

*Aspergillus oryzae*를 이용한 메주제조 중 피트산과 무기질의 상호작용

강현주 · 박은순 · 윤 선

연세대학교 식생활학과

Interaction of Phytic Acid with Minerals during *Meju* Preparation

Hyeon-Ju Kang, Eun-Soon Park and Sun Yoon

Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul

Abstract

The purpose of this study was to investigate the changes of phytic acid content and phytase activity and the interactions between phytic acid and minerals in the preparation of *Meju* (fermented steamed soybean mash with molds). *Meju* contained significantly lower phytic acid and higher phytase activity than both raw and cooked soybeans. This seems to be the result of degradation of phytic acid by phytase produced during preparation of *Meju* by *Aspergillus oryzae*. Fe, Zn, Ca contents of soybeans were not changed either by cooking or fermentation. However, these minerals in the retentate of ultrafiltration were significantly lower in *Meju* than in raw and cooked soybeans. This result indicated that there are lower mineral-phytic acid complex in *Meju* than in raw and cooked soybeans, which might contribute to higher bioavailability of these minerals in *Meju*.

서 론

종자류에 내재하는 인화합물로는 phytic acid P, inorganic P, phospholipid, nucleic acid P, phosphoprotein 등이 있으며 이들 중 phytic acid (myoinositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 - hexakis)는 종자류에 있는 인의 주요 저장 형태이다.⁽¹⁾

Phytic acid는 단백질 및 Ca⁺, Mg⁺, Zn⁺, Fe⁺, Fe⁺와 같은 무기질과 불용성 복합체를 형성함으로써 종자류에 함유되어 있는 단백질 및 무기질의 생체 이용율을 감소시킨다고^(1, 2, 4) 알려졌다.

Phytase (myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase E. C. 3. 1. 3. 8)는 phytic acid를 inositol과 free-ortho phosphate로 가수분해하는 효소로서^(3, 6) 식물과 동물조직, 많은 종류의 곰팡이 및 일부 박테리아에 분포

되어 있으며⁽⁶⁾, 발아, 침지, 발효시에 그 활성이 증진된다고 보고되었다.^(5, 7, 8)

Tanok나 chupatti와 같이 발효시키지 않은 빵을 상식으로 하는 이란이나 punjab 지역에서 hypergonadal dwarfism 및 구루병, 골연화증 등의 무기질 결핍증세를 흔히 볼 수 있는 것은 tanok나 chupatti에 다량으로 함유되어 있는 phytic acid에 의해 무기질의 생체이용율이 감소되었기 때문으로 보고 되었으며 이러한 현상은 발효시킨 빵으로 대체시켰을때 감소함이 밝혀졌다.⁽⁹⁻¹²⁾ 따라서 발효과정은 종자류의 phytic acid 함량을 낮추는 효과적인 가공방법이라 할수 있겠다. 이에 본 연구에서는 우리나라의 주요 콩 발효 식품인 메주를 실험 재료로 하여 발효과정중의 phytase 활성 변화와 phytic acid 함량변화를 조사하고 그에 따른 무기질과의 상호작용을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

콩은 신선 시장에서 구입하였고 메주 제조에 사용한 *Aspergillus oryzae*는 한국 종균 협회에서 분양받았다.

날콩은 마쇄하여 80mesh 체로 친 후 냉동건조시켰고 열처리콩은 실온에서 하룻밤 침치시킨 후 121°C에서 15분간 autolave 하여 냉동 건조시킨 후 마쇄하여 80mesh 체로 쳐서 시료로 하였다. 메주는 같은 콩을 원료로 제조하여 냉동건조한 후 마쇄하여 80mesh 체로 쳤다. 이들 세가지 시료는 모두 acetone 으로 탈지시킨 후 -1°C 이하에서 보관하여 분석 실험에 사용하였다.

*Aspergillus oryzae*의 보존 및 starter의 조제

균주는 potato dextrose agar (PDA) 배지에 사면 배양한 후 5°C에서 보존하여 starter로 사용하였다.

