

다양한 첨가제에 의한 청국장 불쾌취 및 *Bacillus cereus* 증식의 억제

정수현 · 박송이¹ · 정은선² · 김용석 · 문성필^{3,*}

전북대학교 식품공학과, ¹국립식량과학원, ²전라북도생물산업진흥원, ³전북대학교 목재응용과학과

Effect of various additives on reduction of unpleasant odor and inhibition of *Bacillus cereus* growth in *cheonggukjang*

Su-Hyeon Jeong, Song-Yie Park¹, Eun-Seon Jeong², Yong-Suk Kim, and Sung Phil Mun^{3,*}

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

¹National Institute of Crop Science

²Jeonbuk Institute for Food-Bioindustry

³Department of Wood Science and Technology, Chonbuk National University

Abstract The effectiveness of various additives in reduction of an unpleasant odor and inhibition of *Bacillus cereus* growth in *Cheonggukjang* (CKJ) was investigated. Sensory evaluations of unpleasant odor intensity and taste preference for CKJ were conducted with a 5-point scale. Raw CKJ was rated to have the highest unpleasant odor intensity, followed by CKJ-salt, CKJ-wood vinegar salt, CKJ-red pepper seed oil, and CKJ-bamboo salt in the given order. The test panel had a greater preference for CKJ-red pepper seed oil than for the other CKJ products. The addition of bamboo salt to CKJ was the most effective in inhibition of *B. cereus* growth in comparison to the other three additives. Volatile compounds in CKJ and CKJ-bamboo salt were identified by GC/MS analysis. 1-Ethoxy-1-methoxy-ethane was responsible for the pleasant odor and its level significantly increased in CKJ-bamboo salt. Consequently, adding bamboo salt to CKJ not only masked and reduced the unpleasant odor, but also inhibited *B. cereus* growth in CKJ.

Keywords: *cheonggukjang*, unpleasant odor, *Bacillus cereus* inhibition, bamboo salt

서 론

우리나라 전통 발효 청국장은 볏짚을 깐 시루에 삶은 대두를 식기 전에 넣고 40-45°C에서 2-3일간 발효하여 제조된다. 청국장의 발효·숙성 과정 중 볏짚 유래의 *Bacillus* 속(*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* 등) 균이 번식하여 효소를 생산하고, 이 효소의 작용으로 대두 단백질은 가용성 질소 화합물인 펩톤(peptone), 아마이드(amide) 등으로 분해되어 체내에서 용이하게 소화될 수 있는 형태로 변한다. 또한, 발효 중 끈끈한 점질물이 생성되며, 특유의 향과 감칠맛을 갖는 청국장이 만들어진다(1).

한편, 청국장은 다양한 생리활성 성분을 함유한 기능성 식품(2,3)이지만 특유의 불쾌취 때문에 젊은 세대가 기피하는 경향이 있어 청국장 불쾌취 저감화는 청국장 소비 증진을 위한 중요한 과제 중 하나이다. 이를 위하여 청국장 숙성 중의 냄새 성분 변화에 대한 연구(4,5)가 이루어졌으며, 알코올과 염류(6), 썩 추출물(7) 및 고추씨기름(8)의 첨가에 의한 청국장 냄새 성분의 변화가 검토되어왔다.

청국장에 존재하는 *Bacillus cereus*는 운동성의 그람 양성균으로, 호기 조건뿐만 아니라 혐기 조건 하에서도 잘 자라는 흙형성세균이다. 본 세균은 대부분의 자연식품에 존재하며 식품에 10⁶ CFU/g 수준으로 오염되었을 경우 구토나 설사를 동반하는 식중독을 일으킬 수 있다고 알려져 있다(9). 따라서 청국장의 제조에 있어서 불쾌취의 저감화와 함께 제품 중의 *B. cereus*의 억제는 매우 중요하다. 그리고 불쾌취를 감소시킨다고 알려진 썩 추출물이나 고추씨기름(8)이 *B. cereus*의 억제에도 유효할지에 대해서 현재 알려진 바가 없으므로 이에 대한 검토와 불쾌취 및 *B. cereus*의 문제 모두를 해결 할 수 있는 신규 물질 탐색 연구가 필요하다고 생각되었다. 이러한 관점에서 향균 효과를 가지는 것으로 알려진 죽염 또는 목초액은 매우 흥미 있는 청국장 첨가 재료로 생각되었다. 죽염은 천일염을 대나무 속에 넣고 고온으로 가열하여 제조한 것으로 살균 효과가 있다고 알려져 있다(10). 또한 죽염을 다양한 발효 식품의 제조에 적용한 연구 결과들이 보고된 바 있다. 죽염을 사용한 김치는 소금을 사용한 김치보다 대장균(*Escherichia coli*)의 성장 억제 효과가 좋았으며(11), 된장 제조 시 죽염을 사용한 경우에는 항 돌연변이 활성 및 *in vitro* 항암 기능이 증진되었다(12,13). 또한 젓갈 제조 시 죽염을 사용한 경우, 젓갈 숙성 후 저장기간에 일반 소금을 사용했을 때 보다 미생물의 생육이 더욱 억제되었다(14). 목초액은 목재를 탄화시킬 때 생성되는 연기를 냉각시켜 제조한 산성의 액체상 물질로, 아토피성 피부염의 치료 효과(15), 혈중 지방질 성분 개선 효과(16), 항진균 및 항세균 효과(17) 등이 알려져 있다. 특히 식품 부패 세균 및 식중독 세균에 대한 항균 활성이 우수하여 식품 보

