

재래식 메주의 발효과정에 있어서 단백질 및 아미노산 조성 변화

안봉전 · 손규목 · 최 청

영남대학교 식품가공학과
(1986년 4월 28일 접수)

Changes in Protein and Amino Acid Composition of Native Meju During Fermentation

Bong-Jeun An, Gyu-Mok Son and Cheong Choi

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University

(Received April, 28, 1986)

Abstract

Changes in protein, amino acids composition and protein activity of native Meju were investigated at various time intervals over 6 weeks of fermentation by using, gel filtration, and amino acid analyzer. From the quantitative fractionation of native Meju proteins, albumin content (36.4%) was the highest at 4 weeks. During Meju fermentation, albumin increased gradually but glutelin decreased up to 4 weeks. Globulin and prolamin content did not change substantiantiall. When albumin was fractionated by Sephadex G-200, two main peaks were fractionated and a new peak appeared after 4 weeks. Its molecular weight was extimated to be 66,000 by the gel filtration method. Amino acid composition of albumin in native Meju appeared to be 17 kinds. Glutamic acid content (87.98—317.10) were the highest, followed by aspartic acid and glycine. The proleolytic enzyme activity increased when the native Meju was fermented and marked the maximum value at 4 week.

서 론

대두의 발효식품은 우리나라를 비롯하여 동양 각국의 일상 조미료로서 중요한 역할을 할 뿐 아니라 영양상 단백질 공급원으로써 그 의의가 크며 이를 이용한 제품들은 우리나라 총단백질 공급량의 8%에 이르며 그 중 60%가 발효식품인 장류제조에 이용되고 있다.¹⁾

우리나라에서는 장류를 전통적 재래방법에 의하여 제조하여 왔으나 생활의 간소화 및 메주의 소비량이 증가함에 따라 메주의 품질과 제조방법

이 개선되고 있다. 따라서 김²⁾ 및 김 등³⁾은 *Aspergillus oryzae*와 *Aspergillus sojae*를 이용하여 메주의 형성에 의한 장류의 품질을 비교하였고 이^{4,5)}는 재래식 메주장의 숙성과정에서 일어나는 성분변화에 있어서, 메주제조과정까지 거의 나타나지 않던 ornithine이 숙성과정중에 상당량 합성되었으며, 대두단백질의 아미노산 조성은 메주 발효과정 중 크게 변화되지 않았으나 serine 및 염기성 아미노산이 메주발효 1개월동안 원료 대두의 81~87%가 감소하였다고 보고하였다. Sugimura 등⁶⁾과 Takeuchi 등⁷⁾은 일본의 Miso가

발효기간이 경과함에 따라 lysine 및 methionine 이 각각 20%, 30% 감소한다고 하였으며 Steinkeraus 등^{8,9)}은 *Rhizopus satto*를 이용하여 인도네시아의 Temph를 제조하는 과정에 있어서, 비타민 및 아미노산 조성의 변화를 규명하였다. Takeuchi 등⁷⁾은 *Asp. oryzae*에 의하여 발효된 간장에서 neutral protease와 alkaline protease는 acid protease보다 더욱 큰 활성을 갖는다고 하였다.

본 연구에서는 전통적 메주의 숙성에 관한 개선을 목적으로 그 기초자료를 얻고자 재래식 메주 중 아미노산과 단백질의 변화 및 단백질분해효소의 역가에 관하여 그 실험결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 대두는 1985년도산 장려품종인 長端白目(*Glycine max. L.*)을 대구시중에서 구입하였으며 그의 일반성분은 수분 8.7%, 조단백질 41.0%, 조지방 19.6%, 조섬유 3.6%, 조회분 5.2%였다.

2. 메주제조

대두 2.5kg을 평량하여 약 12시간 침지하여 autoclave로 15 Lbs에서 1시간 가압증자한 후 30℃로 냉각시켜 약 300g의 메주를 제조, 상온에서

7일간 방치한 다음 35±1℃ 배양기에서 1에서 6주간 발효시켜, 본 실험의 시료로 사용하였다.

3. 단백질의 추출 및 분별정량

공시료는 시료: hexane(1:20, w/v)으로 5회 반복하여 완전히 탈지한 후 Bietz 등¹⁰⁾의 분류법에 의해 분획하고 Lowery법¹¹⁾에 따라 단백질을 정량하였으며 분획된 단백질은 동결건조하였다.