메주제조

메주는 김⁽¹³⁾의 *Aspergillus oryzae*를 이용한 개량 메주 제조 방법을 변형시켜 만들었다. 콩을 8시간 침지시키고 121°C에서 15분간 outoclave 한 후 30°C 정도로 냉각시켜 뻥았다. 콩 300g 정도에 *Aspergillus oryzae* 균주 1 slant를 접종하여 항온기에 넣어 30~37°C에서 약 3일간 배양시켜 시료메주로 하였다.

Total phosphorus 정량

날콩, 열처리콩, 메주 내의 total P 정량은 AOAC법⁽¹⁴⁾으로 실시하였다.

Phytic acid P 정량

날콩, 열처리콩, 메주 각각의 탈지가루, water extract 및 retentate에서 각각 phytic acid P의 함량을 측정하였다. Water extract 및 retentate는 박동⁽¹⁵⁾의 방법으로 준비하였다.

Wheeler와 Ferrel⁽¹⁶⁾의 방법으로 phytic acid를 추출한 후 KSCN법으로 Fe의 함량을 구하여 phytic acid P를 산출하였다. Phytic acid에는 6개의 P가 존재하고 이들은 Fe 4개와 결합하므로 Fe:P = 4:6 즉 4P = 6Fe에서 P 함량을 구하였다.

Phytase 활성 측정

각 시료를 2% CaCl₂를 함유한 pH 5.3의 0.25M acetate buffer와 1:10의 비율로 섞어 실온에서 30분간 기계적으로 교반시켰다. 2°C에서 20,000XG로 30분간 원심분리하여 얻은 상층액을 ultrafiltration 하여 1/3로 농축시킨 후 crude enzyme solution으로 사용하였

다. $1.5 \times 10^{-3} M$ sodium phytate가 포함된 0.25M acetate buffer (pH 5.3) 2 ml를 기질 용액으로 하여 효소를 넣고 50°C에서 30분간 incubate 한 후 10% TCA 2 ml를 가하여 효소의 활성을 중지시켰다.^(6,17) 이 용액을 여과한 후 2 ml를 취하여 inorganic P를 측정하였다.⁽¹⁸⁾ 이때 유리되는 $1 \mu mole$ 의 inorganic P의 양을 효소 활성 1 unit로 정하였다.

무기질의 함량 측정

날콩, 열처리콩, 메주 각각의 탈지가루와 그것의 water extract, ultrafiltration한 후 보유된 retentate에서 각각 Zn, Fe, Ca의 함량을 측정하였다.

Zn, Fe, Ca을 분석하기 위한 시료 용액은 김⁽¹⁹⁾의 방법에 의해 조제하였다. 분자 흡광 광도계 (Varian AA-375)에 의하여 Zn는 213.8 nm에서, Fe은 248.3 nm에서, Ca은 422.7 nm에서 각각 optical density를 측정하였다.

결과 및 고찰

메주 제조 과정중의 총인 및 phytic acid P의 함량변화

날콩, 열처리콩, 메주내의 총인 및 phytic acid P의 함량은 Table 1과 같다. 날콩, 열처리콩, 메주내의 총인의 함량은 867.19~937.0 mg% 였고 이들의 총인의 함량 간에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

Phytic acid P 함량은 날콩에서 611.80 mg% 였고 열처리콩에서 576.04 mg% 였으며 메주에서 491.74 mg% 였

Table 1. Total P and phytic acid P contents of raw and cooked soybeans and Meju¹

Sample	Total P (mg%)	Phytic acid P (mg%)
Raw soybeans	880.39 ± 14.53	611.80 ± 11.91 ^{a2}
water extract		455.41 ± 2.15 ^c
retentate		222.98 ± 18.02 ^d
Cooked soybeans	867.19 ± 7.02	576.04 ± 12.53 ^b
water extract		483.87 ± 5.18 ^c
retentate		170.92 ± 15.43 ^d
Meju	937.0 ± 16.77	491.74 ± 24.66 ^{a,b}
water extract		308.13 ± 11.32 ^c
retentate		96.08 ± 14.06 ^d

