

청국장질의 불쾌취 억제와 맛의 증진에 관한 연구

주현규 · 윤세억*

(선문대학교 식량자원학부 · *전북대학교 응용생물공학부)

Improvement on Flavor and Taste of Chungkookjang by Freeze denaturation of Soybean

Hyun-Kyu Joo · Sei-Eok Yun*

Division of Food Resources & Food Manufacturing, Sun Moon Univ.

*Faculty of Biotechnology, Chon Bok National Univ.

적 요

청국장의 제조시 대두원료를 동결처리함으로써 맛의 증진을 유도하고 첨가물로 썩을 사용하여 불쾌취의 발생을 억제하고 저장성이 향상된 저염의 청국장을 생산하고자 하였다. 동결(-20℃, 4 hours)시킨 대두원료로 청국장메주를 만들고 식염을 4%와 8%로, 썩을 0%, 0.5%, 1%농도로 각각 첨가시켜서 청국장을 제조하고, 동결처리하지 않은 청국장과 함께 20℃에서 7일, 14일, 21일, 28일간 숙성시켰다. 숙성 기간별로 청국장 중의 아미노태 질소, 총질소와 α-amylase, protease의 변화, 대조구와 비교, 조사하였다. 또한 청국장 특유의 향기 성분의 변화와 숙성과정 중의 휘발성 물질을 확인하였으며 관능검사와 Electronic Nose System를 통해서 관능적 품질 성상의 변화를 조사하였다. 청국장 숙성 과정에서 동결처리한 콩이 비처리한 것보다 단백질 분해력이 비교적 높았고 액화 효소력은 상대적으로 낮았으며, 썩첨가량 증가에 따라 CIS-3-Hexenol 생성량이 감소하였고 14일 숙성된 청국장이 선호도와 관능검사가 높았다.

I. 서 론

대두는 값싸고 우수한 식물성 단백질의 주된 공급원으로써 일반식품에 부족되기 쉬운 제한 아미노산인 lysine을 다량 함유하고 있다.¹⁾ 일반적으로 대두는 두부, 두유, 콩나물, 콩국 및 밥공 등으로 이용되어지고 있을 뿐만 아니라, 한국을 비롯한 동양에서는 전통적으로 장류로 가공되어 이용되어져 왔다.

장류는 한국, 중국, 일본등지에서 옛날부터 가공, 이용해 온 조미 식품으로써 콩을 발효하고 식염을 가미한다는 점에서는 비슷하지만 발효에 관여하는 미생물, 숙성과정, 전분질

원료의 혼용여부, 기타 식염첨가량등이 국가나 지역마다 달라서 각각 독특한 제품으로서 전해 내려오고 있다. 장류는 콩이 주원료이고 발효후 고소한 맛과 단맛 그리고 식염의 첨가에 의한 짠맛과 당의 분해시 생성되는 알코올과 유기산등의 향미성분이 생성되어 특유의 맛으로 조화를 이루고 있다. 장류 발효에 관여하는 미생물은 단백질과 탄수화물을 분해하는 효소들을 분비하고 발효 및 숙성과정중에 각종 향미성분을 생성시킨다.²⁾ 전통발효 조미식품인 된장, 간장등의 품질은 원료로 사용하는 메주에 의해서 좌우된다고 할 수 있으며 이의 품질향상을 위한 많은 연구가 있다.

김등³⁾에 의하면 단백질 함량이 많고 탄수화물이 적은 콩코오지는 protease를 많이 생성하고 반대로 단백질 함량이

적고 탄수화물 함량이 적은 보리코오지는 α -amylase를 많이 생산한다고 한다. 또한 식염의 첨가량이 많을수록 효소력은 감소한다고 한다.⁴⁾ 박등은⁵⁾ 개량식 메주의 발효균주로써 곰팡이보다 Bacillus 접종구가 단백질화가 빠르다고 했으며, 김⁶⁾은 메주제조시 국수형으로 압출한 후 건조시켜 라면형의 일정한 고품체로 성형시킨 것이 효소 역가가 높고 색, 맛, 향기 등이 좋다고 했다. 배등⁷⁾은 메주의 숙성중 아미노산의 양적 변화를 조사했는데 총 17개의 아미노산 중 glutamic acid가 가장 많았으며 lysine, histidine, threonine, serine, alanine, isoleucine의 순으로 증가했고 그 외에는 감소했다고 했다.

일반 장류와는 달리 청국장은 증자한 대두에 청국장균(Bacillus subtilis)을 접종해서 숙성 발효한 후 가미해서 사용할 수 있기 때문에 제조기간이 짧은 장점^{8,9)}이 있다. 또한 청국장은 소화율이 좋고 영양적 측면에서도 된장이나 고추장보다 단백질과 지방함량이 높은 고영양식품이며, 정장작용과 함께 간장을 보호해주는 작용이 있다고 인정되고 있음에도 불구하고 조리시에 크게 발생하는 특유의 악취에 가까운 불쾌취의 발생으로 현대의 소비자들에게 기피되고 있는 실정이다. 더욱 조미나 저장성을 고려한 과도한 식염의 첨가는 현대인의 식생활에 적합하지 않다는 점에서 문제점이 있으며, 식생활의 고급화에 부응하는 청국장 맛의 증진을 위한 노력의 부족도 청국장 기피의 원인이 된다.

주¹⁰⁾는 청국장용 메주의 발효기간을 단백질 분해 효소력과 아미노산 질소 함량으로 볼 때 36~54시간내로 발효하는 것이 효과적이라고 보고했고, 신등¹¹⁾은 청국장의 식염첨가에서 1% 첨가시 단백질분해력이 가장 좋았으며, 3% 이상의 첨가시 저해를 받았다고 한다. 이등¹²⁾은 청국장의 저장중에 진행되는 지방의 산패와 관능특성간에 높은 상관관계가 있다고 하였다. 유¹³⁾는 쑥의 물 추출물이 적은 농도로 첨가될 때 청국장의 관능적 특성이 향상되었고, 쑥의 에탄올 추출물보다 물 추출물의 첨가가 청국장의 냄새성분 변화에 더 큰 영향을 준다고 했다. 따라서 강한 항산화성 물질을 첨가함으로써 청국장의 발효, 숙성중 지질의 산화 및 산패에 의한 불쾌취의 생성을 억제할수 있고 청국장의 향미를 증진할수 있는 가능성을 기대할 수 있다.

한편, 쑥(Artemisia asiatica Nakai)은 아시아와 유럽지역 등에 널리 분포되어 있으며 국화과에 속하는 번식력이 강한 다년생 초본으로써 오래전부터 한방에서는 코피, 자궁출

혈 등의 지혈약으로 쓰이고 있으며 소화, 허복부 진통, 구충, 약취제거 등의 효과가 있다고 한다.^{14,15)} kilsey등¹⁶⁾에 의하면 쑥은 혈청내 total protein과 albumin을 증가시키고, 주요 아미노산으로 glycine, tyrosine, arginine, aspartic acid, glutamic acid, phenylalanine, threonine등이 있다고 한다. 한국에서는 독특한 향기와 맛으로 인해 쑥절편, 쑥절기, 쑥경단등의 떡류와 쑥전, 쑥국, 쑥나물등으로 이용하거나 튀김용, 떡무늬용, 쑥색깔용, 쑥냄새용 등으로 이용되어 왔다.¹⁷⁾ 그러나 쑥에 대한 연구들은 주로 쑥의 화학성분에 관한 것이 많아서 쑥의 vitamin C,¹⁸⁾ 지방산의 함량 변화,¹⁹⁾ 영양성분의 연구등²⁰⁾이 있으며 일부 쑥의 가공방법²¹⁾과 쑥의 약용효과에 관한 연구가 대부분이고, 식품 및 식품첨가물적, 영양학적 연구^{22,23)}는 매우 부족하다.

동결은 일반적으로 식품의 보존방법으로 사용되며, 동결건조와 동결농축 및 분쇄조작의 기본이 된다. 식품의 동결시 필연적인 문제점은 수분의 상변화에 의한 빙결정의 생성으로 이들의 형상, 크기 및 분산구조는 식품의 제품물성과 가공특성에 크게 영향을 미친다. 동결 특히 완만동결은 일반적으로 식품 육질을 손상시켜 식품의 가치를 하락시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 식품으로서의 가치가 낮은 탈지대두로부터 섬유상 단백질이라든가 조직상 단백질 등의 새로운 식품 소재를 개발하기 위한 연구에서 동결을 이용한 사실²⁴⁾이 있었으며, 이등²⁵⁾의 연구에 의하면 장기간의 건조에 의해서 조직이 단단해진 두류는 직접 식용으로 하거나 2차 가공을 할 경우 긴시간에 걸쳐 충분한 열을 공급하여 맛과 소화성을 높여야하는 문제점이 있지만 동결처리한 대두를 사용해서 이러한 문제들을 해결할수 있었으며 맛을 증진시킬수 있었다고 한다. 윤등은 동결처리한 대두를 이용해서 두부 및 두유를 제조하면 두부의 응고속도 증가와 질감의 향상 및 두유의 단백질 함량의 증가와 갈색화 반응의 억제효과 등이 있었고, 동결처리한 대두를 사용해서 메주를 제조했을 때 α -amylase와 protease 활성이 높아졌으며 이 메주를 이용해서 제조한 된장의 맛과 향이 우수해 졌다고 한다.

