, 고지혈증 등에 유효한 작용을 하는 것으로 알려져 있다[9, 23]. 이처럼 당귀, 지황 및 홍삼은 대표적인 한방 한약재 중의 하나로 그 효능이 많이 보고되어 왔으며, 식용이 가능하고 생리활성이 검증된 다양한 페놀성 성분들을 다량 함유하고 있는 대표적인 약용식물이다.

최근 들어 천연물로부터 다양한 생리활성이 보고되면서 기존의 청국장에 약용식물이나 지역특산 과채류등과 같은 천연소재를 첨가하여 기능성이 보강된 새로운 청국장 제품의 개발이 경쟁적으로 이루어 지고 있다. 그러나 전통식품인 청국장의 고품질화 및 표준화를 위해서는 청국장에 첨가된 기능성 소재의 발효에 의한 효능의 변화를 체계적인 연구를 통해 과학적으로 검증해 내는 것이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 대두를 이용한 청국장발효시에 이들 기능성 페놀성 성분들을 다량함유하고 있는 당귀·지황·홍삼을 첨가하면 발효 중 대두 및 첨가된 약용식물의 각종 영양성분 및 생리활성의 변화가 올 것으로 예상하고, 청국장(CKJ), 당귀 청국장(CKJ-DD), 지황 청국장(CKJ-RG), 당귀·지황 청국장(CKJ-DD+RG), 홍삼 청국장(CKJ-RED)을 각각 제조 하여 발효 중 영양성분 및 생리활성물질들의 변화를 조사하였다. 발효를 통한 당귀·지황·홍삼의 각종 기능성 페놀성 성분들의 최적화를 통해 총페놀성분 함량, 항산화 활성, 그리고 혈당상승억제 효능의 변화가 이루어지는지를 조사하였으며, 또한 당귀·지황·홍삼을 첨가한 청국장과 일반청국장의 영양 및 기호도 변화를 알아보기 위하여 약용식물 첨가 및 무첨가 청국장의 색도 및 아미노산 조성의 변화에 대하여도 조사하였다. 이러한 연구는 향후 보다 더 다양한 실험을 통해 전통약용식물과 전통발효식품을 접목하여 우리의 전통 기호식품으로서뿐만 아니라 건강기능성 식품으로서의 가치를 향상시키는데 도움이 될 것으로 기대된다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 대두(품종: 황금콩, *Glycine max*(L.) Merrill)와 당귀(건당귀, *Angelica gigas*), 지황(생지황,

Rehmanniae radix) 그리고 홍삼(4년근, *Panax ginseng*)은 충청남도 금산군 농업기술센터에서 새기술실증시험 연구활동의 일환으로 공여된 시료를 사용하였다. 청국장 발효 미생물은 벧짚에서 분리된 *Bacillus subtilis*(*B. subtilis*)를 nutrient broth(Bacto; 88053JE)에서 37°C±1, 48시간 종균 배양한 후 사용하였다.

일반 청국장 제조

1 kg의 대두를 깨끗하게 씻은 후, 25°C±1에서 12시간 건조시키고, 건조된 대두를 9시간 동안 침지를 시킨 후, Autoclave(JSR; JSAC-100)에서 121°C, 15분간 살균하였다. 살균이 끝난 시료를 50°C까지 식힌 후, 미리 준비한 *B. subtilis* 종균배양액(10⁸ CFU/mL)을 0.5% 첨가한 후, 37°C±1, 습도 80%, 48시간 배양시켰다. 배양이 끝난 청국장시료는 건조 후 마쇄기를 사용하여 분말화 시켜 시험에 사용하였다.

한방 청국장 제조

대두와 당귀, 지황, 홍삼을 깨끗하게 씻은 후, 실온(25°C±1)에서 12시간 건조 시켰다. 건조시킨 대두를 9시간 동안 침지를 시킨 후, 건조된 각각의 한약재들과 함께 Autoclave(JSR; JSAC-100)를 이용하여 121°C, 15분간 살균을 수행하였다. 각 청국장 시료에 함유된 한약재들의 첨가비율은 Table 1과 같았다. 살균된 시료를 50°C까지 식힌 후, 일반청국장 제조방법과 동일하게 미리 준비한 *B. subtilis* 종균배양액(10⁸ CFU/mL)을 0.5% 첨가한 후, 37°C±1, 습도 80%, 48시간 배양 시켰다. 배양이 끝난 청국장시료는 건조 후 마쇄기를 사용하여 분말화 시켜 시험에 사용하였다.

색도검사(Hunter color value)

건조 후 마쇄기를 사용하여 분쇄한 시료 1 g을 Colormate용 cap에 담아 color spectrophotometer(SCINCO ColorMate[®])를 이용하여 Hunter color system으로 L(lightness), a(redness), b(yellowness)의 값을 3회 반복 측정하고 색도를 평균값으로 나타내었다.