1. All data were expressed on dry basis.

2. Same letters indicate significant difference (P < 0.05).

다. 날콩과 열처리콩의 phytic acid P 함량에는 유의적인 차이가 없었으나 메주는 날콩과 열처리콩에 비해서 phytic acid P 함량이 유의적으로 낮았다. 이것으로 미루어 보아 121°C에서 15분 동안의 열처리는 phytic acid P의 함량 감소에 별 영향을 주지 않으나, 발효는 phytic acid P의 함량 감소에 큰 효과를 미칠을 알수있다. 박등⁽¹¹⁾에 의하면 대두에 있어 날콩의 phytic acid P 함량은 539.38mg%, 삶은콩은 462.28mg% tempeh는 348.64mg%로 조리와 발효에 의해 phytic acid P가 유의적인 감소를 보였으며 조리보다는 발효에 의해 phytic acid P 감소 효과가 더 컸다고 하였다.

날콩의 water extract의 phytic acid P 함량은 455.41mg%로 나타나 74.44%가 물에 녹는 것으로 나타났고 열처리콩에서는 483.87mg%로 84.0%가 물에 녹는 것으로 나타났다. 한편 메주의 water extract에는 308.13mg%의 phytic acid P가 함유되어 있어 62.66%가 물에 녹는 것으로 나타났다.

날콩, 열처리콩, 메주의 water extract를 분자량이 10,000이하인 물질만 통과시킬 수 있는 PM-10 membrane을 사용하여 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 phytic acid P의 함량을 조사하였다. 날콩의 경우 222.98mg%, 열처리콩의 경우 170.92mg%, 메주의 경우 96.08mg%로 나타나 열처리나 발효에 의해 유의적으로 감소함을 알 수 있다. 이들 retentate의 보유율로 나타내면 각각 48.96%, 35.32%, 31.18%로 점차 감소하는 경향을 보였다.

Phytic acid와 그의 염들은 분자량이 1,000 이하여서 본 실험에서 사용한 PM-10 membrane을 자유롭게 통과할 수 있으나, phytic acid가 단백질과 같은 분자량이 큰 물질들과 복합체를 이루고 있으면 membrane을 통과하지 못하고 retentate에 남게 된다.

메주 제조 과정중의 phytase 활성 변화

날콩, 열처리콩, 메주내의 phytase 활성을 측정하여 그 결과를 Table 2에 요약하였다. 시료 1g당 phytase 활성은 날콩이 7.18 units, 열처리콩이 0.11 units, 메주가 16.37 units로 나타났다. 위의 결과로 대두에 있는 phytase는 열처리에 의해 거의 불활성화 되었음을 알 수 있다. 그러나 열처리콩에 *Aspergillus oryzae*를 접종시켜 제조한 메주에 있어서 phytase 활성이 유의적으로 높아진 것은 발효 동안에 *Aspergillus oryzae*에 의해 분비된 phytase 때문인 것으로 추정된다. 메주에 함유되어 있는 phytic acid P의 양이 유의적으로 낮은 것은 발효에 관여한 미생물에 의해 분비된 phytase가 phytic acid를 분해시킨 결과로 생각된다.

Table 2. Phytase activity of raw and cooked soybeans and Meju

Sample	Phytase activity (units/g dry weight)
Raw soybeans	7.18±0.08
Cooked soybeans	0.11±0.01
Meju	16.37±0.78

Wang⁽¹²⁾에 의하면 동양의 발효 식품에 흔히 이용되는 곰팡이들이 phytase를 생성하는 능력이 있다고 하였으며 특히 *Aspergillus oryzae*균의 경우 그 생성 능력이 더 컸다고 한다.