4. 수용성 단백질의 분획 및 정제

동결건조된 단백질 500mg에 0.1M phosphate buffer (pH:7.0) 2ml를 가해 완전히 용해시켜 균질화한 다음 filter paper syringer로 여과한 용액을 Sephadex G-200으로 분획하였다. 이 때 사용한 column의 크기는 2.0×90cm, flow rate는 3ml/10min으로 automatic fraction collector로 3ml씩 받아 280nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 주단백질 분자량 측정

메주의 수용성 단백질의 분자량 측정은 Sephadex G-200을 사용하여 Sober의 법¹²⁾으로 분자량을 측정하였다.

6. 아미노산 분석

동결건조된 수용성 단백질 5mg에 6N HCl를 가하여 질소가스로 치환한 뒤 밀봉한 후 배 등¹³⁾의 방법에 따라 가수분해하여 아미노산 분석기로 분석하였다. 이 때의 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Instrument and operating condition for amino acid autoanalyzer

Instrument	LKB
Column	Cation exchange resin (6mm×240mm)
Mobil phase	Gradient elution Buffer I : 0.2N sodium citrate pH 3.0 Buffer II : 0.2N sodium citrate pH 4.25 Buffer III : 0.2N sodium citrate pH 10.0 NaOH : 0.4N sodium hydroxide
Flow rate	Buffer solution 40ml/hr Ninhydrin solution 25ml/hr.
Chart speed	Strip chart recorder 0.2mm/min.
Integrator	0.25mm/min.
Injection volume	40ml
Optical density	Amno acid 570nm 0-1 Amino acid 440nm 0-1

7. 효소액 조제 및 효소역가 측정

발효된 각 주의 메주 5g을 분쇄하여 0.1M phosphate buffer(pH=7.0) 50ml를 가하고 균질기로 2분간 균질화한 다음 7710 × g에서 원심분리한 후 상정액을 효소액으로 사용하였다. 효소역가는 casein을 기질로 하는 Anson계량법¹⁴⁾에 따라 측정하였다. 효소역가는 미리 작성한 tyrosine 표준곡선을 이용한 tyrosine의 μg 수로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질의 분별정량

메주 숙성 중 단백질의 용해성에 대한 분별정량 결과는 Table 2에서 보는 것과 같이 수용성 단백질의 함량은 이⁴⁾가 보고한 재래식 메주발효 3주일동안 30%로 증가하였으나 본 실험에서도 26.7%로 증가한 후 5주일 이후 거의 같은 수준으로 유지하였다. 이것은 미생물군이 생성하는 효소들에 의해 단백질이 분해된 것으로 생각되며 배 등¹³⁾이 *Asp. oryzae*를 접종한 개량메주의 발효과정에서도 발효기간은 다르지만 prolamin함량은 거의 변화하지 않았다.

2. 수용성 단백질의 분획 및 정제

메주의 수용성 단백질을 Sephadex G-200으로 분획한 결과는 Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7에서 보는 것과 같이 30~40ml과 100~130ml의 V_0 에서 두개의 주된 peak가 분획되었고 시간이 경과함에 따라 고분자단백질은 약간씩 변화하여 새로운 단백질은 발효과정중 거의 변화가 없었다. 그리고 배 등¹³⁾이 보고한 개량메주의 숙성과정에 있어서 수용성단백질의 변화에서, 5일 발효되었을 때 6개

의 단백질이 분리되었으나 본 실험에서는 미생물이 생성하는 단백질분해효소들에 의하여 3주일때 4개의 단백질로 분리되었다.

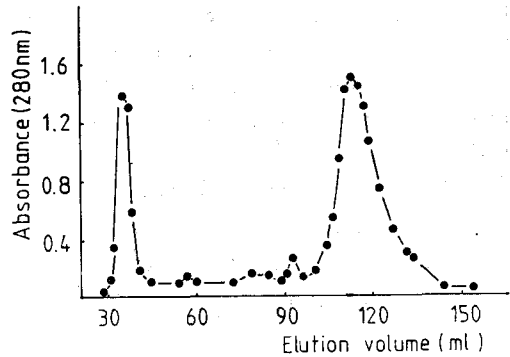


Fig. 1. Fraction on the Sephadex C-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 0 week.