*Corresponding author: Sung Phil Mun, Department of Wood Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Chonbuk National University, Jeonju, Jeonbuk 54896, Korea
Tel: 82-63-270-2624
Fax: 82-63-270-2631
E-mail: msp@jbnu.ac.kr
Received June 27, 2016; revised August 5, 2016;
accepted August 9, 2016

존제료의 이용 가능성이 보고 되어있다(17). 현재 목초액은 식품 중 각종 육류의 잡내를 제거하고 훈향을 내는 등의 용도로 사용되고 있다.

본 연구에서는 항균 작용이 알려져 있으며, 또한 식품첨가물로 사용되고 있는 시판 죽염과 목초액을 처리하여 제조한 목초액 소금의 첨가가 청국장 발효의 불쾌취와 *B. cereus* 제어에 기여하는지 검토하고자 하였다. 그리고 불쾌취를 줄이는 것으로 알려진 고추씨 기름의 *B. cereus*의 생육 저해 효과도 확인하고자 하였다. 또한 첨가제가 사용된 청국장과 무첨가구 청국장의 냄새 성분을 추출하여 분석, 동정함으로써 청국장의 냄새를 구성하고 있는 물질의 조성 및 첨가제에 따른 청국장 냄새 성분의 변화에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

청국장 제조를 위하여 대원콩(Sunchang, Korea)을 사용하였으며, 소금은 대동염전(Shinan, Korea), 죽염은 태성식품(Gochang, Korea), 그리고 고추씨기름은 삼양 농수산(Yongin, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 목초액 소금은 태백산 참 숯가마(Yeongwol, Korea)로부터 제공받았다. 냄새 성분 추출을 위하여 사용한 에테르(Showa Chemical Co. Ltd., Osaka, Japan) 및 추출 용액의 탈수에 사용한 무수 황산마그네슘(MgSO₄, Showa Chemical Co. Ltd.)은 별도의 정제 없이 그대로 사용하였다. 청국장 냄새 성분 분석 시 내부표준물질로는 헥사데케인(hexadecane, Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

*B. cereus*의 검출에는 mannitol egg yolk polymyxin (MYP) agar base, polymyxin B supplement 및 egg yolk (Oxoid Ltd., Basingstoke, UK)로 제조한 MYP 우무배지를 사용하였다. 인산완충용액은 KH₂PO₄ (Yakuri Pure Chemical, Kyoto, Japan), 수산화소듐(NaOH, Showa Chemical Co. Ltd.) 및 염화마그네슘(MgCl₂, Kishida Chemical, Osaka, Japan)을 사용하여 제조하였다. *B. cereus* 검출에 사용된 재료와 기구들은 polymyxin B supplement 와 egg yolk를 제외하고 모두 살균(121°C, 15분)하여 사용하였다.

청국장의 제조

깨끗이 씻은 대두는 15°C에서 12시간 물에 침지한 후 건져내어 플라스틱 채반에서 30분간 물기를 제거하였다. 물기를 제거한 대두는 거즈에 싸서 121°C에서 30분간 증자하였다. 증자 대두는 약 50°C로 식힌 후 청국장 발효기(NY-4080S, NUC electronics, Daegu, Korea)에 넣고 24시간 발효시켰다. 발효가 끝난 후 청국장에 대하여 다양한 첨가제를 넣고 4°C에서 24시간 숙성시켰다. 예비 실험에서 각 첨가제를 2% 및 4% 처리하여 제조한 청국장의 경우, 첨가제 농도에 따른 청국장의 *B. cereus* 수에 유의적인 차이가 없었다. 따라서 각 첨가제는 발효 청국장 중량에 대하여 2% 첨가하였으며, 실험은 (1) 소금, (2) 죽염, (3) 목초액 소금, (4) 고추씨기름, (5) 소금(2%)과 고추씨기름(2%) 혼합 및 (6) 죽염(2%)과 고추씨기름(2%) 혼합의 6개 군으로 하였다. 대조군은 이들 첨가제를 넣지 않은 것으로 하였다. 청국장 냄새 성분의 분석은 관능평가 점수가 높았던 죽염 2% 첨가 청국장을 대상으로 실시하였다. 이들 냄새 성분 분석을 위한 청국장은 상기와 동일한 방법으로 각 3개씩 제조하여 분석하였다.