메주 제조 과정중의 무기질의 함량 변화

메주 제조 과정중의 Zn, Fe, Ca의 함량 변화 및 phytic acid와의 상호 작용을 알아보기 위해 날콩과 열처리콩, 메주에서 Zn, Fe, Ca의 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. Zn의 함량은 날콩이 6.42mg%, 열처리콩이 6.78mg%, 메주가 6.72mg%였으며 이들간에는 유의적인 차이가 없었다. 또한 이들의 water extract에서의 Zn의 함량에도 유의적인 차이가 없었다. 그러나 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Zn 함량은 날콩이 1.37mg%, 열처리콩이 1.38mg%, 메주가 1.03mg%로 나타났으며 날콩과 열처리콩에 비해 메주가 유의적으로 감소하였다. 이들 각각을 retentate의 보유율로 나타내면 36.24%, 35.75%, 27.80%로 점차 감소하는 경향을 보였다.

박등⁽¹¹⁾의 연구에서도 날콩과 tempeh의 Zn 함량에는 유의적인 차이가 없었으나 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Zn의 함량은 발효에 의해 유의적으로 감소함을 보였다.

날콩, 열처리콩, 메주의 Fe 함량은 8.63~9.30mg%로 나타났으며 열처리나 발효에 의해 유의적인 변화가 없었다. 이들 각각의 water extract의 Fe 함량도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Fe 함량은 날콩이 3.33mg%, 열처리콩이 1.85mg%, 메주가 1.03mg%로 나타나 열처리와 발효에 의해 유의적으로 감소한 것을 알 수 있었으며 열처리보다는 발효에 의해 더 감소하였다. 이들 각각의 retentate의 보유율은 70.56%, 38.14%, 20.89%로서 점차 감소함을 볼 수 있었다.

Ca의 함량은 날콩이 208.43mg%, 열처리콩이 222.74mg%, 메주가 213.90%로 유의적인 차이가 없었으며 이들 각각의 water extract에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Ca 함량은 날콩이 39.33mg%, 열처리콩이 29.54

Table 3. Zn, Fe, Ca contents in raw and cooked soybeans and Meju¹

Sample	Zn (mg %)	Fe (mg %)	Ca (mg %)
Raw soybeans	6.42 ± 0.24	8.82 ± 0.72	208.43 ± 3.97
water extract	3.78 ± 0.13	4.72 ± 0.32	136.63 ± 8.90
retentate	1.37 ± 0.90 ^{a2}	3.33 ± 0.21 ^c	39.33 ± 4.77 ^d
Cooked soybeans	6.78 ± 0.22	8.63 ± 1.17	222.74 ± 9.19
water extract	3.86 ± 0.23	4.85 ± 0.16	139.43 ± 3.34
retentate	1.38 ± 0.01 ^b	1.85 ± 0.33 ^c	29.54 ± 8.36
Meju	6.72 ± 0.29	9.30 ± 0.49	213.90 ± 6.58
water extract	3.70 ± 0.90	4.93 ± 1.05	133.69 ± 14.79
retentate	1.03 ± 0.13 ^{a3}	1.03 ± 0.01 ^c	20.93 ± 3.29 ^d

1. All data were expressed on dry basis.

2. Same letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

mg%, 메주가 20.93mg%로 낱콩에 비해 메주에서 유의적인 감소를 보였다. 이들 각각을 retentate의 보유율로 표시하면 28.79%, 21.19%, 15.66%로 열처리나 발효에 의해 감소하는 경향을 보였다. Ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Ca 함량이 발효에 의해 감소된 것은 tempch를 재료로 연구한 박등¹⁵의 결과와 일치한다.