따라서 본 연구에서는 동결처리한 대두를 이용하여 두유와 두부, 메주와 된장을 제조했을 때 관능적 품질이 개선된 사실에 근거해서 동결처리한 대두원료를 사용하여 청국장을 제조하고 숙성과정중의 화학성분과 향기성분의 변화를 측정하여 동결처리가 청국장의 품질에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 쑥을 첨가함으로써 청국장의 불쾌취 억제¹³⁾와 맛의 증

Table 1. Chemical composition of mugwort and soybean

component material	moisture	crude protein	crude fat	crude fiber	ash
Soybean	11.2	33.8	12.2	4.5	4.2
Mugwort	7.8	16.2	2.0	15.6	10.2

진이 기대되는바 쑥과 식염의 첨가량을 달리하여 청국장을 제조하고 숙성과정중의 화학성분과 향기성분을 측정하여 고품질의 청국장 제조를 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

가. 원료

대두(*Glycine max. L*)는 1996년 가을에 수확한 영광산 메주제조용 황대두(진품)를 우리콩 살리기 운동본부에서 구입 하였다. 쑥(*Artemisia asiatica Nakai*)은 1995년 강화산으로 경동시장에서 건조품을 구입하여 사용하였다. 각 원료의 일반성분은 Table 1과 같다.

나. 사용균주

청국장 제조에 사용한 균주는 청국장에서 분리, 동정하여 건국대학교 농화학과에 보관중인 *Bacillus subtilis*를 사용하였다.

다. 시약 및 기기

전처리 및 분석용으로 사용한 시약은 Merck, Sigma, Aldrich, Junsei제 특급 시약을 사용하였다. 시료의 전처리에서는 원심분리기(Hanil, Korea)와 진탕기(Vision, Korea)를 사용하였다. pH측정에는 pH meter(Fischer scientific Co, U.S.A)를, 총질소 측정에는 자동 단백질 분석장치(Kjeltec Auto 1035/38 Sampler system, Tecator Co., Sweden)를, 효소활성의 측정에는 UV-Visible Spectrophotometer (HEWLETT PACKARD 8452 Series)를, 향기성분의 분석은 Gas Chromatography (HEWLETT PACKARD 5890 Series II)를, 냄새성분의 판별에는 Electronic Nose System(e-Nose™ Aroma Analysis System, Neotronics Scientific, U.K.)을 사용

하였다.

2. 실험방법

가. 종균의 제조

정선한 대두 30g을 15℃의 물에서 12시간 침지하고 1시간 동안 정치하여 탈수했다. 탈수된 대두를 121℃, 1.3기압에서 20분간 가압살균한 후 50℃로 냉각하고 청국장균을 접종하여 40℃로 유지되는 항온기에서 48시간 배양하여 종균으로 사용 하였다.

나. 쑥 추출물의 제조²⁷⁾

건조쑥을 잘게 자른후 100g을 취해서 2l 용량의 round flask에 넣고 10배(w/v)의 증류수를 가하여 환류 냉각관이 부착된 60℃의 heating mantle에서 5시간 동안 3회 반복 추출한 후 200 mesh로 거른후 위 여액을 감압농축기(Heidolph, Germany)로 가용성 고형물양이 30°Brix가 되도록 농축하였다.

다. 청국장메주의 제조

정선한 대두 3kg을 15℃의 물에서 12시간동안 침지하고 1시간 탈수한 후 -20℃로 유지되는 냉동고에서 4시간 동안 동결시켰다. 동결이 완료된 대두를 증자솥을 이용해서 100℃에서 1시간 증자했다. 증자가 끝난 대두를 50℃까지 식힌 후 종균을 원료 중량의 0.1%되도록 접종하고 40℃에서 48시간 발효시켰다.

대조구는 동결처리 과정을 제외하고 시험구와 동일하게 처리했다.

라. 청국장의 제조

대조구와 시험구의 발효된 청국장 메주에 식염을 각각 4%와 8% 되게 넣고 chopper로 마쇄한후 쑥의 물 추출물을 각

Table 2. Experimental groups for the Chungkookjang

Treatment	Non - Frozen (N, F)						Frozen (F)					
	4			8			4			8		
NaCl Added (%)	4			8			4			8		
Mugwort Added (%)	0	0.5	1	0	0.5	1	0	0.5	1	0	0.5	1
Groups	NF 4/0.0	NF 4/0.5	NF 4/1.0	NF 8/0.0	NF 8/0.5	NF 8/1.0	F 4/0.0	F 4/0.5	F 4/1.0	F 8/0.0	F 8/0.5	F 8/1.0

각 0%, 0.5%, 1.0%로 첨가해서 균일하게 혼합하여 숙성용기에 담고 20℃에서 한달간 숙성시켰다.

마. Protease 측정

Anson법³²⁾에 준하여 실험하였다. 0.01M-McIlvaine buffer(pH 7.0)에 녹인 0.6% Hammarsten casein 기질 용액 3ml에 조효소액 1ml를 넣고 40℃로 유지되는 항온조에서 10분동안 반응시킨후 0.4M-TCA 3ml를 넣어서 반응을 정지시킨후 30분간 정치시키고 여과(Whatman, NO.2)했다. 위 여과액 1ml에 0.4M-Na2CO3 5ml와 1N-Folin reagent(Phenol reagent) 1ml를 신속히 넣고 실온에서 30분간 발색시킨후 UV spectrophotometer로 흡광도(660 nm)를 측정했다. 대조구는 조효소액의 활성을 0.4M-TCA 용액으로 먼저 불활성화 시킨후 측정되었다. 효소활성은 시료 1g이 1분 동안 1μg의 tyrosine을 생성시키는 것을 1 unit로 하였다. Calibration curve (Fig. 1)는 아미노산중 tyrosine을 이용하여 작성하였으며 시료의 흡광도가 유효한 범위에 들어오도록 다단계로 희석하여 사용하였다.

바. α-Amylase 측정

D.U.N(Dextrinogenic Unit of Nagase)법³¹⁾에 준하여 실험하였다. 시료 10g을 취해서 10배의 증류수를 가하고 실온에서 2시간 동안 진탕(200rpm)하여 원심분리(2750 g, 4℃, 30min.)한 후 상등액을 취하여 조효소액으로 사용하였다.

0.01M-Phosphate buffer(pH 6.8)에 녹인 1% soluble starch 2ml에 조효소액 1ml를 넣고 40℃ 항온조에서 10분간 반응시킨후 0.4M-TCA 용액 3ml를 넣어서 반응을 정지시킨후 30분간 정치시키고 여과(Whatman, NO.2)했다. 위 여과액 1ml에 0.005% I2 용액을 10ml 가하여 실온에서 30분간 발색시킨후 UV spectrophotometer로 흡광도(660 nm)를 측정했다. 대조구의 흡광도는 조효소액의 활성을 0.4M-

TCA용액으로 먼저 불활성화 시킨후 측정되었다. 효소의 역가는 40℃에서 10분간 반응했을 때 흡광도가 0.0001감소하는 것을 1 unit로 하였으며 아래의 식에 의해서 계산하였다.

$$\alpha\text{-amylase activity} = (\text{Control A.} - \text{Sample A.}) \times \text{Dilution rate}$$

사. 아미노태 질소 측정²⁹⁾

시료 10g을 100ml의 열수로 용해한 후 1분간 약하게 끓이고 200ml가 되도록 증류수로 희석하고 이를 잘 혼합하여 거른(Toyo, No.2) 후 여액 20ml를 취했다. 위 액에 지시약(phenolphthalein)을 한방울 넣은 후 0.1N-NaOH용액으로 미홍색이 될 때까지 적정하여 A용액으로 하였다.

중성 Formalin 용액(35%)에 지시약(phenolphthalein)을 한방울 넣은 후 0.1N-NaOH용액으로 미홍색이 될 때까지 적정하여 B용액으로 하였다. 위 A용액과 B용액을 20ml씩 정확히 취하여 잘 혼합한 후 0.1N-NaOH으로 적정하여 다음 식으로 아미노태 질소 함량을 산출하였다.

$$\text{Amino-type N(mg\%)} = \frac{0.1\text{N-NaOH} \times \text{ml}0.0014 \times 1,000 \times f}{\text{Sample(g) times Dilution} \sim \text{rate}} \times 100$$

f = 0.1N-NaOH factor

0.0014 = Nitrogen conversion factor

아. 총질소 측정

시료중에 존재하는 총질소의 양은 Kjeldahl법³⁰⁾에 의하여 자동 단백질 분석장치(Kjeltec Auto 1035/38 Sampler system, Tecator Co., Sweden)를 이용하였다. 각 시료를 1g씩 취하여 C-H2SO4용액을 12ml, 분해 촉진제(K2SO4)와 CuSO4의 9:1혼합액) 4g을 분해 플라스크에 넣은 후 420℃에서 80분간 분해시켰다. 위 분해액을 냉각시킨후 Kjeltec Auto 1035/38 Sampler System에 넣어서 증류시키고 적정하여 시료중의 총질소의 양을 측정하여 %단위로 표시하였다.