청국장 냄새 성분의 추출 및 분석

250 mL 삼각 플라스크에 청국장 10 g, 에테르 50 mL, 내부표준

물질 hexadecane 1 mL을 순차적으로 넣고 랩으로 밀봉 후 15°C, 150 rpm의 조건에서 2시간 진탕하였다. 진탕 후의 시료는 거름종이(No. 5A, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)가 깔린 유리 깔때기 상에서 여과하였다. 얻어진 여과액에 약 2g의 무수 황산마그네슘을 처리하여 용매 중의 수분을 제거하였으며, 동일 거름종이를 사용하여 고형분을 제거하였다. 탈수 여과액은 감압 건조시켰으며, 여기에 1 mL의 에테르를 가하여 농축물을 녹였다. 본 에테르 가용분을 1.5 mL 용량의 바이알에 옮기고 가스크로마토그래피-질량분광계(gas chromatograph-mass spectrometer)로 구성 성분을 분석하였다. 분석에는 Shimadzu사의 GCMS-QP2010 (Kyoto, Japan)을, 컬럼은 HP-5 (30 m×0.32 mm×0.25 μm, capillary column, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 분석 시 컬럼 온도는 35°C에서 분당 5°C로 90°C까지, 90°C에서 분당 10°C로 280°C까지 온도를 높인 후 280°C에서 10분간 유지하였고, 주입구 온도는 200°C, 인터페이스 온도는 230°C, 이온 소스 박스 온도는 200°C로 유지하였다. 운반기체로 사용한 헬륨은 분당 1.70 mL로 유지하였고, 분리 비율(split ratio)은 30:1로 하였다. 냄새 성분의 추출 및 분석은 3회 반복하였으며, 각 피크의 동정 및 추정에는 시판 표준 시료와의 비교 및 MS 라이브러리 검색을 통하여 실시하였다. 각 피크의 면적은 내부표준물질 면적으로 나누어 표시하였다.

*B. cereus*의 계수

B. cereus 배양을 위하여 450 mL의 증류수에 MYP agar base 21.5 g을 녹인 후 121°C에서 10분간 살균하였다. 살균된 배지는 50-60°C로 식힌 후, polymyxin B supplement 1병(50,000 IU)과 egg yolk 50 mL를 첨가하였다. 인산완충용액(0.25 M KH₂PO₄ (pH 7.2) 1.25 mL+1 M MgCl₂, 5 mL를 증류수로 1 L로 정용한 것)은 121°C에서 15분간 살균하여 사용하였다.

살균 펌에 25 g의 청국장과 인산완충용액 225 mL를 넣고 Bag-mixer (400 P, Interscience, Saint Nom, France)로 2분 균질화한 후 거름종이(No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, UK)를 사용하여 여과하였다. 여과액은 인산완충용액으로 10⁻⁶ 농도가 되도록 희석하였다. 각 희석 용액 0.1 mL는 상술한 배지에 분주하여 도말하였으며, 각 실험은 5반복으로 실시하였다. 도말한 배지 플레이트는 30°C 배양기에서 24시간 배양한 후, 콜로니 주변에 혼탁한 환이 있는 분홍색 콜로니를 계수하여 CFU/g으로 표시하였다.

관능검사

청국장의 관능검사는 사전에 실험의 목적과 관능 항목에 대하여 제대로 인지하도록 충분히 훈련된 25명의 패널(전북대학교 식품공학과 학생)을 대상으로 실시하였다. 4°C에서 24시간 숙성시킨 청국장의 불쾌취와 맛에 대하여 각각 5점 척도법(5-point rating scale)으로 평가하였고, 불쾌취가 가장 강한 경우를 5점, 가장 약한 경우를 1점으로, 맛이 가장 좋은 경우를 5점으로 하고 가장 나쁜 경우를 1점으로 하였다.

통계처리

B. cereus 계수와 청국장 관능검사 결과는 SAS 9.1 (Statistical Analysis System, ver. 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석(ANOVA)한 후, $p < 0.05$ 수준에서 던컨시험(Duncan's multiple range test)을 통하여 평균값 간의 유의성을 검정하였다.