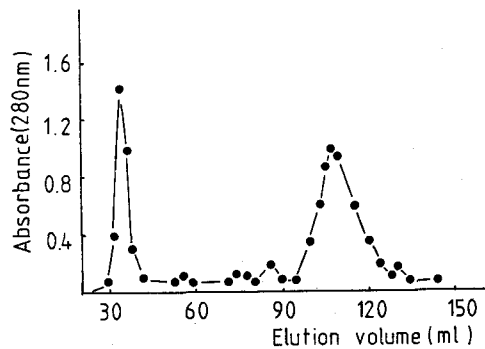


Fig. 2. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 1 week.

Table 2. Fraction of the soluble protein in native Meju during the fermentation

Protein	Protein contents (%) during weeks							
	0	1	2	3	4	5	6	
Albumin	23.6	22.4	24.2	29.9	36.4	32.2	32.7	
Globulin	18.2	20.2	21.2	20.3	21.8	20.0	20.3	
Prolamin	12.3	11.7	12.7	14.2	12.1	14.2	10.7	
Glutelin	45.8	45.5	42.0	35.59	29.6	33.5	38.2	

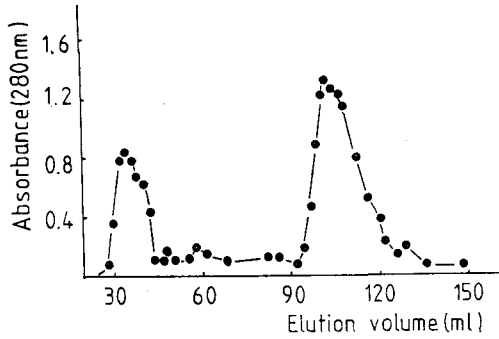


Fig. 3. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 2 weeks.

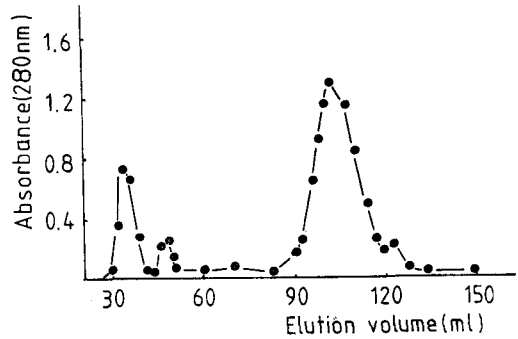


Fig. 6. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 5 weeks.

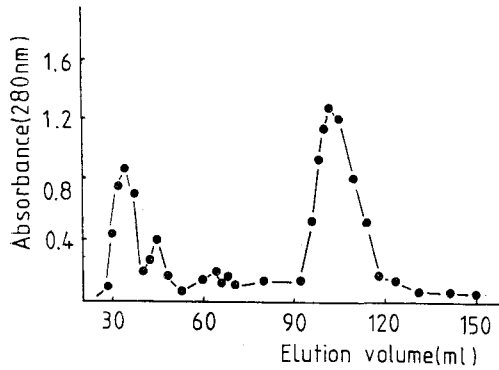


Fig. 4. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 3 weeks.

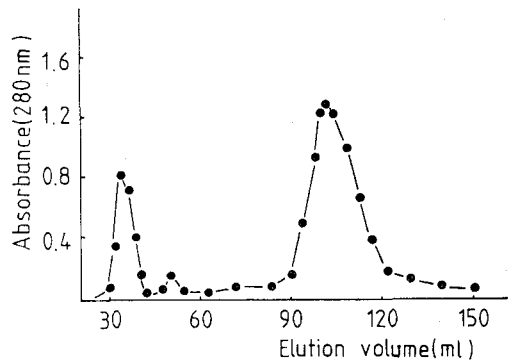


Fig. 7. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 6 weeks.

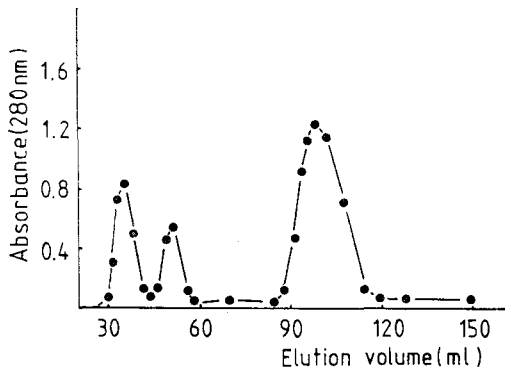


Fig. 5. Fraction on the Sephadex G-200 (2.0×80.0cm) of native Meju albumin during the fermentation of 4 weeks.