Table 1. Comparison of Media for fermentation of Cheonggukjang supplemented with different medicinal plants *Angelica gigas*, *Rehmanniae Radix*, and *Red ginseng*.

Sample name ¹⁾	Materials (%W)
CKJ	-
CKJ-DD	<i>Angelica gigas</i> (1.0 %)
CKJ-RG	<i>Rehmanniae radix</i> (1.0 %)
CKJ-DD+RG	<i>Angelica gigas</i> (0.5 %) + <i>Rehmanniae radix</i> (0.5 %)
CKJ-RED	<i>Red ginseng</i> (1.0 %)

¹⁾CKJ: Cheonggukjang, CKJ-DD: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: Cheonggukjang fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: Cheonggukjang fermented with *Red ginseng*

유리아미노산 분석

유리아미노산 분석은 시료를 전처리(열수 추출)하여 간섭 물질인 단백질 등을 제거한 후 분석하였다. 상세하게 설명하면 분말화 된 건조 청국장 시료 1 g에 50 mL 증류수를 첨가하여 80°C에서 15분간 열수 추출하였다. 추출액 1 mL를 5% Trichloroacetic acid(TCA)에 녹인 후 원심분리(10,000 ×g, 10분, Hani; ULTRA4.0) 시킨 후, 상등액을 취하여 0.2 µm filter(WHATMAN, Co.)로 여과하였다. 여과액을 아미노산분석기(HITACH L-8900, Post-reaction type)로 분석하였다. 세부 기기 분석조건은 Table 2와 같았다.

당질분해효소 활성억제 실험(α-Amylase Inhibition Assay)

혈당상승억제 실험은 Kwon 등이 사용한 당질분해효소활성억제 시험법인 α-amylase 저해 실험법을 이용하였다[21]. 효소는 pancreatic α-amylase(EC 3.2.1.1)를 사용하였고, 기질로는 1% starch solution을 사용하였다. 측정방법은 DMSO (Junsei; Dimethyl sulfoxide)에 녹인 건조 청국장 시료 200 µL를 0.02 M sodium phosphate buffer(pH 6.9, 0.006 M sodium chloride 함유)에 녹인 porcine pancreatic α-amylase 용액 300 µL와 섞은 후, 25°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 반응액에 1% starch 500 µL를 첨가하여 25°C에서 다시 10분간 반응시켰다. 1% DNS 용액(Dinitrosalicylic acid, color reagent)을 1 mL 첨가하여 반응을 정지시킨 후 100°C로 유지되는 boiling water bath에서 5분간 중탕 시킨 후, 실온(25°C±1)에서 30분간 식히고 1 mL 증류수를 첨가하였다. 효소액을 완충용액으로 대체하고 시료만을 용해시킨 것을 대조구로 사용하여 측정값을 비교하였으며, α-amylase에 의해서 기질로부터 분해된 환원당과 DNS 용액과의 반응을 통해 발색된 정도를 조사하기 위해 540 nm에서 ELISA reader(Tecan; SUNRISE)를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

$$\% \text{ inhibition} = \left(\frac{\Delta A_{540}^{\text{Control}} - \Delta A_{540}^{\text{Extract}}}{[\Delta A_{540}^{\text{Control}}]} \right) \times 100$$

총 페놀 함량 측정(Total Phenolic Content)

총 페놀 함량의 측정은 Folin-Ciocalteu Phenol법을 사용하여 측정하였다. 건조하여 분말화 시킨 5종의 청국장 시료

0.1 g을 distilled water 10 mL에 넣고 20분간 교반한 후 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 시험관에 시료의 희석액 1.0 mL과 95% Ethanol 1.0 mL, 증류수 5.0 mL, 50% Folin-Ciocalteu Phenol reagent 0.5 mL을 가하고 5분간 상온(25°C±1)에서 반응시킨다. 5% Na₂CO₃ 1 mL을 가하고 암실에서 1시간 보관한다. Voltex 후 725 nm에서 Spectrophotometer(SHIMADZU; UV160A)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 지표물질인 Gallic acid를 증류수에 녹여 추출물 희석액과 같은 방법으로 반응시켜 표준검량곡선을 작성한 후 총페놀 함량은 Gallic acid-equivalent 값으로 계산하였으며 모든 측정은 3회 반복하여 평균값을 내어 계산하였다.

항산화 활성 측정(Oxygen Radical Absorbance Capacity)

항산화 활성 측정은 Kurihara H[20]의 ORAC assay를 참고하였다. 체내에서 산화를 일으키는 peroxy radical의 생성과 소멸에 의한 fluorescein의 흡광도 감소율을 측정하여 계산하였다. 과산화 라디칼의 생성을 위하여 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH, 20 mM)을 사용하였고, 측정기기는 GENios functional plate reader Salzburg (Tecan)로 사용하였으며 전자가 485 nm에서 흡수되고 538 nm에서 방출되게 설정해 놓고 사용하였다. Fluorescein값은 2분 마다 100 cycle로 기록 되었으며 모든 Fluorescein값은 최초의 값에 비교되어 상대적으로 나타내었으며, ORAC 값은 1 g당 µM Trolox equivalent로 나타내었다(µM TE/g).