Table 1. Sensory scores of *Cheonggukjangs* prepared with various additives

| Sample | Unpleasant odor ²⁾ | Taste ³⁾ |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------|
| CKJ ¹⁾ | 4.5 ^{d,4)} | 2.1 ^d |
| CKJ+salt | 3.9 ^b | 2.8 ^c |
| CKJ+bamboo salt | 2.0 ^d | 4.4 ^a |
| CKJ+wood vinegar salt | 2.5 ^c | 4.0 ^b |
| CKJ+red pepper seed oil | 2.2 ^d | 4.6 ^a |

¹⁾CKJ: *Cheonggukjang*, ²⁾The attribute was evaluated from very weak unpleasant odor (1 point) to very strong unpleasant odor (5 points), ³⁾The attribute was evaluated from very poor (1 point) to very good (5 points), ⁴⁾Values are means of responses from 25 panelists, ^{a-d}Different superscripts within a column indicate significant difference ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

관능검사

기 제조된 청국장에 소금, 죽염, 목초액 소금 및 고추씨기름을 각 2%씩 첨가하고 4°C에서 24시간 숙성시킨 후 이들 청국장에 대하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사는 불쾌취의 정도와 맛에 대하여 실시하였으며, 그 평가 결과는 Table 1에 나타내었다. 불쾌취에 대한 강도는 무첨가구>소금>목초액 소금>고추씨기름>죽염 첨가구의 순으로 나타났다. 죽염, 고추씨기름, 목초액 소금의 첨가는 청국장의 불쾌취를 감소시키는데 효과가 있음을 알 수 있었다. 고추씨기름 첨가에 의한 청국장 불쾌취 개선은 Joo(8)에 의해서도 보고되어 있으며, 이는 고추씨기름의 첨가에 의하여 청국장 냄새 성분 중 리놀레에이트 에틸(ethyl linoleate)이 증가하여 청국장의 불쾌취가 개선된다고 하였다. 죽염 및 목초액 소금의 청국장 불쾌취 감소 효과는 염에 의한 항균 효과 및 염 이외의 대나무 및 목초액 유래 성분들로부터 기인하는 것으로 생각되었다. 한편, 맛의 선호도는 고추씨기름>죽염>목초액 소금>소금>무첨가구 순으로 나타났다. 즉, 고추씨기름, 죽염, 목초액 소금을 첨가하여 숙성시킨 청국장은 무첨가구 청국장에 비하여 좋은 관능적 특성을 나타내었다. 한편, 목초액 소금 첨가구의 맛은 고추씨기름이나 죽염을 첨가한 청국장보다 낮은 점수를 받았는데, 이는 목초액의 신맛과 탄 냄새로부터 기인하는 것으로 사료되었다.

첨가제에 따른 *B. cereus*의 증식 억제 효과

발효 청국장에 대하여 소금, 죽염, 목초액 소금 및 고추씨기름을 각 2%씩 넣고 24시간 및 48시간 숙성한 후 *B. cereus*에 대한 항균 활성을 검토하였다. Fig. 1에 나타낸 것처럼, 24시간 숙성 후의 소금, 죽염 및 목초액 소금 첨가구는 무첨가구(2.24×10^7 CFU/g)에 비하여 세균 수가 세 첨가구 모두 약 1/4로 감소하여 *B. cereus*에 대한 항균 활성이 뛰어난 것을 알 수 있었다. 그러나 고추씨기름 첨가구는 무첨가구와 세균 수에 있어서 유의적인 차이가 없었다. 48시간 숙성 무첨가 청국장의 경우 그 세균 수가 2.51×10^7 CFU/g이었으며, 죽염 첨가구의 경우 0.29×10^7 CFU/g로 24시간 숙성시보다 더욱 뛰어난 *B. cereus* 억제 효과를 나타내었다. 죽염의 이러한 항균 특성은 삼투압 작용에 의한 것으로 생각되었지만, 비교로 나타낸 소금 첨가구보다 그 항균 활성이 더 뛰어났다. 그 이유는 이전 구강 미생물 관련 연구 결과로부터 알려진 것처럼 소금에는 없는 죽염에 함유된 불용성 물질에 의한 것(18)으로 생각되었다. 목초액 소금 첨가구(0.62×10^7 CFU/g) 및 소금 첨가구(0.95×10^7 CFU/g)의 경우에 있어서도 여전히 무첨가구에 비하여 높은 세균 억제 효과를 나타내었으나, 죽염의 효과보다는 낮았