3. 주단백질의 분자량 측정

발효과정에 있어서 6주째의 수용성단백질의 주단백질의 분자량은 Fig. 8에서 보는 것과 같이 P_e/V_0 가 1.88로써 66,000이었으며 SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)에 의하여 분자량을 측정된 결과와 비슷한 값을 얻었다. *Asp. oryzae*를 접종하여 개량메주의 발효과정에 있어서 6주째의 수용성 단백질의 주단백질의 분자량은 36,000이었으나 한 국재래식 메주에 소장된 미생물군¹⁵⁾들이 생성하는 단백질 분해효소들에 의하여 주단백질의 분자량은 66,000으로서 서로 다른 값을 나타내었다.

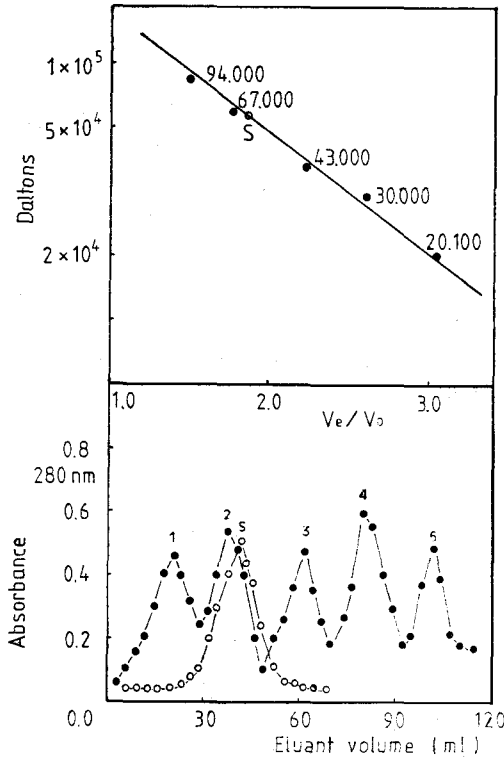


Fig. 8. Calibration curve for the determination of molecular weight of water extracted protein by Sephadex G-200 (1; phosphorylase b (944,000), 2; albumin 67,000, 3; ovalbumin (43,000), 4; carbonic anhydrase (30,000), 5: trypsin inhibitor (20,100), S; main protein.

4. 아미노산 조성

재래식 메주 발효과정 중 수용성 단백질의 아미노산 조성은 Table 3에서 보는 것과 같이 총 17종류로 glutamic acid가 87.97~317.10mM로써 가장 많았고 그 다음으로 glycine, aspartic acid 순이었고 methionine 및 cystine 함량이 매우 낮았다. 대부분의 아미노산은 4주까지 증가하다가 그 후 약간씩 감소하였다. 이¹⁴가 보고한 재래식 메주 발효과정의 아미노산 함량은 크게 변화하지 않았으나 배 등¹⁵은 개량메주 발효과정 중 serine 과 cystine은 삶은 콩에 비하여 감소하였다. 본 실험에서는 cystine 함량은 약간 감소하였으나 serine은 57.7%로 증가하였다.

5. 단백질분해효소의 역가 측정

효소역가는 Fig.9에서 보는 것과 같이 시간이 경과함에 따라 역가가 증가하여 4주째 가장 높은 효소역가가 나타났으며 그 이후의 증가는 비교적 완만하였다. 이것은 이 등¹⁶과 김¹⁷이 보고한 것과 같이 대두가 발효 동안 어느 일정기간동안 단백질분해력이 높은 것은 효소력이 강한 미생물의 작용에 의하여 단백질이 분해 및 용출될때 총질소량의 증가와 함께 상대적으로 분해력이 높아지기 때문이라 생각된다.

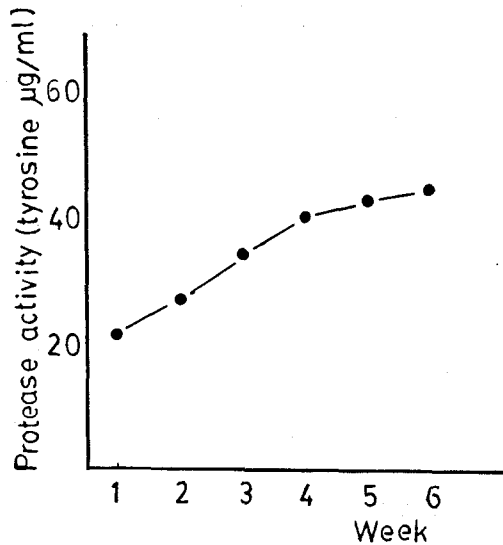


Fig. 9. Protease activity of native Meju during the fermentation.