자. 향기성분 측정³³⁾

시료 10g을 취하여 50ml의 Diethyl ether에 넣고 ISTD(n-hexadecane) 1mg을 정확하게 넣은 후 상온에서 진탕(150 rpm, 2hr)추출한후 여과(Toyo NO.5A)했다. 위 여과액에 2g의 무수 MgSO₄를 넣고 진탕하여 8시간 동안 정지시킨후 다시 여과했다. 위 여과액을 질소기류하에 1ml까지 농축한 후 Gas Chromatography를 이용해서 휘발성 향기성분을 측정했다. 각 미지 성분의 확인은 표준물질의 Retention time과 Liberaley searching, EPA/NIH spectra data와 fragmentation pattern을 상호 비교하여 확인하였다. 각 성분의 양은 다음 식에 의하여 계산하였다.

Absolute amount of Y (μg/g)

$$= \frac{Y \text{ peak Area}}{\text{ISTD peak Area}} \times \frac{Y \text{ Response Value}}{\text{ISTD Response Value}} \times \frac{\text{ISTD amount } (\mu\text{g})}{\text{Sample(g)}}$$

이때 분석조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Operating condition of Gas Chromatography for volatile compounds analysis

Model	HEWLETT PACKARD 5890 Series II
Detector	Flame Ionization Detector
Column	SE-54 (fused silica capillary, SUPELCO) 25m 0.32mm 0.3m
Column temp.	40°C (5min.) programed 10°C/min. to 230°C (30min.)
Detector temp.	230°C
Injector temp.	230°C
Carrier gas	N ₂ (1ml/min.)
Split rate	0 : 1

차. 관능검사

관능검사는 항목척도(Category scale)³⁴⁾을 사용하였다. 관능검사용 청국장은 물 300ml에 청국장 80g, 두부 20g, 마늘 10g, 파 20g, 고춧가루 1g을 넣고 20분간 가열하여 만든 청국장 찌개로 제공되었으며, 각 시료의 향미(구수한 맛과 짠맛, 불쾌취의 정도)와 색을 각각 평가하고 전체적인 선호도를 평가하도록 했다. 관능검사원은 건국대학교 농화학과 재학생 8명으로 구성되었으며, 남녀 비율은 1:1이고 연령은 20세에서 27세 사이였다. 청국장 시료들은 무작위로 추출된 3자리의 번호표가 표기된 1회용 종이컵에 넣어져서 제공되었으며 매번 시료의 제공순서 및 번호를 달리하여 칸막이가 있는 개인검사대에서 오후 3시경에 검사되었다. 검사원은 식빵

과 식수를 사용하여 입안의 맛을 제거하고 각 검사에 입하였다. 각 항목의 평가시 강한 것을 7점, 약한 것을 1점, 보통을 4점으로 평가하도록 하였다.

카. 냄새성분 판별

청국장 냄새성분은 재현성 있는 판별을 위하여 Sensor가 12개 장착된 Electronic Nose System (e-Nose™ Aroma Analysis System, Neotronics Scientific, U.K.)을 사용하여 기기적으로 판별하였다. 이때의 분석조건은 다음과 같다. head 부분의 purge time은 상온에서 3분, 평형시간은 0분이었고, vessel부분의 purge time을 5분, 평형시간을 8분간 유지시켜 전체 분석시간을 43분 30초로 설정하였다. 시료의 냄새감응도 재현성을 감안하여 동일 시료를 3회 반복 측정하였으며 Multiple Discriminat Analysis(다중 판별분석), Caronical Correlation Analysis(정준 상관분석)을 통해서 동결처리구와 대조구 사이의 냄새성분의 판별과 숙성기간에 따른 청국장 냄새성분의 차이를 비교했다.

III. 결과 및 고찰

1. 숙성 기간 중 효소력 변화

일반 대두와 동결처리한 대두를 이용하여 청국장메주를 제조한후 썩침가량과 염도를 달리하여 청국장을 제조하여 20°C에서 숙성시키면서 효소활성을 비교, 관찰하였다. 숙성기간 중의 Protease activity의 변화는 (Fig. 2, 3)와 같다. α-Amylase가 숙성 7일에 최고 활성을 보인 반면에 Protease는 숙성 14일까지 급격히 효소력의 증가를 보인후 급격히 감소하였으며 특히 동결처리구가 대조구에 비해서 높은 효소활성을 보였다. 동결처리구와 대조구 모두 썩의 첨가량이 0.5%인 청국장이 비교적 높은 효소활성을 보였다. 한³⁸⁾은 썩 분말의 첨가량이 1.0%일때 가장 높은 Protease activity를 보였으며 숙성 7일 이후 감소한다고 보고하였는데 이는 본 실험과 다소 상이한 결과로써 청국장 제조방법 및 숙성기간 중 조건, 썩의 첨가형태와 첨가량 등의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

α-Amylase activity 변화는 (Fig. 4, 5)와 같다. 염도 4%의 처리구와 8%구 모두 숙성 7일에서 최고치를 보인후 감소하는 경향이있지만 전체적으로 4%구가 8%구 보다 높은

효소력을 보였다. 동결처리구와 대조구는 모두 썩을 0.5% 첨가 했을 때 가장 높은 수치를 보였으며 동결처리구가 대조구에 비해서 전체적으로 효소력이 다소 높았으나 유의적인 차이는 크게 없었다. 한³⁸⁾에 의하면 썩 분말의 1.0%첨가시에 α -Amylase activity가 높았으며, 숙성 7일 이후 감소한다고 보고하였는데 이는 본 실험과 썩 첨가량에서 약간 상이한 결과를 보이지만 숙성기간 중의 효소력 증감은 일치하는 경향을 보였다. 윤등²⁶⁾은 동결처리한 대두 원료로 제조한 메주에서 α -Amylase activity와 Protease activity가 매우 높았다고 보고했는데 본 실험에서는 동결처리한 대두 원료를 사용하여 청국장을 제조하였을 경우 Protease activity의 확연한 증가를 볼 수 있었다. 이는 동결시킨 대두원료의 사용에 의해서 발효미생물의 기질로 사용되는 대두단백질의 조직이 동결에 의해서 일차적으로 파괴 되어, 발효 미생물에 더 신속히 분해되고 이용되어 상대적으로 높은 Protease activity를 보인것으로 생각된다.

2. 숙성기간 중 아미노태 질소와 총질소 변화

각 시험구 청국장의 숙성기간 중 아미노태 질소 변화는 (Fig. 6, 7)과 같다. 모든 청국장들은 숙성 3일후 식품공전상의 아미노태 질소량(280mg%) 기준치를 넘었으며, 숙성 21일에 최고치를 보인후 감소했다.

(Fig. 6)를 보면 4%의 염도처리구에서 동결처리구와 대조구 모두 썩을 0.5% 첨가했을 때 가장 높은 수치를 보였으며 동결처리구가 대조구에 비해서 약간 높은 아미노태 질소량을 보였으며 숙성 21일에 전체적으로 가장 높은 함량을 보였다. (Fig. 7)을 보면 전체적으로 (Fig. 6)과 동일한 패턴을 보이고 있으나 상대적으로 낮은 아미노태 질소량을 보이고 있다. 이는 8%의 염도가 발효 미생물의 생육을 4%의 염도보다 크게 저해하는 것에 기인하는 결과로 고려된다. 유³³⁾는 청국장 숙성과정중 썩의 첨가량에 따른 아미노태 질소량의 변화에서 숙성 15일에서 20일까지 급격히 증가하는 경향을 보였으며 썩의 첨가량에 따라서는 큰 영향이 없었다고 보고했다. 반면에 한³⁸⁾은 썩 분말의 첨가량이 많을수록 아미노태 질소의 양이 증가하여 1.0%첨가시에 가장 높은 값을 보였으며 숙성 14일 이후 감소한다고 보고하였다.

이상의 결과를 보면 썩의 첨가형태와 첨가량, 청국장의 숙성조건등의 차이에 따라서 아미노태 질소의 생성량은 달라질

수 있으며, 본 실험에서 원료 대두의 동결처리와 썩의 적당농도(0.5%) 첨가로 아미노태 질소량의 생성을 증대시킬수 있었다.

숙성 기간 중 총질소 변화는 (Fig. 8, 9)와 같다. 본 실험에서는 염도 4%의 처리구와 8%구 모두에서 숙성기간이 진행됨에 따라서 매우 소량이지만 비교적 완만히 감소하는 경향이였으며 동결처리구가 대조구에 비해서 총질소량의 감소량이 컸다. 이는 청국장 내의 총질소량이 수용성 질소, 아미노태 질소, 암모니아태 질소 및 기타 합질소화합물등으로 변화되거나 미생물 대사에 기질로 사용되어 감소하는 것으로 생각되며, 동결시킨 대두는 대두단백질의 조직이 동결에 의해서 일차적으로 파괴된후 발효시 더 신속히 분해되고 이용되어 그 감소량이 증가한 것으로 생각된다. 황³⁹⁾은 시판 청국장의 총질소량이 대두단백질 원료와 수분량의 차이에 따라서 2.0에서 3.8%의 범위로 존재하며 평균 3.07%의 값을 가진다고 했는데 이는 본실험의 총질소량과 유사했다. 서³⁶⁾는 청국장의 숙성과정 중 총질소량은 2.31%에서 2.98%정도의 범위내에서 숙성 18일까지 불규칙적인 증감을 보인다고 했으며 이것은 실제 총질소량은 거의 변화하지 않고 청국장내의 수분량의 증가에 기인한다고 밝혔다. 한³⁸⁾은 청국장 숙성시 총질소량은 7일까지 증가한후 그후 감소하는 경향이였으며, 썩의 첨가량에 따라서 총질소량도 증가했다고 하였다.