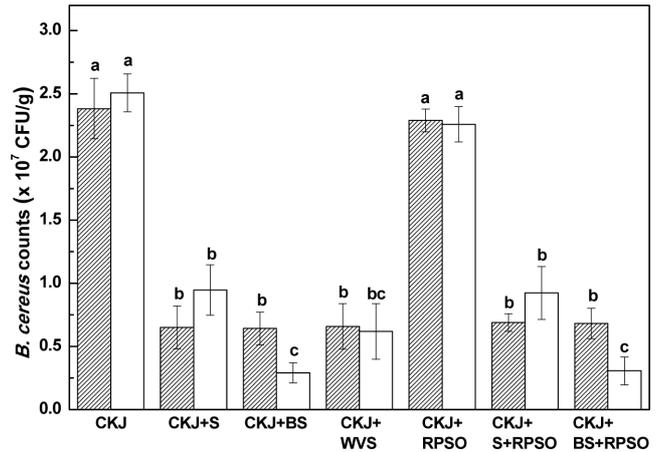


Fig. 1. Effect of various additives in 24 h (▨) and 48 h (□) ripened *Cheonggukjang* on the growth of *Bacillus cereus*. CKJ: *Cheonggukjang*, CKJ+S: salt added *Cheonggukjang*, CKJ+BS: bamboo salt added *Cheonggukjang*, CKJ+WVS: wood vinegar salt added *Cheonggukjang*, CKJ+RPSO: red pepper seed oil added *Cheonggukjang*, CKJ+S+RPSO: salt and red pepper seed oil added *Cheonggukjang*, CKJ+BS+RPSO: bamboo salt and red pepper seed oil added *Cheonggukjang*. a-c: The same alphabet at each group is not significantly different by sample ($p > 0.05$).

다. 한편, 고추씨기름 첨가의 경우 세균 수는 2.26×10^7 CFU/g로 무첨가구와 큰 차이가 없어 *B. cereus* 억제 효과는 없는 것으로 사료되었다. 이전 연구에서 Lee 등(19)은 NaCl이, Lee 등(20)과 Kim 등(21)은 목초액이 *B. cereus* 증식 억제 효과가 있다고 보고 하였으나, 죽염의 경우 지금까지 그 효과가 보고된 바 없었다. 본 연구 결과로부터 소금과 목초액 소금 이외에도 죽염이 *B. cereus*에 대하여 증식 억제 효과를 가진다는 사실을 새롭게 확인하였으며, 죽염의 *B. cereus* 증식 억제 효과가 이전에 보고된 첨가제들보다 현저하게 뛰어나기 때문에 앞으로의 이용이 크게 기대되었다.

한편, *B. cereus* 증식 억제에 있어서 첨가제 간의 상승효과를 검토하기 위하여 고추씨기름과 소금 및 고추씨기름과 죽염을 혼합하여 사용하였다. 그러나 Fig. 1에 나타낸 것처럼, 항균 효과가 있었던 소금 및 죽염을 고추씨기름과 혼합하여 첨가한 경우, 첨가제 단독 사용의 경우와 비교하여 세균 수에 있어 거의 차이를 나타내지 않았다. 따라서 소금 및 죽염은 고추씨기름과 혼합 첨가 시, 청국장의 *B. cereus* 증식 억제의 상승효과는 없는 것으로 사료되었다.

상기 관능검사 및 *B. cereus* 증식 억제 효과에 대한 검토 결과, 죽염 첨가구가 불쾌취 저감 효과 및 맛의 선호도가 높았고, *B. cereus* 증식 억제 효과 또한 가장 현저하였다. 따라서 이후 불쾌취 저감의 원인을 검토하기 위한 냄새 성분 분석 실험은 죽염 첨가 청국장을 대상으로 실시하였다.

죽염 첨가 청국장의 냄새 성분

죽염 첨가구와 무첨가구의 냄새 성분을 에테르 추출하고, 그 추출물의 GC/MS 분석 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 죽염 첨가구와 무첨가구의 GC/MS 크로마토그램은 매우 유사하였다. 전체 피크 면적%의 합은 Table 2에 나타낸 것처럼, 죽염 첨가구 및 무첨가구에서 거의 유의차가 없었다. 이는 전체 냄새 성분의 총량의 차이는 거의 없다는 것을 나타낸다.