통계처리

SAS(Statistical Analysis system)에 의한 Duncan의 다범위 검정(Duncan's multiple range test)을 통하여 $p < 0.05$ 에서 각 시료간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

색도의 변화

청국장(CKJ), 당귀청국장(CKJ-DD), 지황청국장(CKJ-RG), 당귀지황청국장(CKJ-DD+RG) 그리고 홍삼청국장(CKJ-RED)의 색도의 변화를 Hunter color system으로 측정 한 결과 (Table 2), 밝기정도인 명도를 나타내는 L값은 CKJ-RG, CKJ, CKJ-DD+RG, CKJ-DD 및 CKJ-RED 분말의 순으로 밝게 나왔으며, 그 값은 각각 60.39, 57.60, 55.90, 46.69, 42.11이었다. 색도를 나타내는 a값은 CKJ-DD, CKJ-RED, CKJ, CKJ-DD+RG 및 CKJ-RG 순으로 나타났으며, 그 값은 각각 11.07, 11.01, 7.85, 6.55, 6.14이었다. 현타색도계의 a값은 양수(+)일 경우에는 적색, 음수(-)일 경우에는 녹색을 나타낸다. 본 시료의 경우, 색도값이 모두 양수(+)를 갖는 것으로 보아 모든 시료의 색도는 적색을 띠는 것을 알 수 있었다. 양수(+)일 경우에는 황색을 음수(-)일 경우에는 청색을 나타내는 b값은 CKJ-DD, CKJ-RED, CKJ, CKJ-DD+RG,

Table 2. Instrument and operating conditions for free - amino acid autoanalyzer.

Column	HITACHI HPLC Packed Column #2622PF Column (4.6×60) Ion Exchange column
Temperature	135°C
Solution	Wako L-8500 Buffer solution PF-1, 2,3,4, RG Ninhydrin coloring solution set
Detector	VIS1: 570 nm, VIS2: 440 nm UV detector
Injection vol.	20 µL

Table 3. Changes in Hunter's color values of 5 different *Cheonggukjang* samples.

Samples ¹⁾	Hunter's color values			
	L (lightness)	a (redness)	b (yellowness)	ΔE_{ab} ²⁾
CKJ	57.57±0.03 ^{a,3)}	7.85±0.01 ^a	25.57±0.05 ^a	47.73±0.01 ^a
CKJ-DD	46.69±0.14 ^b	10.07±0.02 ^b	28.98±0.02 ^b	59.22±0.51 ^b
CKJ-RG	60.39±0.04 ^c	6.14±0.01 ^c	23.34±0.06 ^c	43.95±0.01 ^a
CKJ-DD+RG	55.90±0.05 ^d	6.55±0.02 ^d	24.91±0.05 ^d	48.61±4.73 ^a
CKJ-RED	42.11±0.03 ^e	11.00±0.01 ^e	27.40±0.04 ^c	24.56±0.01 ^b

¹⁾CKJ: *Cheonggukjang*, CKJ-DD: *Cheonggukjang* fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: *Cheonggukjang* fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: *Cheonggukjang* fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: *Cheonggukjang* fermented with Red ginseng

²⁾ $\Delta E_{ab} = [(\Delta L)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$

³⁾The results represent the mean±S.D. of values obtained from three measurements. Different corresponding letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's test.

^{a-c} Values are the means ± SD of Hunter's color values.

Table 4. Comparison of free amino acid content in 5 different *Cheonggukjang* samples.

Amino acid	<i>Cheonggukjang</i> powder (mg/g-dry weight) ¹⁾				
	CKJ	CKJ-DD	CKJ-RG	CKJ-DD+RG	CKJ-RED
o-Phosphoserine	0.007	0.010	0.004	0.006	0.010
o-Phosphoethanolamine	0.004	-	0.001	-	-
Urea	0.014	-	-	0.003	-
L-Aspartic acid	0.006	0.032	0.002	0.017	0.046
L-Threonine	0.002	0.012	-	0.003	0.011
L-Serine	-	0.002	-	0.002	-
L-Glutamic acid	0.030	0.135	0.014	0.039	0.179
a-Amino-n-butyric acid	0.002	0.022	0.002	0.008	0.015
Glycine	0.002	0.031	-	0.006	0.036
L-Alanine	0.011	0.059	0.004	0.008	0.070
L-Citrulline	0.003	0.020	0.003	0.010	0.047
DL-2-Aminobutyric acid	0.001	0.002	-	0.001	0.007
L-Valine	0.012	0.060	0.005	0.013	0.070
L(-)-Cystine	-	-	-	-	-
L-Methionine	0.004	0.017	0.001	0.005	0.020
L-Cystathionine	-	0.001	-	0.001	0.003
L-Isoleucine	0.004	0.040	-	0.008	0.047
L-Leucine	0.012	0.084	0.002	0.016	0.085
L-tyrosine	0.003	0.005	0.002	0.010	0.014
L-Phenylalanine	0.013	0.054	0.003	0.016	0.055
β-Alanine	0.004	0.006	0.004	0.003	0.003
β-Amino isobutyric acid	0.008	0.018	0.003	0.003	0.010
γ-Amino-n-butyric acid	0.003	0.002	0.004	0.001	0.001
NH3	-	0.070	0.004	0.019	0.075
Hydroxylysine	-	-	0.001	0.002	-
L-Ornithine	0.011	0.031	0.009	0.005	0.027
L-Lysine	0.015	0.074	0.004	0.028	0.110
L-Histidine	0.006	0.023	0.002	0.005	0.012
L-Arginine	0.001	-	0.001	-	-
L-Hydroxyproline	-	0.001	-	-	0.001
L(-)-Proline	0.026	0.022	0.003	0.004	0.040
TA ²⁾	0.205	0.833	0.079	0.240	0.993