요 약

재래식 메주의 발효과정에 있어서 단백질 및 아미노산 조성의 변화를 체계적으로 규명하기 위하여 gel-filtration 및 아미노산 자동분석기기로 분석하였다. 재래식 메주의 단백질을 분별정량한 결과 수용성 단백질은 4주째 36.4%, glutelin은 삶은 대두에서 29.6%였으며 발효시간이 경과함에 따라 수용성 단백질은 4주까지 차차 증가하였으나 globulin과 prolamin은 큰 변화가 없었다. Sephadex G-200으로 수용성 단백질이 분획되었으나 4주 때부터 새로운 저분자의 단백질이 분획되었다 발효과정중에 있어서 주단백질의 분자량

Table 3. Amino acids composition of water extracted protein in native Meju during the fermentation

Amino acid	Amino acid contents(mM/10 μ l) by weeks						
	0	1	2	3	4	5	6
Aspartic acid	41.44	94.02	94.32	90.46	140.22	62.98	64.19
Threonine	12.66	24.54	26.25	27.26	44.00	17.69	18.69
Serine	18.37	41.50	42.82	39.46	60.57	28.96	28.97
Glutamic acid	87.97	208.51	212.16	271.06	317.10	136.4	132.9
Proline	30.06	60.10	69.28	61.07	101.05	52.61	78.59
Glycine	40.13	37.11	41.49	106.48	149.97	72.66	70.10
Alanine	27.52	54.91	35.16	68.36	96.31	48.08	47.81
Cystine	1.55	3.37	2.40	1.05	5.24	1.43	1.51
Valine	13.07	33.74	21.40	41.50	59.21	26.12	27.90
Methionine	2.01	7.05	3.18	7.98	12.33	5.46	5.02
Isolencine	8.69	24.82	17.28	96.44	48.55	22.09	21.96
Leucine	16.49	46.53	29.35	60.38	81.42	36.18	35.65
Tyrosine	5.77	15.87	7.66	17.62	17.97	11.91	10.89
Phenylalanine	9.24	28.54	14.97	35.65	49.37	21.89	21.13
Histidine	13.30	19.44	10.94	22.03	29.54	17.97	18.27
Lysine	19.75	41.39	23.31	54.65	69.18	33.42	30.21
Arginine	16.45	33.10	14.19	34.80	50.77	22.82	22.45
NH ₃	110.34	96.99	60.89	16.93	202.31	90.85	79.09

은 66,000이었다. 재래식 메주의 발효과정에 있어서 아미노산은 17종류로써 glutamic acid가 87.97~317.10mM로써 가장 많았고 그 다음으로 aspartic acid, glycine 순이었다. 단백질분해력 가는 시간이 경과함에 따라 차차 증가하여 4주때 가장 높았다.

참 고 문 헌

1. Korea Institute of Science and Technology: Ministry of Science and Technology, Republic of Korea (1972).
2. 김상순: 한국식품과학회지, **10**, 63 (1978).
3. 김재옥, 조무제, 김상순: 한국농화학회지, **11**, 35 (1969).
4. 이철호: 한국식품과학회지, **5**, 210 (1973).
5. 이철호: 한국식품과학회지, **8**, 12 (1976)
6. Sugimura, K., Taira, H., Ebisawa, H. and Sakurai, Y.: J. Japan Soc. Food Nutr., **14**, 414 (1962).
7. Takeuchi, T. and Yoshii, H.: 醸工, **45**, 29 (1967).
8. Steinkraus K.H.: *Food Research*, **25**, 777 (1960).
9. Steinkraus K.H.: *J. of Food Science*, **26**, 373 (1961).
10. Bietz, J.A.: *Cereal Foods World*, **24**, 199 (1979).
11. Lowery, O.H. and Rosebrough, N.J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
12. Sober, H.A.: CRC Handbook of Biochemistry, Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio, 126, (1968).
13. 배만중, 윤상홍, 최 청: 한국식품과학회지, **15**, 4 (1983).
14. Anson, M.L.: *J. General Physiology*, **22**, 79 (1938).
15. 이우진, 조덕현: 한국농화학회지, **4**, 137 (1971).
16. 이상열, 민영규, 박관화: 한국식품과학회지, **15**, 101 (1983).
17. 김상순: 한국식품과학회지, **10**, 63 (1978).