각 피크 성분의 추정 및 동정 결과는 Table 2에 나타내었다. 무첨가구 청국장 에테르 추출물의 주성분은 oxirane-2-carboxylic

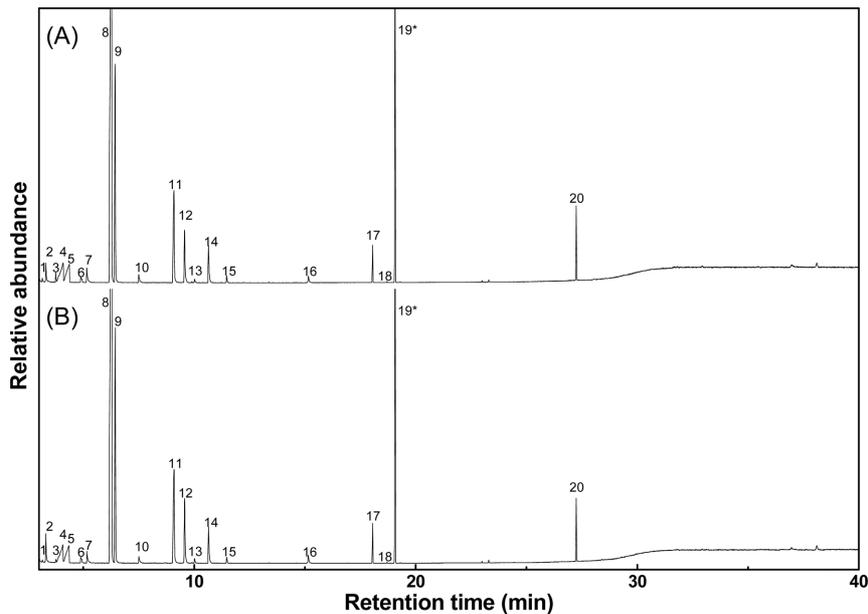


Fig. 2. Total ion current (TIC) chromatograms of ether extracts prepared from *Cheonggukjang* (A) and *Cheonggukjang* with 2% bamboo salt (B).

Table 2. GC/MS analysis result of ether extracts prepared from *Cheonggukjang* and *Cheonggukjang* with 2% bamboo salt

| Peak No. | RT ¹⁾ (min) | Compounds | Area% ²⁾ and SD ³⁾ | | Odor description |
|----------|------------------------|---|--|----------------------|--|
| | | | CKJ ⁴⁾ | CKJ+BS ⁵⁾ | |
| 1 | 3.15 | Unknown | 0.82±0.19 | 0.73±0.09 | - |
| 2 | 3.31 | 1-Ethoxy-1-methoxy-ethane | 5.06±0.62 | 7.44±0.52 | Orange-like (22) |
| 3 | 3.76 | Ethylene carbonate | 2.03±0.18 | 0.93±0.16 | Odorless |
| 4 | 4.08 | 3-Methyl butanoic acid | 20.67±2.37 | 19.7±0.78 | Strong pungent cheesy or sweaty (23,24) |
| 5 | 4.35 | 2-Methyl butanoic acid | 19.01±1.74 | 18.35±0.79 | Fruity, cheesy, sweaty (25) |
| 6 | 4.89 | Unknown | 2.45±0.32 | 2.57±0.05 | - |
| 7 | 5.16 | 2,5-Dimethyl pyrazine | 4.99±0.68 | 4.71±0.50 | Nutty, roasty odor notes in fermented soybean pastes, sesame oil, and cooked beef (26) |
| 8 | 6.27 | Oxirane-2-carboxylic acid ethyl ester | 280.58±14.50 | 291.42±6.65 | - |
| 9 | 6.43 | 3,4-Dihydroxy-3,4-dimethylhexane-2,5-dione | 64.48±3.64 | 71.83±2.40 | - |
| 10 | 7.50 | 2,3,5-Trimethyl pyrazine | 2.91±0.35 | 2.68±0.12 | Nutty, roasty odor notes in fermented soybean pastes, sesame oil, and cooked beef (26) |
| 11 | 9.08 | 2-Methyl-propylester propanoic acid | 37.83±2.83 | 39.42±2.39 | - |
| 12 | 9.57 | Unknown | 18.91±0.78 | 21.5±0.45 | - |
| 13 | 10.02 | 2-Methyl-1-methylethylester propanoic acid | 1.2±0.11 | 1.46±0.02 | Fruity, pineapple, pear |
| 14 | 10.65 | Maltol | 11.92±0.57 | 10.86±0.12 | Cotton candy and caramel (27) |
| 15 | 11.47 | 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one | 2.12±0.06 | 1.73±0.06 | Present in a wide variety of foodstuffs, such as orange juice, popcorn, and onions (28), caramel |
| 16 | 15.16 | Vinyl acetate | 2.34±0.24 | 2.77±0.39 | Sweetish smell in small quantities |
| 17 | 18.05 | Butylated hydroxytoluene | 7.67±0.19 | 7.47±0.21 | - |
| 18 | 18.70 | Unknown | 0.21±0.03 | 0.17±0.00 | - |
| 19 | 19.07 | Hexadecane (IS ⁶⁾) | - | - | Gasoline-like to odorless |
| Total | | | 485.21±32.95 | 505.72±14.40 | |