¹⁾CKJ: *Cheonggukjang*, CKJ-DD: *Cheonggukjang* fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: *Cheonggukjang* fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: *Cheonggukjang* fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: *Cheonggukjang* fermented with Red ginseng

²⁾TA: Total free amino acid contents.

CKJ-RG 순으로 유사하게 나타났으며, 그 값은 모두 양의 값으로 28.98, 27.40, 25.57, 24.91, 23.35이었다. 따라서 모든 시료는 황색을 주로 띠며 시료간 큰 차이는 없었다. 밝기(명도)를 100단계로 나누어서 수치로 나타내는 L값은 지황청국장이 일반 청국장보다 다소 높은 값을 보였고, 홍삼청국장은 일반청국장에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다. 한편 적색도에서는 홍삼청국장이 가장 높은 값을 나타냈고 그 다음으로 일반청국장이었으며 지황청국장은 가장 낮은 값을 나타냈다. 이상의 결과로 청국장에 첨가되는 약용식물의 종류에 따라 최종 청국장 제품의 색도가 다름을 알 수 있었으며, 대량생산 시 이들 결과를 이용하여 소비자의 기호에 맞는 제품의 색도를 조정할 수 있음을 알 수 있었다.

유리아미노산 분석

최근 식이성 유리아미노산에 대한 영양적 가치에 대한 연구보고에 의하면, 식품 내 유리아미노산은 맛난 맛의 증진뿐만 아니라 빠른 흡수 및 근육 단백질의 강화, 그리고 항산화 활성 등에 효과가 있다고 보고되었다[1, 8, 11, 24]. 따라서 본 연구에서는 5종의 청국장 분말(CKJ, CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)의 유리아미노산을 분석하였고 그 결과(Table 4), CKJ의 유리아미노산 조성은 Glutamic acid, Lysine, Urea, Phenylalanine, Leucine 등의 순으로 함량이 높았으며, CKJ-DD는 Glutamic acid, Leucine, Lysine, NH₃, Valine 등의 순으로 유리아미노산 함량이 우수하였다. CKJ-RG은 Glutamic acid, Ornithine, Valine, Lysine, Phosphoserine 순으로 총 유리아미노산 함량은 0.079 mg/g-dry weight으로 가장 낮은 함량을 나타냈다. CKJ-DD+RG은 Glutamic acid, Lysine, NH₃, Aspartic acid, Phenylalanine 순으로 함량이 높았으며, CKJ-RED는 Glutamic acid, Lysine, Leucine, NH₃, Valine 순으로 0.993 mg/g-dry weight의 가장 높은 유리아미노산 함량을 보였다. 청국장은 발효속성 중에 *Bacillus subtilis*의 작용으로 콩의 단백질을 분해시켜 구수한 맛을 내는 Glutamic acid, Aspartic acid, 쓴맛을 지닌 valine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine 및 단맛을 내는 alanine, glycine, lysine[24] 등의 유리아미노산들이 어울려 청국장 특유의 향미를 갖게 해준다. 각 조건별 청국장 종류에 따라 유리아미노산 함량이 다르게 나타났으며, 맛과 향미 또한 다르게 나타났다. 홍삼청국장의 경우 구수한 맛을 내는 glutamic acid와 단맛을 내는 lysine의 함량이 다른 시료와 비교했을 때 상대적으로 높았으나 쓴맛을 내는 leucine과 valine의 함량 역시 상대적으로 높음을 알 수 있었다. 한편 일반적으로 한약취를 많게 하기 위하여 사용하는 당귀가 들어간 당귀청국장의 경우는 홍삼청국장과 유사한 경향을 보인 반면 지황청국장의 경우는 구수한 맛, 쓴맛, 단맛을 나타내는 아미노산의 함량이 모두 낮은 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로 청국장 발효 시 첨가되는 약용식물의 종류

에 따라 최종발효 제품 속의 구수한 맛과 쓴맛 그리고 단맛을 내는 아미노산의 종류 및 함량이 변화됨을 알 수 있었으며, 이를 이용하여 청국장의 맛을 조정할 수 있음을 알 수 있었다.