3. 숙성 기간 중 휘발성 향기성분의 변화

청국장 제조시 원료 대두의 동결처리 및 썩 첨가와 염도에 따른 향기성분의 변화를 조사하기 위하여 diethyl ether로 청국장 시료를 직접 추출하고 농축한후 SE-54 column으로 분리하여 얻은 Chromatogram은 (Fig. 10, 11)과 같다. 동결처리구와 대조구 사이에 Chromatogram은 거의 유사하였으며 7개 정도의 peak를 확인할 수 있었다. (Fig. 10, 11)에서 분리된 각 성분들을 확인한 결과는 (Table 4)와 같이 butenal, hexanal, hexenol 등과 몇가지 pyrazine류 었다.

동일한 시료를 BSTFA(N,O-bis(trimethyl silyl)Tri Fluoro Aceto amide, Fluca Co.)로 Silylation하여 얻은 Chromatogram은 (Fig. 12, 13)과 같으며 이 그림에서 처럼 비휘발성 물질의 Silylation에 의한 휘발성의 증가로 인해 더 많은 peak를 분리할 수 있었다. 확인된 7개의 화합물 중 에서 Hexenol과 Hexanal, 2,6-Dimethyl pyrazine은 모

든 청국장 시료에서 다량 존재하였다. Hexenol의 숙성기간 중 함량 변화는 Table 5와 같다. 동결처리구와 대조구 모두 숙성기간이 증가함에 따라서 Hexenol의 함량은 거의 동일하게 증가했으며 식염의 첨가량이 4%일때가 8%에 비해서 다소 많은 양으로 생성되었고, 썩의 첨가량이 증가함에 따라서 Hexenol이 생성되는 비율도 감소했다. 이는 썩의 항산화력에 기인하는 것으로 추정되며 대두발효물의 산패취 및 콩비린내의 원인으로 알려진 Hexenol의 생성 억제에 썩이 매우 효과적인 물질임을 시사한다고 볼 수 있으며 썩의 사용으로 불쾌취가 억제된 고품질의 청국장 제조가능성을 기대할 수 있다고 사료된다.

2,6-Dimethyl pyrazine의 숙성기간중 함량 변화는 Table 6과 같다. 2,6-Dimethyl pyrazine은 숙성기간 중 거의 모든 청국장에서 20에서 40 μ g/g의 범위로 거의 일정하게 존재하였으며 숙성기간의 진행에 따라 조금씩 증가하는 경향이었다. 동결처리한 대두를 이용한 청국장에서 2,6-Dimethyl pyrazine의 생성량이 전체적으로 증가되고 있음이 관찰되었으며 썩의 첨가와 염도의 차이에 따라서는 유의성이 없었다. 반면에 2,3,5-Trimethyl pyrazine과 2-Methyl pyrazine등은 매우 소량씩 존재하였으며 청국장 시료에서 불규칙하게 존재하였다. 김³³⁾은 청국장 발효시 식염 첨가량과 알콜 첨가량의 변화에 의해서 청국장 향기성분의 변화를 측정했으며 이에 따른 향기성분의 변화는 크지 않다고 보고했으며, diethyl ether를 이용한 직접 추출법과 BSTFA를 사용한 silylation법의 사용으로 청국장의 향기성분의 분석시 간편성과 재현성의 문제를 해결할 수 있는 가능성을 보고했다. 본 연구에서도 diethyl ether를 이용한 직접 추출법과 BSTFA를 사용한 silylation법의 사용으로 청국장의 향기성분의 분석시 재현성과 간편성을 확인할 수 있었으며 식염의 첨가량에 따른 향기성분의 변화는 거의 없었음을 볼 수 있었다.

최⁴⁰⁾에 의하면 증자한 대두에 Bacillus subtilis와 Bacillus natto를 각각 접종하여 청국장을 제조한후 연속 증류 추출장치를 사용하여 향기성분을 추출하고 농축한 후 GC와 GC-MS를 사용하여 청국장 향기 성분을 분리, 동정한 결과 Bacillus subtilis를 사용하여 제조한 청국장에서는 3-methyl-1-butanol, 2-methyl propanoic acid, 1-octen-3-ol, 3-hexen-1-ol 등의 주된 콩비린내 화합물이 Bacillus natto를 이용하여 제조한 청국장보다 많았다고 했으며

trimethyl pyrazine, tetramethyl pyrazine등 7종류의 alkyl pyrazine을 확인하고 그 증가를 보고하였다. 이들 alkyl pyrazine류는 주로 식품이나 가공식품원료의 가열조작시 생성되는 향기 물질의 대표적 물질로서 주로 단백질, 아미노산과 당의 열분해 반응에 의해서 생성되는 것으로 보고되었으며 콩류가 가열되어질 때 콩비린내의 원인으로 알려진 hexanal등과 함께 이들 alkyl pyrazine류가 다량 생성된다고 Sheikh M. Basha⁴¹⁾등은 보고했다. 본 연구에서도 몇 종류의 alkyl pyrazine류와 alcohol, aldehyde, ketone류를 확인했으나 상대적으로 적은 양의 향기 물질을 분리, 확인했는데 이는 청국장의 제조방법 및 숙성과정, 향기성분의 전처리방법과 분석조건등의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

Table 4. Identified flavor compounds in Chungkookjang

Retention time	Identified flavor compounds
5.70	trans-2-methyl-2-butenal
6.95	hexanal
8.29	2-methyl pyrazine
9.44	cis-3-hexen-1-ol
9.72	2,6-dimethyl pyrazine
15.26	2,3,5-trimethyl pyrazine
17.70	tridecane

4. 관능 검사

원료대두의 동결처리 여부 및 썩과 염도의 첨가량을 달리 하여 제조한 청국장을 20℃에서 숙성시키면서 일정 기간별로 관능검사를 실시하였다. 관능검사의 항목 중 향(불쾌취의 억제 정도)과 구수한 향미를 합하여 flavor로 하였고 그의 청국장 시료 자체의 전체적 특성 및 맛, 기호도를 고려하여 taste의 항목으로 구분하여 표시하였다. 각 시료의 관능검사치를 5%의 수준에서 통계처리(Duncan's multiple range test)한 결과는 Table 7과 같다. 숙성 기간에 따른 청국장 시료의 flavor와 taste는 거의 모두 숙성 14일에 최고치를 보였으며 동결구와 대조구 사이의 유의적인 차이는 크게 없었지만 동결처리구가 대조구에 비해서 비교적 높은 점수를 얻었으며 8%의 염도처리구가 4%의 염도처리구보다 높은 점수를 얻었다.

전체적으로 썩의 첨가량이 소량인 0.5%첨가구가 동결처리구와 대조구 모두에서 최고치의 선호도를 보였으며 썩의 첨가량이 많아지면 오히려 불쾌취가 증가하고 선호도가 감소하

는 것으로 보였다. 유¹³⁾는 썩의 물 추출물을 소량 첨가했을 때 불쾌취가 억제되고 전체적 취식특성이 증가했지만 청국장 시료들의 전체적인 향기변화는 유의적 차이가 없다고 했는데 본 실험에서도 썩의 첨가량이 소량인 0.5%일 때 가장 높은 선호도를 보인 반면에 썩의 첨가량이 1%일 경우에는 오히려 불쾌취가 강하다는 경향이었는데 이는 썩의 농도가 적당량을 넘어서면 썩 자체의 향이 청국장의 향을 masking함에도 불구하고 과도한 썩의 향이 오히려 불쾌취로 작용하는 것으로 사료된다.

동결처리구가 아미노태 질소 및 Protease activity에서 상대적으로 높은 수치를 보였으며, 관능검사 결과에서도 전체적으로 높은 수치를 보였다. 이는 아미노태 질소량의 증가에 따른 구수한 맛의 증가와 Protease activity의 증가에 따른 유리 아미노산 및 각종 정미성분 증가의 결과로 생각된다. 이러한 실험 결과는 동결처리한 대두원료의 사용으로 맛이 향상된 고품질의 청국장 생산 가능성을 시사한다고 생각된다.

5. 냄새성분의 판별

청국장 시료의 냄새에 대한 여러 가지 변수들의 상관성을 밝히기 위하여 12개의 Sensor가 장착된 ENS를 사용하여 숙성기간별로 청국장 시료의 냄새성분을 판별하였다. 청국장 시료들에 대한 12개 Sensor의 냄새감응도는 매우 다양하고 상이했으며 숙성기간에 따른 12개의 Sensor들의 상관관계는

(Table 8)과 같다.

숙성기간에 따른 각 Sensor들의 냄새감응도를 전체적으로 보면 숙성 7일에 12개의 Sensor들이 모두 가장 높은 상관성을 보이고 있으며 12개의 Sensor들 중에서 특히 type 264와 type 263의 Sensor가 냄새감응도에 높은 상관성을 보였다.