¹⁾Retention time, ²⁾Area%=(each peak area/internal standard peak area)×100, values are mean±SD (n=3) ³⁾Standard deviations, ⁴⁾*Cheonggukjang*, ⁵⁾bamboo salt added *Cheonggukjang*, ⁶⁾Internal standard

acid ethyl ester (피크 8), 3,4-dihydroxy-3,4-dimethylhexane-2,5-dione (피크 9), 2-methyl-propylester propanoic acid (피크 11)이었다. 이들 화합물의 내부표준물질에 대한 상대 면적은 각각 57.8,

13.3, 7.8%이었으며, 이들 성분은 총 면적의 약 78.9%로 청국장 냄새의 주요 성분으로 생각되었지만, 본 성분들의 냄새에 대한 정보는 확인할 수 없었다. 죽염 첨가구의 경우에도 이들 피크들

이 모두 존재했으며, 각각의 피크 면적 및 이들 피크의 총면적 또한 무첨가구와 차이가 거의 없었다.

한편, 피크 2, 3, 9, 12, 15, 18번은 95% 신뢰수준에서 시험구 간에 유의차를 나타내었다. 피크 7과 10은 각각 2,5-dimethyl pyrazine 및 2,3,5-trimethyl pyrazine으로, 청국장 불쾌취의 주요 성분으로 알려진 피라진(pyrazine)류(26)이다. 본 성분들의 경우 무첨가구와 죽염 첨가구간에 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 유의차를 나타낸 성분 중 피크 2는 Table 2에 나타낸 것처럼 1-ethoxy-1-methoxy-ethane으로 오렌지 향의 주요 성분 중 하나로 알려져 있으며(22), 피크 15는 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one으로 과일 또는 카라멜과 같은 냄새가 나는 물질로 알려져 있다(28). 죽염 첨가구에서 피크 2의 면적은 무첨가구에 비하여 47.1% 높았고, 피크 15는 죽염 첨가구에서 18.4% 낮았다. 결론적으로 죽염 첨가구와 무첨가구에서 청국장 냄새 성분의 총량 및 불쾌취 성분들의 양에는 차이가 없으나, 죽염 첨가에 의하여 청국장 냄새 구성 성분 중 좋은 냄새에 기인하는 성분(피크 2)의 양이 크게 증가한 것을 확인하였다. 따라서 죽염 첨가에 의하여 청국장의 냄새 구성 성분 중 향취 성분이 크게 증가하여 잔존하는 불쾌취를 차폐함에 따라 전체적인 청국장의 냄새가 개선되는 것으로 생각된다.

요 약

청국장의 불쾌취를 줄이고 *B. cereus* 증식을 억제하는데 다양한 첨가제의 효과를 검토하였다. 관능검사는 불쾌취와 맛에 대하여 각각 5점 척도법으로 실시하였다. 무첨가 청국장의 불쾌취 강도가 가장 높다고 평가되었으며, 소금 첨가구, 목초액 소금 첨가구, 고추씨기름 첨가구, 죽염 첨가구 순으로 높게 나타났다. 맛의 선호도는 고추씨기름 첨가 청국장이 다른 첨가구들보다 높았다. 각 첨가제들의 *B. cereus* 증식 억제 효과를 확인한 결과, 죽염이 다른 3개 첨가제에 비하여 그 효과가 가장 뛰어났다. 관능검사 결과 및 *B. cereus* 증식 억제 효과가 좋게 나타난 죽염 첨가 청국장과 무첨가 청국장의 냄새 성분을 추출, 농축하여 GC/MS로 분석하였다. 죽염 첨가 청국장에서 오렌지 유사 향인 1-ethoxy-1-methoxy-ethane이 무첨가구에 비해 크게 증가하였다. 결과적으로 죽염을 청국장에 첨가하는 것은 차폐에 의한 청국장의 불쾌취 감소뿐만 아니라 *B. cereus* 증식 억제에 효과적임을 확인하였다.