혈당상승억제 실험

한국인 식단에 있어서 주된 탄수화물 성분인 전분의 경우 주로 췌장에서 분비되는 α -amylase에 의해 이당류로 분해되기도 소장 용모막에 존재하는 α -glucosidase들에 의해 보다 작은 단당류로 분해된 후 당의 흡수가 이루어져 식후 30분 이내에 혈당상승이 나타나게 된다. 당뇨병 환자의 경우는 일반인과는 다르게 식후 30분 이내에 과도한 혈당의 상승이 일어나게 되며, 반복적으로 이러한 현상이 발생하므로 혈중 고혈당 상태가 지속되어 체내 세포 중 고농도의 포도당에 의해 발생하는 활성산소(Reactive oxygen species; ROS)들로 인해 glucotoxicity를 보이는 세포의 손상을 유래하게 되어 당뇨합병증까지 나타나게 된다. 따라서 효율적인 당뇨병의 관리를 위해서는 α -amylase 저해활성과 활성산소를 제거할 수 있는 항산화활성을 갖는 소재가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 5종의 청국장(CKJ, CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)의 혈당상승에 관여하는 α -amylase 저해활성을 조사하였다(Fig. 1). 결과에서 보듯이 5종의 청국장 시료는 모두 농도의존적으로 α -amylase 저해 효과가 증가하는 경향을 보였지만, CKJ과 한약재를 첨가한 4종의 청국장(CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)에서 통계적으로 유의적인 차이가 나타나지는 않았다. 이는 한약재 첨가가 청국장 발효 시 혈당상승억제물질의 생산에 큰 영향을 미치지 않았으며 동등한 혈당상승억제 효능을 보이는 것을 시사한다. 따라서 한약재 첨가 청국장의 경우, 일반 청국장과 비교하여 혈당상승억제효과의 증가를 기대하기 보다는 향후 첨가된 한약재 특유의 여타 다른 생리활성을 조사하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

총 페놀 함량 측정

5종의 청국장(CKJ, CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)의 총 페놀 함량 결과를 요약하면 Fig. 2와 같다. CKJ이 11.56 mg/100 g GAE으로 총 페놀 함량이 가장 낮은 함량을 나타내었다. CKJ-RED이 17.87 mg/100 g GAE으로 총 페놀 함량이 가장 높은 함량을 나타냈으며, CKJ-RG, CKJ-DD+RG 그리고 CKJ-DD 순이었다. 이러한 결과는 Kim 등이 보고한 홍삼 가공시간에 따른 페놀성 성분 함량의 변화와 일치하는 것이었으며[18], 총 페놀 성분의 분석을 통해 한방청국장의 품질관리가 가능할 것으로 사료된다.

항산화 활성 측정

활성산소(Reactive oxygen species; ROS)들로 인한 특정 세포의 손상은 각종 당뇨합병증을 유발한다. 따라서 효율적

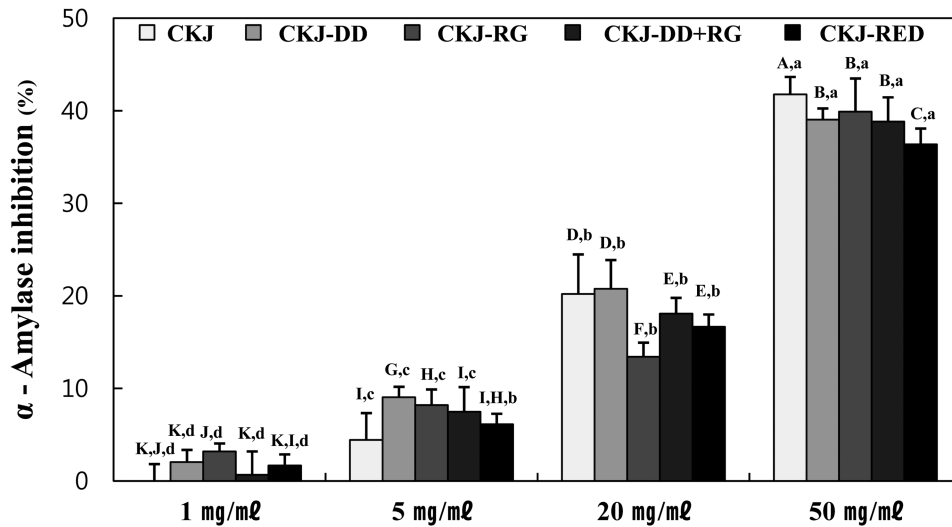


Fig. 1. Dose dependent changes in porcine pancreatic α-amylase inhibitory activity (% inhibition) of samples (mg/mL). CKJ: Cheonggukjang, CKJ-DD: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: Cheonggukjang fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: Cheonggukjang fermented with Red ginseng. The results represent the mean±S.D. of α-amylase inhibitory activities of three replicated samples. Different corresponding letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan’s test. First letter is among different samples and second one is among different concentrations within same samples.