본 실험에서 동결처리한 대두원료를 사용하여 제조한 청국장과 대조구 사이의 종합적인 냄새에 대한 판별분석 결과는 (Fig. 14)와 같다. 이 그림처럼 각 Sensor들의 냄새 감응도를 종합하여 판별한 결과 두 그룹간에 어느정도의 구별은 있었으나 ENS상에서는 엄격한 차이를 발견하지 못하였다. 이러한 결과는 GC를 이용하여 분석한 휘발성 향기성분의 확인, 정량 결과와 일치하는 것으로 동결처리한 대두원료의 사용은 청국장의 휘발성 향기성분과 종합적인 냄새 변화에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 사료된다.

그러나 이상의 실험결과는 청국장의 냄새를 판별함에 있어서 ENS를 사용할 때 적당한 숙성기간과 Sensor type의 선택이 매우 유용한 기준으로 사용될수 있음을 시사해 준다고 할수 있으며, 관능검사시 문제되는 재현성의 확보와 Panel test의 객관성 확보라는 문제 해결에 큰 도움이 될것으로 사료된다.

IV. 결 론

청국장의 제조시 대두원료를 동결처리함으로써 맛의 증진

Table 8. Caronical Correlations between the aging(day) and the sensor type in Chungkookjang

Sensor \ Time(Day)	0	7	14	21	28
Type 301	0.3431	0.5024	0.2171	0.1580	0.0201
Type 298	-0.1094	0.2116	0.1460	0.7847	0.1912
Type 297	-0.1270	0.4028	-0.0249	0.7813	0.2506
Type 283	-0.0020	0.3520	0.0238	0.2948	0.6685
Type 278	0.0097	0.3835	0.0311	0.1235	0.2327
Type 264	0.4074	0.5275	-0.2467	-0.2296	0.1287
Type 263	0.3375	0.4946	-0.0887	-0.3217	-0.0194
Type 262	0.2448	0.4683	-0.0662	-0.3239	0.0255
Type 261	0.1632	0.5083	-0.1458	-0.1975	0.1464
Type 260	0.1154	0.5378	-0.1953	0.0112	0.1731
Type 259	0.2806	0.5661	-0.0260	-0.0139	0.0549
Type 258	-0.377	0.3917	0.2116	0.4361	0.1440

을 유도하고 첨가물로 썩을 사용하여 불쾌취의 발생을 억제하고 저장성이 향상된 저염의 청국장을 생산하고자 하였다. 동결(-20℃, 4 hours)시킨 대두원료로 청국장매주를 만들고 식염을 4%와 8%로, 썩을 0%, 0.5%, 1%농도로 각각 첨가시켜서 청국장을 제조하고, 대조구로 동결처리하지 않은 대두를 사용해서 동일 방법으로 제조한 청국장과 함께 20℃에서 7일, 14일, 21일, 28일간 숙성시켰다. 숙성 기간별로 청국장 중의 아미노태 질소, 총질소와 α-amylase, protease의 변화를 대조구와 비교, 조사하였다. 또한 청국장 특유의 향기 성분의 변화와 숙성과정 중의 휘발성 물질을 확인하였으며 관능검사와 Electronic Nose System를 통해서 관능적 품질 성상의 변화를 조사하였다.

1. 청국장 숙성과정중 protease activity는 동결 처리한 대두를 사용한 청국장에서 높은 증가를 보인 반면 α-amylase activity의 증가는 상대적으로 낮았다. 아미노태 질소량은 전체적으로 동결처리한 청국장이 높은 값을 보였으며 숙성기간이 길어짐에 따라서 증가하다가 숙성 21일후 감소했다. 총질소량은 숙성기간에 따라서 서서히 감소했으며 대조구에 비해서 동결처리구가 더 감소했다. 썩의 첨가에 따른 유의적인 성분의 변화는 크게 없었다.

2. 청국장 숙성과정중 향기성분은 동결처리에 의해서 큰 영향을 받지 않고 거의 동일한 변화를 보였다. 썩의 첨가량에 따라서 cis-3-Hexenol의 생성량이 감소되었다.

3. 관능검사 결과 14일 숙성된 청국장이 전체적으로 가장 높은 선호도를 보였으며, 동결처리구가 대조구에 비해서 선호도가 높았다. 썩 첨가량이 0.5%인 청국장이 전체적으로 높은 관능검사치를 얻었다. ENS를 통한 냄새 성분의 판별결과 동결처리구와 대조구 사이의 냄새성분의 구분은 명확하지 않았으며, 청국장의 냄새성분 판별시 Sensor type과 숙성기간이 매우 중요한 변수로 작용함을 확인할수 있었다.

참고문헌

1. 강영주 : The fractionations and characterization of soy isolate, 7S and 11S PRF, 제주대 논문집, 19, p.103(1985).
2. 한국 식품 연구문헌 편찬위원회 : 한국 식품 연구문헌총람 (5), p.38-60(1992)

3. 김활식, 이서래 : 콩코오지와 보리코오지 제조중의 생화학적 변화, 서울대 논문집 (생농계), 9, 1(1959).
4. 김활식, 이서래, 조한옥 : 콩코오지와 보리코오지에서 원료배합에 의한 효소역가의 증상에 관한 실험, 농화학회지, 2, 23(1961).
5. 박계인, 김기주 : 한국 간장제조에 관한 연구(제1보), 중앙공업연구소 연구보고, 20, 89(1970).
6. 김상순 : 메주의 다공질 라면형 가공방법, 특허공보, 1056, 7(1985).
7. 배만중, 윤상홍, 최청 : 개량메주의 숙성과정 중 protein 및 아미노산 변화, 한국식품과학회지, 15, 370(1983).
8. Reddy, N. R., Salunkhe, D. K. : C. R.C Press, p.5(1986).
9. Hayashi, U., Nagao, K. and Yoshioka, Y. : Bull Teikoko-Gaguen, KOYO, 2, p.9(1976).
10. 주현규 : 청국장 제조에 관한 연구, 한국식품과학회지, 3(1), 64(1971).
11. 신희대, 윤주익 : 막장의 아미노산 조성에 관한 연구, 대한화학회지, 7(1), 6(1963).
12. 이옥숙, 홍대광, 구민성, 신동민, 정건섭 : 즉성 청국장 찌개의 저장 중 품질 특성 변화, 한국식품과학회지, 26(3), 250(1994).
13. 유재희 : 썩 추출물이 청국장 Flavor에 미치는 영향, 건국대학교 석사학위논문(1996).
14. 육창수 : 한국약품식물자원도감, 진명출판사, 서울, p.385(1981).
15. 고려사편집부:한방약초해설,고려사,서울, p.48(1981).
16. Kilsey, R. G., Reynolds, G. W. and Rodriguez, E. : In "Biology and chemistry of tichones" Rodriguez, E. (ed.), Plenum, New York, p.187(1984).
17. 이성우 : 고려이전의 한국 식생활 연구, 향문사, 서울 p.116(1978).
18. 정태용, 박정동 : 썩의 비타민에 관한 연구, 부산대학교 가정대학 연구 보고 제8집, 61(1982).
19. 김덕용, 최강주 : 썩의 건조방법에 따른 지방산 변화에 관하여, 한국영양식량학회지, 14, 95(1985).
20. 심영자, 한영실, 전희정 : 참썩의 영양성분에 관한 연구, 한국식품과학회지, 24, p.49(1992).

21. 구지연 : 식용쑥의 가공방법, 특허공보 제 925호(1984)
22. 김기영 : 쑥이 가축의 易出腸管 운동에 미치는 영향, 한양대 석사학위논문(1979).
23. 박회경 : 애엽이 생쥐의 지혈 작용에 미치는 영향, 대구한의과대학 연구보고(1986).
24. Silva, C.A.B., Bates, R. P. and Deng, J. C. : J. Food Sci., 46, 1716(1981).
25. 이덕례, 최윤희, 김명근, 윤세억 : 동결이 두류의 cooking time과 맛에 미치는 영향, 한국농화학회지, 35(4), 219 (1992).
26. 윤세억, 주현규 : 대두의 동결처리에 의한 대두의 가공특성증진에 관한 연구, 대산논총, 제3집(1995).
27. 오상룡, 김상수, 민병용, 정동효 : 구기자(Lycium chinensis Miller), 당귀(Angelica acutiloba Kitag), 오미자(Schizandra Chinensis Bailon), 오갈피(Acanthopanax sessili florum Seeman)추출물의 유리당, 유리 아미노산, 유기산, 탄닌의 조성, 한국식품과학회지, 22(1), 76(1990).
28. 유주현 : 식품공학 실험서 I, 탐구당, p.599-601(1990).
29. 식품공전, 보건복지부, p.647-648(1995).
30. Official Methods of Analysis, 16th, Vol.2, p.32-33(1995).
31. 윤기석 : Aspergillus spp.에 의한 콩된장 발효과정중의 효소활성 변화, 건국대학교 석사학위논문(1988).
32. 김종협 外 : 미생물학실험서, 삼일각, p.68-70(1975).
33. 김재현 : 청국장 발효조건에 따른 주요 향기성분의 변화, 건국대 석사학위논문(1996).
34. 김우정 : 관능검사에서 묘사분석법의 이용, 식품과학과 산업, (24), 4, 73(1991).
35. 이부용 外 : 청국장의 물성 변환에 관한 연구, 한국식품과학회지, 24(3), 478 (1991).
36. 서정숙 外 : 청국장의 유리아미노산 함량과 질소성분, 한국식품과학회지, 15, p.403 (1983).
37. 김명호 : 고추씨기름이 청국장의 숙성에 미치는 영향, 건국대 석사학위논문, (1995).
38. 한혜숙 : 쑥분말을 첨가한 청국장의 숙성과정중 화학성분 변화, 건국대 석사학위논문, (1995).
39. 황선영 : 시판되는 청국장 및 된장의 품질평가, 건국대학교 석사학위논문, (1996).
40. 최성희, 지영애 : 청국장 숙성중의 향기성분 변화, 한국식품과학회지, 21(2), 229 (1989).
41. Sheikh M. Basha, Clyde T. Young: Protein fraction producing off-flavor headspace volatiles in peanut seed, J. Agric. Food Chem.44, 3070(1996).