이상에 나타난 바와같이 열처리나 발효에 의해 Zn, Fe, Ca의 함량에는 큰 변화가 없었으나, ultrafiltration한 후 메주의 Zn, Fe, Ca 보유량은 낱콩에서보다 유의적으로 감소했음을 알 수 있다. 이는 Zn, Fe, Ca의 무기질-단백질-phytic acid의 복합체를 형성하는 경향이 낱콩보다 메주에서 낮기 때문이라고 풀이된다. 즉, 발효 과정중 phytase에 의하여 phytic acid의 함량이 감소되었기 때문으로 사료된다. 따라서 *Aspergillus oryzae*를 이용하는 개량메주의 경우 발효에 의해 콩에 함유된 무기질의 체내 이용도가 높아질 수 있는 가능성을 시사하고 있다고 하겠다.

요 약

본 연구는 대두 식품의 개발에 장애요인이 되고 있는 phytic acid에 의한 무기질의 체내 이용도의 감소를 알아보기 위하여 우리나라의 전통적 대두 발효 식품인 메주를 제조하여 발효에 의한 phytic acid 함량과 phytase 활성 변화 및 그에 따른 phytic acid와 무기질과의 상호작용을 연구하였다. 낱콩, 열처리콩, 메주내에서의 총인의 함량은 시료간에 유의적인 차이가 없었으나 phytic acid 함량은 메주에서가 낱콩이나 열처리콩에 비

해 유의적으로 낮았다. 시료 1g당 phytase 활성은 낱콩이 7.18units, 열처리콩이 0.11units, 메주가 16.37units로 나타나 발효동안에 phytase 활성이 현저히 증가되었음을 알 수 있었다. Zn, Fe, Ca의 함량은 낱콩, 열처리콩, 메주간에 유의적인 차이가 없었으나 ultrafiltration한 후 retentate에 보유된 Zn, Fe, Ca 함량은 낱콩에서 보다 메주에서 유의적으로 감소함을 보였다.

문 헌

- Reddy, N.R., Balakrishna, C.V. and Salunkhe, D.K.: *J. Food Sci.*, **43**, 540 (1978)
- Chang, R., Schwimmer, S. and Burr, H.K.: *J. Food Sci.*, **42**, 1098 (1977)
- Reddy, N.R. and Salunkhe, D.K.: *J. Food Sci.*, **45**, 1708 (1980)
- de Boland, A.R., Garner, G.B. and O'dell, B.I.: *J. Agri. Food Chem.*, **23**, 1186 (1975)
- Fardiaz, D. and Markakis, P.: *J. Food Sci.*, **46**, 523 (1981)
- Lolas, G.M. and Markakis, P.: *J. Food Sci.*, **42**, 1094 (1977)
- Sudarmadji, S. and Markakis, P.: *J. Sci. Food Agri.*, **28**, 381 (1977)
- Tabekhia, M.M. and Luh, B.S.: *J. Food Sci.*, **45**, 406 (1980)
- Haghsheh, M., Mahloutji, M., Reinhold, J.G. and Mohammadi, N.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **25**, 1143 (1972)

10. O'Dell, B.L.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**, 1315 (1969)
 11. Reinhold, J.G., Nasr, K., Lahimgarzadeh, A. and Hedayati, H.: *Lancet*, **1**, 283 (1973)
 12. Wicke, H.L., Hopkins, D.T. and Wasse, D.H.: *Soy Protein and Human Nutrition*, Academic Press, New York, p. 187 (1979)
 13. 김상순 : 한국식품과학회지 **10**, 63 (1978)
 14. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 12th ed. Association of Official and Agricultural Chemists. Washington, D.C. (1975)
 15. 박은순, 윤선 : 한국영양학회지, **16**, 281 (1983)
 16. Wheeler, E.L. and Ferrel, R.E.: *Cereal Chem.*, **48**, 312 (1971)
 17. Wang, H.L., Swain, E.W. and Hesseltine, C.W.: *J. Food Sci.*, **45**, 1262 (1980)
 18. Pons, W.A. and Guthrie, J.D.: *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **18**, 184 (1946)
 19. 김영희 : 연세대학교 석사학위 논문 (1979)
-
- (1984년 8월 11일 접수)