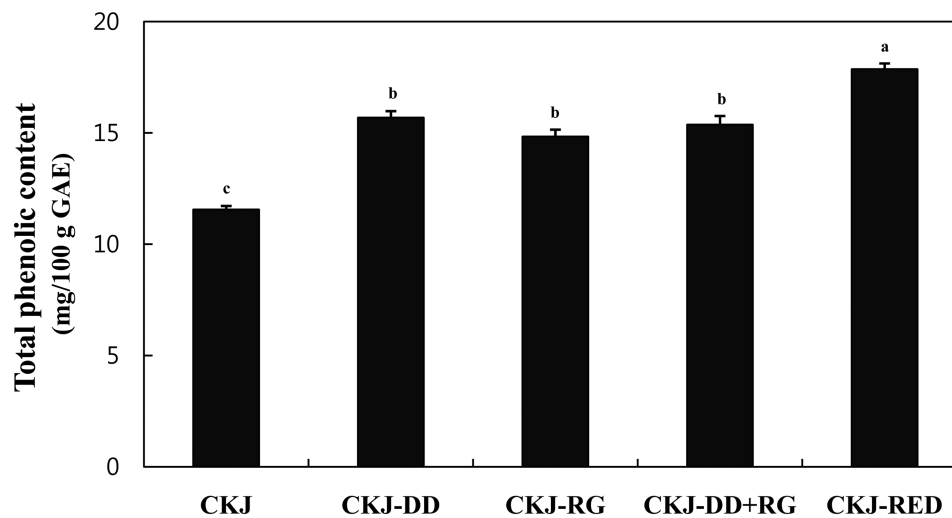


Fig. 2. Total phenolic content (mg/100g GAE) in sample extracts. CKJ: Cheonggukjang, CKJ-DD: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: Cheonggukjang fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: Cheonggukjang fermented with Red ginseng. ^{a-c} Values are the means ± SD of total phenolic content of three replicated samples. Bar with different letters indicate statistically significance of differences among groups at $p < 0.05$ by Duncan’s test.

인 당뇨병의 관리를 위해서는 활성산소를 제거 할 수 있는 항산화활성 물질의 섭취가 중요하다. 따라서 본 연구에서는 5종의 청국장(CKJ, CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)의 항산화 활성(Peroxyl radical 소거능)을 측정하였고 그 결과는 Fig. 3과 같았다. 10 µg/mL 농도에서 대조군인 CKJ과 비교하여 CKJ-DD은 비슷한 활성을 보였으나 CKJ-RG는 1.5배, CKJ-DD+RG은 3배 높은 항산화 활성을 나타

냈다. 일반적으로 지황은 낮은 항산화 활성을 나타낸다고 보고된 바 있다[2, 19]. 그러나, 지황을 첨가한 청국장의 항산화 활성이 높게 나타난 것으로 보아, 발효과정 중 유리된 페놀성 성분들에 의해 항산화 활성이 높게 나온 것으로 추측된다. 홍삼청국장(CKJ-RED)의 경우 총 페놀 함량은 가장 높게 나왔으나 항산화 활성은 일반청국장과 같거나 조금 나은 정도의 값을 나타냈다. 이는 홍삼유래의 페놀성 성분들