Table 5. Change of hexenol in Chungkookjang during the aging at 20°C

Groups Time(Day)	NF		NF		NF		NF		NF		F		F		F		F	
	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	8 ^A /1.0 ^B	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	8 ^A /1.0 ^B	
0	*	*	18.59	16.78	16.52	15.34	17.68	17.69	16.6	16.16	15.13	14.24						
7	30.00	27.55	27.42	26.78	24.29	24.06	30.25	25.16	24.25	24.33	24.66	21.85						
14	36.89	33.94	32.56	28.53	27.66	25.24	28.29	27.66	27.04	27.58	26.84	25.53						
21	50.62	51.94	45.99	49.00	42.65	35.58	49.40	46.57	43.75	37.64	33.26	37.42						
28	58.72	57.65	57.98	52.33	51.05	42.96	54.02	55.34	49.74	48.36	40.70	42.41						

(unit : µg/g)

Table 6. Change of 2,6-dimethyl pyrazine in Chungkookjang during the aging at 20°C

Groups Time(Day)	NF		NF		NF		NF		NF		F		F		F		F	
	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	8 ^A /1.0 ^B	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	4 ^A /0.0 ^B	4 ^A /0.5 ^B	4 ^A /1.0 ^B	8 ^A /0.0 ^B	8 ^A /0.5 ^B	8 ^A /1.0 ^B	
0	*	*	13.22	10.33	10.69	9.81	23.40	20.2	20.39	18.36	19.00	21.24						
7	21.39	19.28	17.52	18.47	15.20	18.40	26.83	29.69	35.05	33.68	28.62	29.85						
14	22.40	20.28	20.49	17.68	19.73	15.60	27.14	27.61	29.10	30.86	28.92	31.34						
21	24.51	26.56	27.78	25.66	25.29	21.00	29.97	28.92	29.98	30.20	29.55	38.70						
28	23.56	33.31	35.06	28.20	25.11	26.03	30.84	33.16	30.07	39.21	37.60	41.71						

* : trace. NF : Chungkookjang prepared with non-frozen soybeans. F : Chungkookjang prepared with frozen soybeans.
A : the percentage of NaCl added. B : the percentage of Mugwort added.

(unit : µg/g)

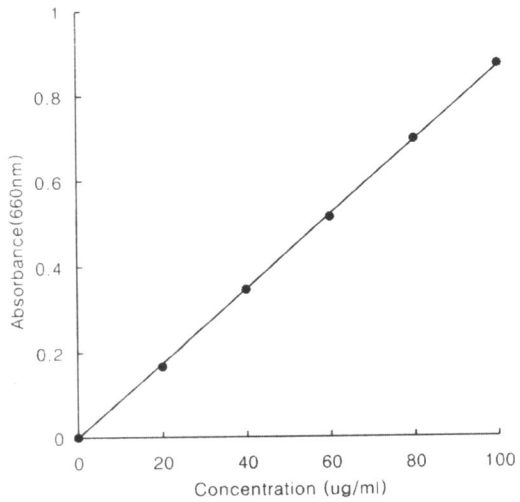


Fig. 1. Calibration curve for standard tyrosine solution $R^2 = 0.9998$

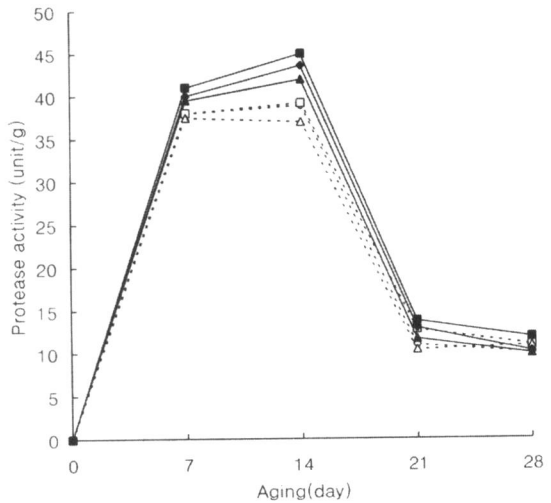


Fig. 2. Changes of Protease activity in Chungkookjang containing 4% NaCl during the aging at 20°C
 ◇····· NF(4/0,0) □····· NF(4/0/5) △····· NF(4/1,0)
 ◆····· F(4/0,0) ■····· F(4/0/5) ▲····· F(4/1,0)

Table 7. Duncan's multiple range test for sensory score of Chungkookjang

Time(Day)	Symbol	F	F	F	F	F	F	F	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
7	Flavor	12.13 ^{ABC}	11.25 ^{ABC}	11.13 ^{ABC}	14.13 ^A	11.50 ^{ABC}	10.75 ^{BC}	12.88 ^{ABC}	9.88 ^C	9.88 ^C	13.38 ^{AB}	10.75 ^{BC}	10.50 ^{BC}	10.50 ^{BC}	10.50 ^{BC}	10.50 ^{BC}
	Taste	4.25 ^{AB}	4.00 ^{AB}	4.25 ^{AB}	5.13 ^A	4.38 ^{AB}	4.13 ^{AB}	4.25 ^{AB}	3.25 ^B	3.25 ^B	3.13 ^B	4.13 ^{AB}	4.63 ^A	4.00 ^{AB}	4.00 ^{AB}	4.00 ^{AB}
14	Flavor	14.5 ^A	13.33 ^{ABC}	12.67 ^{ABC}	14.17 ^{AB}	14.83 ^A	13.33 ^{ABC}	13.00 ^{ABC}	10.83 ^{BC}	10.00 ^C	10.00 ^C	12.5 ^{ABC}	11.33 ^{ABC}	11.33 ^{ABC}	11.33 ^{ABC}	10.17 ^C
	Taste	4.67 ^{ABC}	3.83 ^{BC}	4.17 ^{ABC}	5.17 ^{AB}	5.5 ^A	4.67 ^{ABC}	4.33 ^{ABC}	3.50 ^C	3.50 ^C	3.50 ^C	4.33 ^{ABC}	4.50 ^{ABC}	3.83 ^{BC}	3.83 ^{BC}	3.83 ^{BC}
21	Flavor	13.17 ^A	9.83 ^{AB}	9.33 ^{AB}	13.00 ^A	11.17 ^{AB}	8.33 ^B	12.00 ^{AB}	8.17 ^B	8.83 ^B	8.83 ^B	13.00 ^A	9.33 ^{AB}	9.33 ^{AB}	9.33 ^{AB}	10.67 ^{AB}
	Taste	4.00 ^{AB}	3.33 ^{AB}	3.33 ^{AB}	4.17 ^{AB}	4.33 ^A	2.67 ^B	4.00 ^{AB}	2.83 ^{AB}	2.67 ^B	2.67 ^B	4.00 ^{AB}	3.17 ^{AB}	3.17 ^{AB}	3.17 ^{AB}	4.17 ^{AB}
28	Flavor	11.00 ^A	6.60 ^B	10.00 ^A	10.20 ^A	11.00 ^A	10.60 ^A	8.60 ^{AB}	8.20 ^{AB}	9.00 ^{AB}	10.80 ^A	11.00 ^A	11.00 ^A	11.00 ^A	9.40 ^{AB}	9.40 ^{AB}
	Taste	4.20 ^{AB}	2.20 ^C	3.80 ^{ABC}	3.60 ^{ABC}	4.40 ^A	3.40 ^{ABC}	2.20 ^C	2.60 ^{BC}	2.60 ^{BC}	3.40 ^{ABC}	3.40 ^{ABC}	3.60 ^{ABC}	3.60 ^{ABC}	3.20 ^{ABC}	3.20 ^{ABC}

A-D means in lines with same letters not significantly different ($p > 0.05$). E : the percentage of NaCl added.
 G : the percentage of Mungwort added. NF : Chungkookjang prepared with non-frozen soybeans. F : Chungkookjang prepared with frozen soybeans.