References

- Kim KJ, Ryu MK, Kim SS. *Chungkook-jang Koji* fermentation with rice straw. Korean J. Food Sci. Technol. 14: 301-308 (1982)
- Heo S, Lee SK, Joo HK. Isolation and identification of fibrinolytic bacteria from Korean traditional *chungkookjang*. Agr. Chem. Biotechnol. 41: 119-124 (1998)
- Kwon HY, Kim YS, Kwon GS, Kwon CS, Sohn HY. Isolation of immuno-stimulating strain *Bacillus pumilus* JB-1 from *chungkook-jang* and fermentational characteristics of JB-1. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 32: 291-296 (2004)
- Choi SH, Ji YA. Changes in flavor of *chungkookjang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 21: 229-234 (1989)
- Bock JY. Changes in chemical composition of steamed soybean during fermentation and in alkylpyrazines during aging of *chungkookjang*. PhD thesis, Chungang University, Seoul, Korea (1993)
- Kim JH. Changes of flavor compounds during *chungkook-jang* fermentation. MS Thesis, Konkuk University, Seoul, Korea (1996)
- Park WJ, Park HY, Yoo JH, Rhee MS. Effect of *Artemisia asiatica* Nakai extract on the flavor of *chung-kuk-jang*. Food Eng. Prog. 5: 115-124 (2011)
- Joo HK. Studies on chemical composition of commercial *chung-kuk-jang* and flavor compounds of *chung-kuk-jang* by mugwort (*Artemisia asiatica*) or red pepper seed oil. Korea Soybean Digest. 13: 44-56 (1996)
- Andersson A, Ronner U, Granum PE. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*. Int. J. Food Microbiol. 28: 145-155 (1995)
- Moon JH, Shin HA, Rha YA, Om AS. The intrinsic antimicrobial activity of bamboo salt against *Salmonella enteritidis*. Mol. Cell. Toxicol. 5: 323-327 (2009)
- Park SJ, Park KY, Jun HK. Effects of commercial salts on the growth of kimchi-related microorganisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 806-813 (2001)
- Hwang KM, Oh SH, Park KY. Increased antimutagenic and *in vitro* anticancer effects by adding green tea extract and bamboo salt during *Doenjang* fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 1-7 (2007)
- Lee KI, Park KY, Ahn HK. The anticancer effects of *doenjang* made with various kinds of salt. Korean J. Culin. Res. 17: 241-252 (2011)
- Park SS. The quality characteristics and taste compounds of fermented fish, *jari-jeot* with bamboo salt. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 666-673 (2012)
- Ikegami F, Sekine T, Fujii Y. Anti-dermatophyte activity of phenolic compounds in "Mokusaku-Eki". Yakugaku Zasshi. 118: 27-30 (1998)
- Kang JS, Kim SH, Kim PG, Lee DW, Ryu SP. Differences of wood vinegar ingestion and exercise training on blood lipids, MDA, and SOD activities in rats. J. Life Sci. 19: 1190-1199 (2009)
- Lee SS, Ahn BJ, Cho ST. Antimicrobial activities of wood vinegar and application as natural fungicides and food preservatives. J. Korean Wood Sci. Technol. 38: 341-348 (2010)
- Shon WS, Yoo YC, Kim CY. The effect of NaCl and bamboo salt on the growth of various oral bacteria. J. Korean Acad. Oral Health. 15: 255-268 (1991)
- Lee NY, Kim YS, Shin DH. Growth inhibitory effects of chloride salts and organic acid salts against foodborne microorganisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 1233-1238 (2003)
- Lee KM, Jeong GT, Park DH. Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of wood vinegar. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 19: 381-384 (2004)
- Kim JS, Park SW, Ham YS, Jung SK, Lee SH, Chung SK. Antimicrobial activities and phenolic compounds of pyroligneous liquor. Korean J. Food Preserv. 12: 470-475 (2005)
- Nahon DF, Navarro Y, Koren PA, Roozen JP, Posthumus MA. Flavor release from mixtures of sodium cyclamate, sucrose, and an orange aroma. J. Agr. Food Chem. 46: 4963-4968 (1998)
- Zhao J, Dai X, Liu X, Zhang H, Tang J, Chen W. Comparison of aroma compounds in naturally fermented and inoculated Chinese soybean pastes by GC-MS and GC-Olfactometry analysis. Food Control. 22: 1008-1013 (2011)
- Shukla S, Choi TB, Park HK, Kim MH, Lee IK, Kim JK. Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste (*doenjang*). Food Chem. Toxicol. 48: 2005-2010 (2010)
- Boelens MH. Chemical and sensory evaluation of lavender oils. Perfum. Flavor. 20: 23-51 (1995)
- Ho CT, Carlin JT. Formation and aroma characteristics of heterocyclic compounds in foods. pp. 92-104. In: Flavor Chemistry Trends and Developments. Teranishi R, Buttery RG, Shahidi F (eds). American Chemical Society, Washington, DC, USA (1989)
- Bernstein LR, Tanner T, Godfrey C, Noll B. Chemistry and pharmacokinetics of gallium maltolate, a compound with high oral gallium bioavailability. Metal-Based Drugs. 7: 33-47 (2000)
- Lasekan O. Volatile constituents of roasted tigernut oil (*Cyperus esculentus* L.). J. Sci. Food Agr. 93: 1055-1061 (2013)