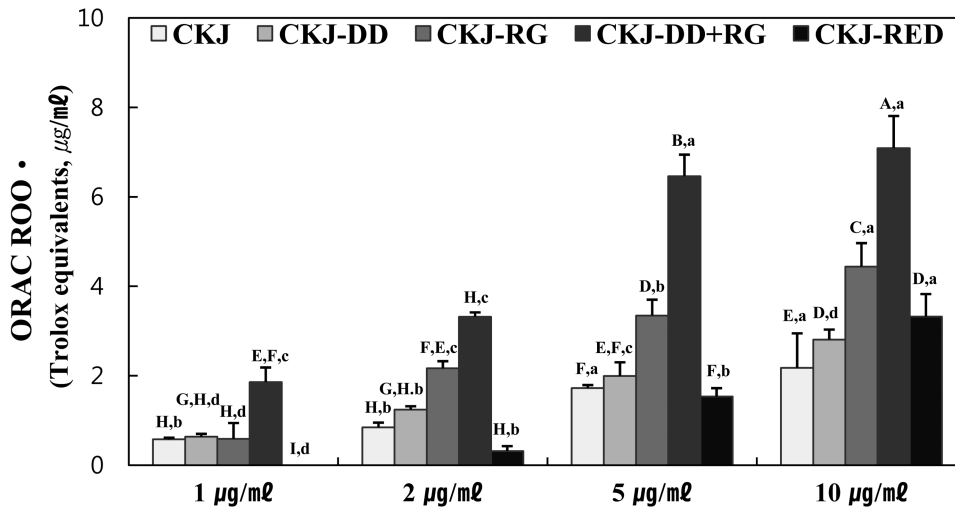


Fig. 3. Dose dependent changes in peroxy radical scavenging activity (Trolox equivalent, µg/mL) of 5 different *Cheonggukjang* samples. CKJ: Cheonggukjang, CKJ-DD: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas*, CKJ-RG: Cheonggukjang fermented with *Rehmanniae radix*, CKJ-DD+RG: Cheonggukjang fermented with *Angelica gigas* and *Rehmanniae radix*, CKJ-RED: Cheonggukjang fermented with Red ginseng. ^{a-d} Values are the means ± SD of peroxy radical scavenging activity of three replicated samples. Different corresponding letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's test. First letter is among different samples and second one is among different concentrations within same samples.

의 peroxy radical 소거능이 다른 한약재 유래의 페놀성 성분과 비교하여 다소 낮은 것으로 사료된다. 식물체에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 다양한 구조와 많은 hydroxyl 기를 가지고 있어서 free radical scavenging 효과를 통해 항산화 활성을 나타낸다고 보고 되어 있다[10]. 이상의 결과를 통해 총 페놀 성분 함량 측정과 함께 항산화 활성의 측정은 한약재 첨가 청국장의 품질관리 지표의 하나로서 사용이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

일반 청국장과 한약재를 첨가한 CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED의 기호도 및 기능성을 측정하였다. 색도 분석 결과, 5가지 청국장 모두 브라운 계열이었으며, a값(redness), b값(yellowness)은 5가지 청국장에서 모두 유의적인 차이를 나타냈다. 유리아미노산 분석 결과, 구수한 맛을 나타내는 Aspartic acid, Glutamic acid의 함량이 CKJ보다 한약재를 첨가한 청국장(CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)이 더 많은 함량을 나타냈으며, 단맛을 나타내는 alanine, glycine, lysine 또한 CKJ에 비해 한약재를 첨가한 청국장(CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)이 3~4.5배 더 많은 함량을 나타냈다. 반면, 한약재의 고유한 향에 의해서 쓴맛을 나타내는 leucine은 CKJ에 비해 CKJ-DD, CKJ-RED이 2배의 함량을 더 나타냈다. 한편 혈당강하 조절 기전과 관련된 항당뇨 활성 결과에서는 농도 의존적으로 혈당상승억제효과가 증가하는 경향을 나타내지만, CKJ과 한약재를 첨가한 청국장(CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-

RED) 간의 큰 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 5종의 청국장의 기능성을 알아보기 위해, 총 피놀릭성분의 함량 분석 결과, CKJ에 비해 한약재를 첨가한 청국장(CKJ-DD, CKJ-RG, CKJ-DD+RG, CKJ-RED)의 총 피놀릭 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 항산화 활성(Peroxy radical 소거능)을 측정한 결과, 10 µg/mL 농도에서 대조군인 CKJ과 비교하여 CKJ-DD은 비슷한 활성을 보였으나 CKJ-RG는 1.5배, CKJ-DD+RG은 3배 높은 항산화 활성을 나타냈다. 이상의 결과로 다양한 한방청국장 제품의 표준화 및 제품화를 위한 다양한 지표들을 확인 할 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 한남대학교 학술연구 조성비 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

1. Aoyama, N., K. Fukui, and T. Yamamoto. 1996. Effect of various forms of force-fed nitrogen sources on gastric transit times in rat. *J. Japanese Soc. Food Sci. Nutr.* **49**: 46-51.
2. Choe, M., D.J. Kim, H. J. Lee, J. K. You, D. J. Seo, J. H. Lee, and M. J. Chung. 2008. A Study on the Glucose-regulating Enzymes and Antioxidant Activities of Water Extracts from Medicinal Herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**: 542-547.
3. Cui, C. B., H. T. Choi, H. J. Lee, S. Y. Moon, S. H. Kim, B. G. Lee, D. S. Lee, and S. S. Ham. 2004. Hypoglycemic