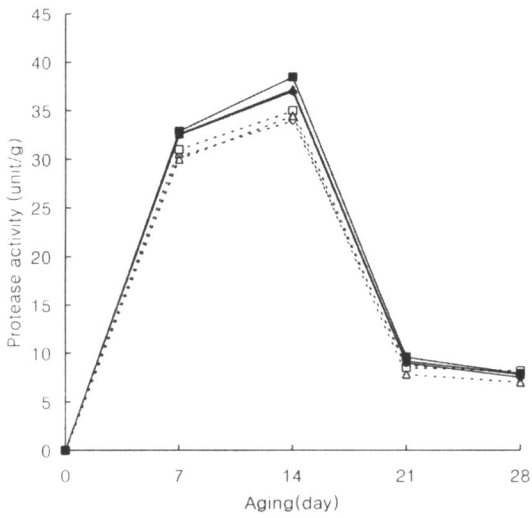


Fig. 3. Changes of Protease activity in Chungkookjang containing 8% NaCl during the aging at 20°C
 ...◇... NF(8/0,0) ...□...NF(8/0/5) ...△... NF(8/1,0)
 —◆— F(8/0,0) —■— F(8/0/5) —▲— F(8/1,0)

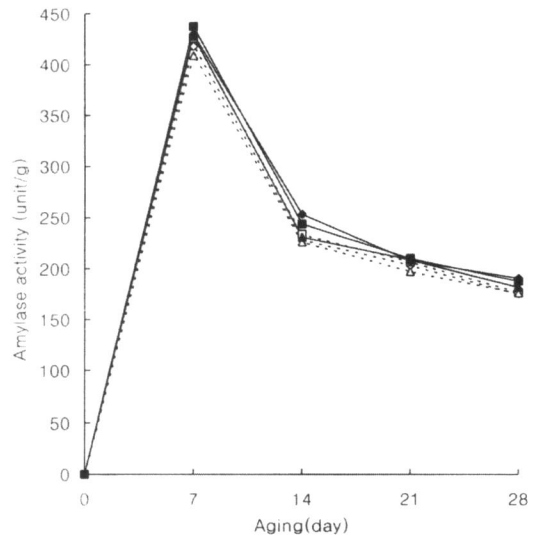


Fig. 5. Changes of α-Amylase activity in Chungkookjang containing 8% NaCl during the aging at 20°C
 ...◇... NF(8/0,0) ...□...NF(8/0/5) ...△... NF(8/1,0)
 —◆— F(8/0,0) —■— F(8/0/5) —▲— F(8/1,0)

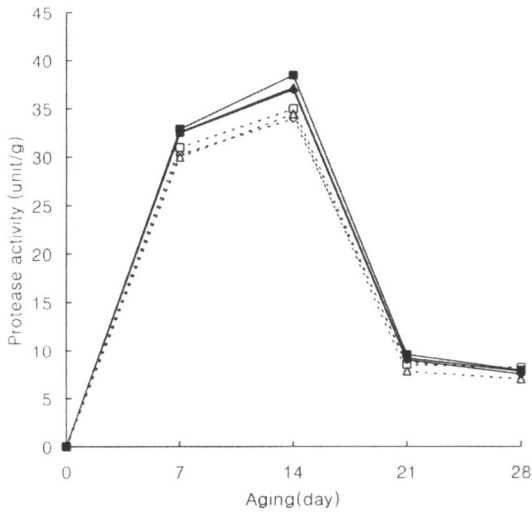


Fig. 4. Changes of α-Amylase activity in Chungkookjang containing 4% NaCl during the aging at 20°C
 ...◇... NF(4/0,0) ...□...NF(4/0/5) ...△... NF(4/1,0)
 —◆— F(4/0,0) —■— F(4/0/5) —▲— F(4/1,0)

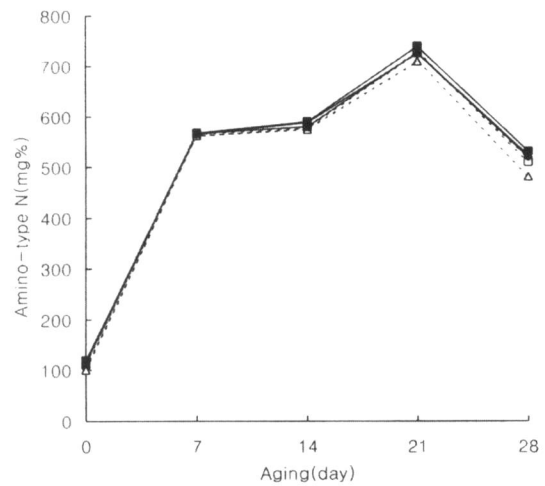


Fig. 6. Changes of Amino-type Nitrogen in Chungkookjang containing 4% NaCl during the aging at 20°C
 ...◇... NF(4/0,0) ...□...NF(4/0/5) ...△... NF(4/1,0)
 —◆— F(4/0,0) —■— F(4/0/5) —▲— F(4/1,0)

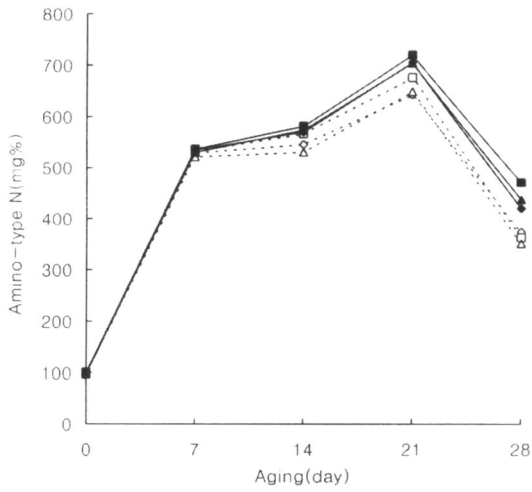


Fig. 7. Changes of Amino-type Nitrogen in Chungkookjang containing 8% NaCl during the aging at 20°C
 ···◇··· NF(8/0,0) ···□···NF(8/0/5) ···△··· NF(8/1,0)
 —◆— F(8/0,0) —■— F(8/0/5) —▲— F(8/1,0)

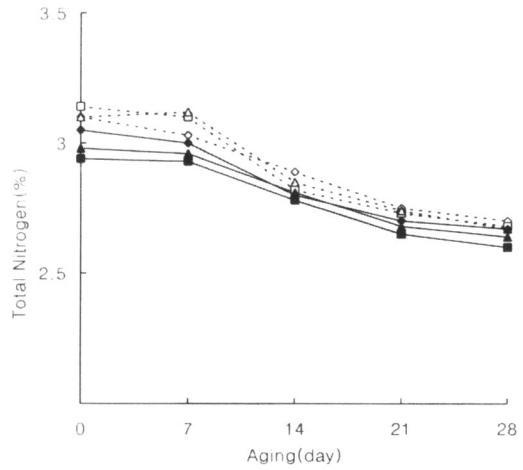


Fig. 9. Changes of Total Nitrogen in Chungkookjang containing 8% NaCl during the aging at 20°C
 ···◇··· NF(8/0,0) ···□···NF(8/0/5) ···△··· NF(8/1,0)
 —◆— F(8/0,0) —■— F(8/0/5) —▲— F(8/1,0)

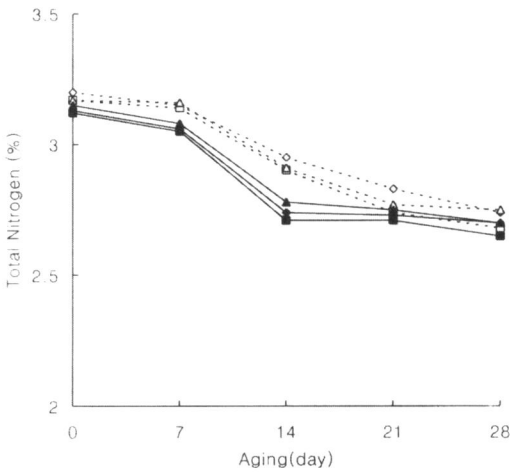


Fig. 8. Changes of Total Nitrogen in Chungkookjang containing 4% NaCl during the aging at 20°C
 ···◇··· NF(4/0,0) ···□···NF(4/0/5) ···△··· NF(4/1,0)
 —◆— F(4/0,0) —■— F(4/0/5) —▲— F(4/1,0)

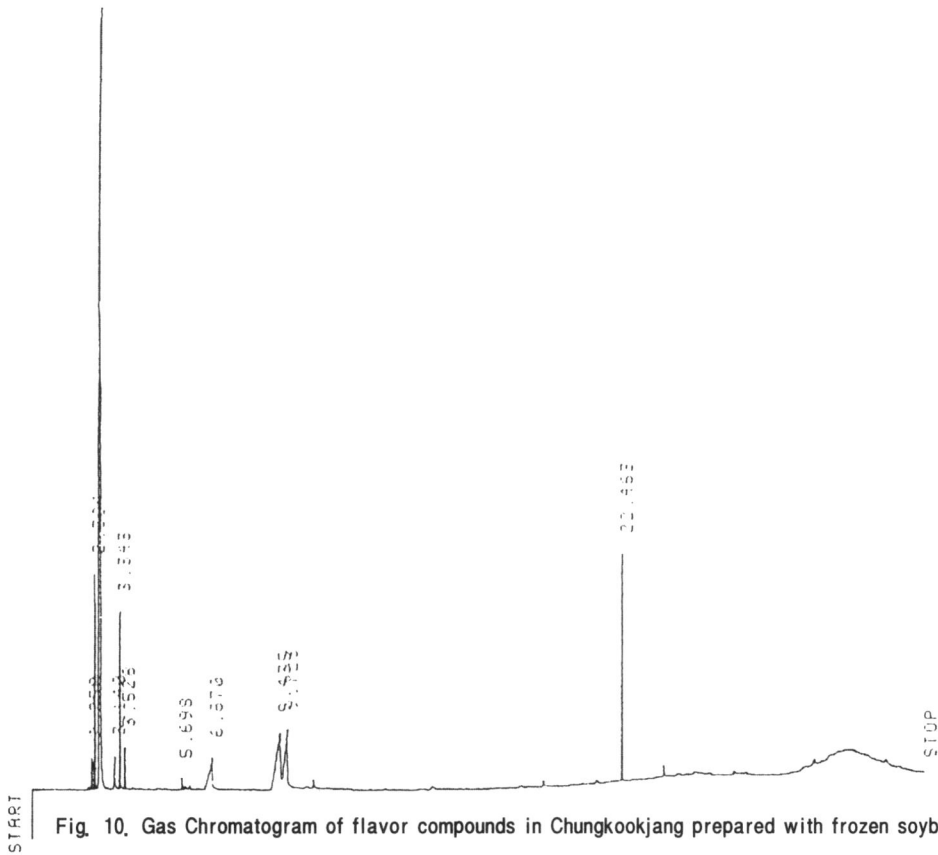


Fig. 10. Gas Chromatogram of flavor compounds in Chungkookjang prepared with frozen soybean