- effect of the functional food manufactured by fermented soybean as main materials in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.* **33**: 1126-1132.
4. Eom, S. M., B. Y. Jung, and H. I. Oh. 2009. Changes in Chemical Components of Cheonggukjang Prepared with Germinated Soybeans during Fermentation. *Korean J. Appl. Biol. Chem.* **52**: 133-141.
 5. Gullett, N. P., A. R. Ruhul Amin, S. Bayraktar, J. M. Pezzuto, D. M. Shin, F. R. Khuri, B. B. Aggarwal, Y. J. Surh, and O. Kucuk. 2010. Cancer prevention with natural compounds. *Semin Oncol.* **37**: 258-281.
 6. Heo, J. S., J. Y. Chal, H. W. Kim, H. Y. Ahn, K. E. Eom, S. J. Heo, and Y. S. Cho. 2010. Bioactive Materials and Biological Activity in the Extracts of Leaf, Stem Mixture and Root from *Angelica gigas* Nakai. *J. Life Sci.* **20**: 750-759.
 7. Hong, S. P., Y. C. Kim, K. H. Kim, J. H. Park, and M. K. Park. 1993. Characteristic Component of *Rehmanniae Radix Preparata* Compared to *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Crudus*. *J. Korean Soc. Analytical Sci.* **6**: 401-404.
 8. Hoppe, M. B., H. C. Jha, and H. Egge. 1997. Structure of antioxidant from fermented soybeans (tempeh). *J. Am. Oil Chem. Soc.* **74**: 477-479.
 9. Jeong, Y. J., S. M. Wool, J. H. Kwon, M. S. Choi, J. H. Seong, and J. W. Lee. 2007. Quality Characteristics of Red Ginseng Cheonggukjang According to Addition Methods of Red Ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 889-895.
 10. Jung, D. S., C. H. Kwon, H. S. Lee, N. H. Lee, and M. J. Kang. 2008. Total Phenolic Compound, Vitamin C Levels and Antioxidant Activities of Vegetables Grown on Balcony Space of the Apartment in Urban Areas. *Korean Society for People, Plants and Environ.* **11**: 19-24.
 11. Kamiya, T. 2002. Biological functions and health benefits of amino acids. *Food Ingredients J. Jpn.* **206**: 33-44.
 12. Kil, J. O., G. N. Kim, and I. S. Park. 1998. Production and characterization of fibrinolytic enzyme: Optimal condition for the production of the enzyme produced from *Bacillus* sp. KP-6408 isolated from Chungkukjang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**: 51-56.
 13. Kim, D. H., G. Y. Lee, N. M. Kim, and J. S. Lee. 2003. Physiological functionality of various extracts from danmemil and legumes. *Korean J. Food Nutr.* **16**: 347-352.
 14. Kim, J. S. 1996. Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest.* **13**: 17-24.
 15. Kim, M. S., and Y. J. Oh. 2009. An Investigative Analysis of Preference and Uses for the *Angelica gigas* Nakai (Focused on the consumer in the Seoul and Kyunggido Area). *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **19**: 783-790.
 16. Kim S. H., J. L. Yang, and Y. S. Song. 1999. Physiological functions of chungkukjang. *Food Industry and Nutr.* **4**: 40-46.
 17. Kim, W. K., K. H. Choi, Y. T. Kim, H. H. Park, J. Y. Choi, Y. S. Lee, H. I. Oh, I. B. Kwon, and S. Y. Lee. 1996. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from chungkookjang. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2482-2488.
 18. Kim, Y. H., H. K. Yoon, and K. S. Chang. 1984. The contents of phenolic compounds and antioxidant activities in various year stored red and white ginsengs (*panax ginseng* C.A. Mayer). *Res. Rep. Agri. Sci. Tech. Chungnam Natl. Univ.* **11**: 295-302.
 19. Kim, U. S., Y. H. Lim, S. G. Wang, S. J. Yun, and C. R. Park. 1998. The Physicochemical Properties and Antioxidation Effect of Samul Chol-Pyon. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**: 990-996.
 20. Kurihara, H., H. Fukami, S. Asami, Y. Totoda, M. Nakai, H. Shibata, and X. S. Yao. 2004. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 1093-1098.
 21. Kwon, Y. I., D. A. Vettem, and K. Shetty. 2005. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **15**: 107-118.
 22. Nielsen, I. L. and G. Williamson. 2007. Review of the factors affecting bioavailability of soy isoflavones in humans. *Nutr. Cancer.* **57**: 1-10.
 23. Park, N. Y., J. H. Seong, M. S. Choi, K. D. Moon, J. H. Kwon, and Y. J. Jeong. 2008. Comparison of Functional Properties of Cheonggukjang by Using Red Ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**: 261-268.
 24. Rozan, P., Y. H. Kuo, and F. Lambein. 2000. Free amino acids present in commercially available seedlings sold for human consumption. A potential hazard for consumers. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 716-723.
 25. Rye, C. H., I. J. Kim, H. K. Kim, Y. K. Jeong, and J. H. Chung. 2002. Study of Functional Chungkukjang contain Fibrinolytic Enzyme. *Korean J. Life Sci.* **12**: 357-362.
 26. Ryu, B. M., K. Sugiyaba, J. S. Kim, M. H. Park, and G. S. Moon. 2007. Studies on Physiological and Functional Properties of Su sijang, Fermented Soybean Paste. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 137-142.
 27. Sakai, T. and M. Kogiso. 2008. Soy isoflavones and immunity. *J. Med. Invest.* **55**: 167-173.
 28. Youn, H. K., H. S. Choi, S. H. Hur, and J. H. Hong. 2001. Antimicrobial activities of viscous substance from chungkukjang fermented with different *Bacillus* spp. *J. Food. Sci. Technol.* **32**: 1266-1270.

(Received Oct 20, 2010/Accepted Nov. 15, 2010)