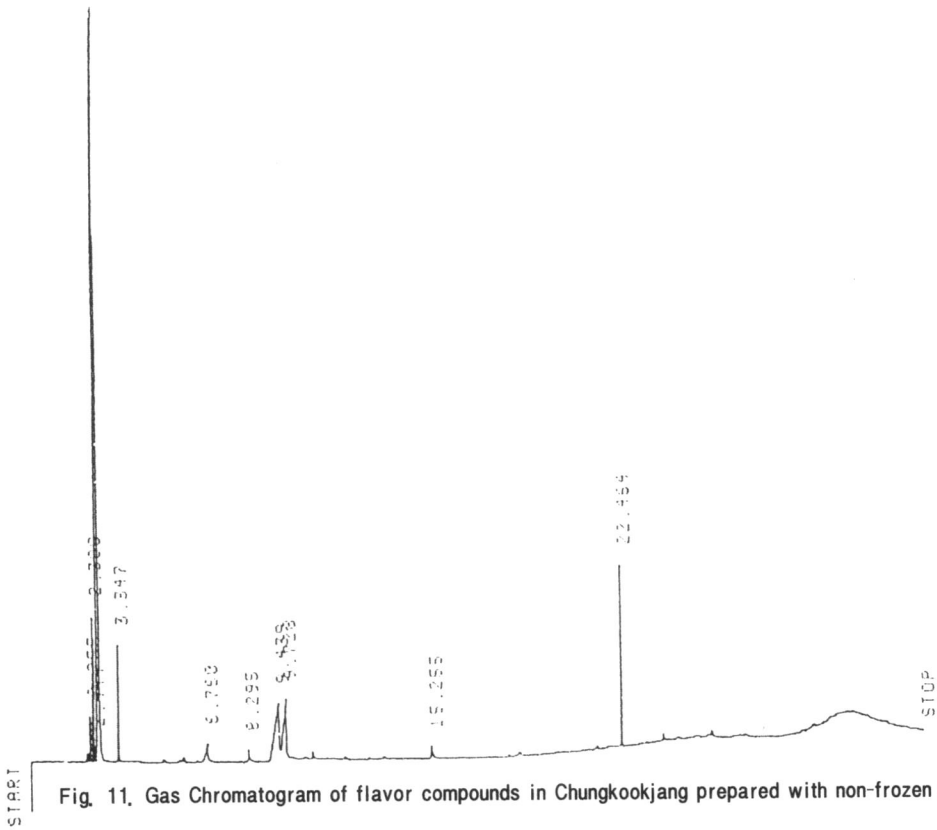


Fig. 11. Gas Chromatogram of flavor compounds in Chungkookjang prepared with non-frozen soybean

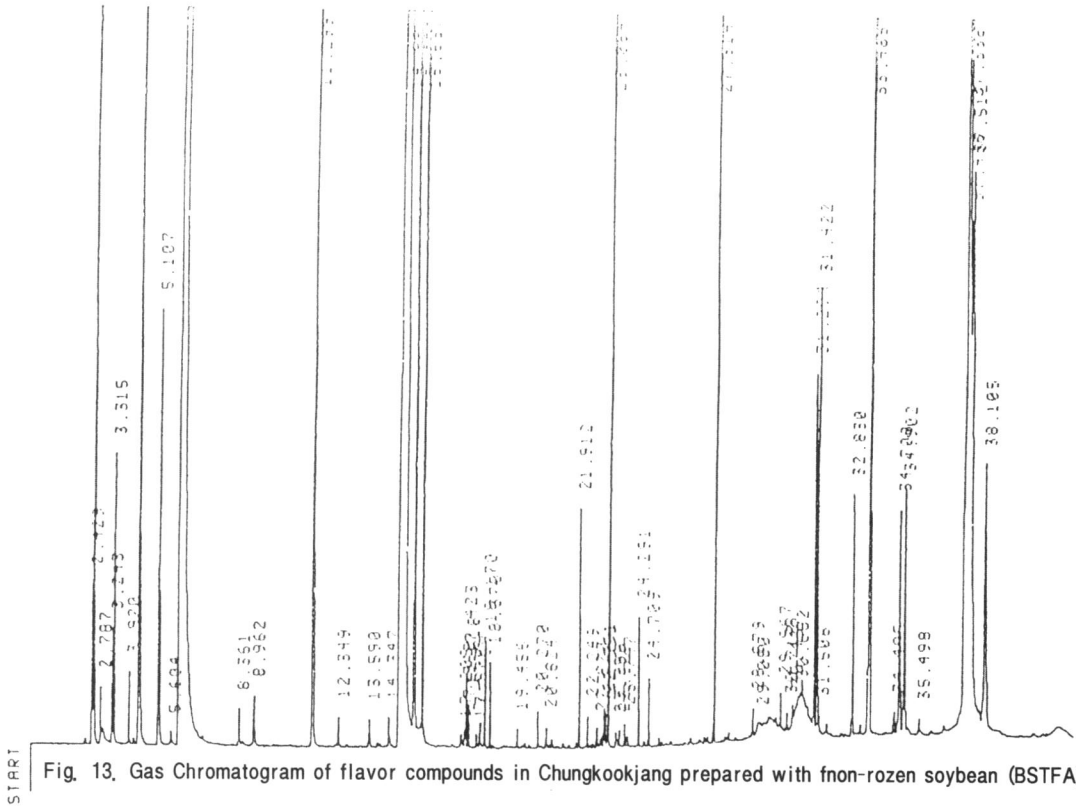


Fig. 13. Gas Chromatogram of flavor compounds in Chungkookjang prepared with non-frozen soybean (BSTFA)

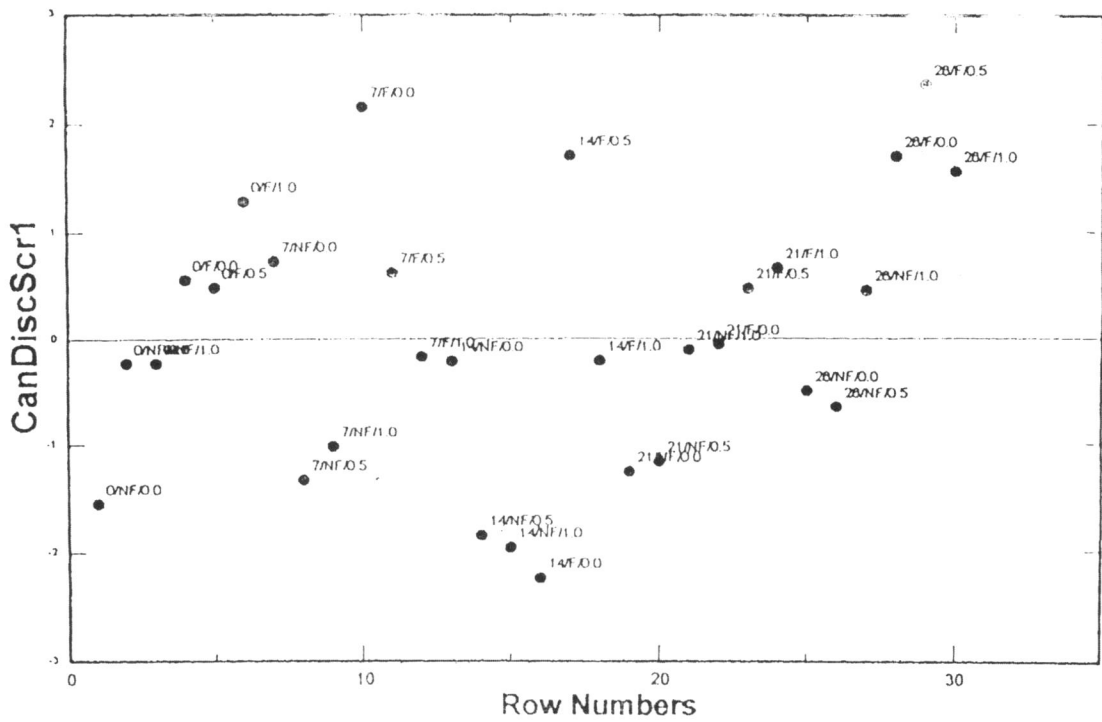


Fig. 14. Multiple Discriminant Analysis between the Chungkookjang prepared with frozen soybean and the Chungkookjang prepared with non-frozen soybean