

발효대두를 섭취한 흰쥐에서의 단백질의 생체 이용율에 관한 연구

계승희* · 박효숙 · 김상순

*한국식품공업협회 식품연구소 · 숙명여자대학교 식품영양학과

A Study on the Protein Bioavailability in Rats Fed Fermented Soybeans

Kye Seung Hee* · Park Hyo Sook and Kim Sang Soon

*Korea Food Industry Ass. INC. Institute of Food & Nutrition

Department of Food & Nutrition, Sookmyung Women's University

=ABSTRACT=

Thirty male Sprague Dawley rats of 3 weeks of age were adopted to investigate changes in nutritive quality of the traditional, fermented soybean foods, Meju and Chungkugjang prepared by culturing with *Aspergillus oryzae* and the rice straw, respectively. The levels of each dietary protein were set at 10%. The effects of supplementation of fermented soybeans on the rat diets was evaluated by measuring growth rate, feed efficiency, weight of the pancreas and biological values, such as NPU, PER and NPR on day 10.

After incubation of soybean with *Aspergillus oryzae* and the rice straw, the contents of crude protein, crude fat and crude ash were increased, but the levels of crude fiber and nitrogen-free extract were reduced.

The amounts of feed intake, body weight gain and feed efficiency were greater for the rats fed diets containing heated unfermented soybeans or Meju compared to rats fed the diet containing raw soybeans. Pancreatic enlargement was observed in the rats fed diets containing raw soybeans. The values of NPR and PER in rats fed diets containing Meju and Chungkugjang were significantly higher than those of rats fed diets containing raw soybeans. The values of NPU in rats fed diets containing raw soybeans, heated unfermented soybeans, Meju and Chungkugjang were 39.40%, 40.60%, 45.00% and 46.20%, respectively, demonstrating no significant differences.

서 론

대두는 B.C. 11년 전부터 중국 만주에서 재배되기 시작하였다¹⁾. 우리나라에서는 두류가 식생활에 사용되었음이 삼국사기(683년)에 기록되어져 있는데 이 기록에 의하면 신문왕 3년에 시(敍)가 결혼의 선물용이 되었다는 것이며 이 시(敍)는 요즘 일본의 납두(natto)나 우리나라의 청국장과 비슷한 것으로 추정된다²⁾. 대두는 단백질과 지방 함량이 풍부한 식품으로서 우리나라에서는 주로 식용유, 장류, 콩나물, 두부 및 두유등의 형태로 많이 이용되고 있는데, 특히 콩을 발효시킨 메주와 청국장은 우리 식생활에서는 빼놓을 수 없는 조미료의 원료로서 일상 상용되고 있으며 주요한 단백질 급원 식품으로 손꼽을수 있다.

Chah등³⁾은 *Aspergillus oryzae* 로 발효시킨 콩을 함유한 사료로 육계를 사육한 결과 체중증가와 사료효율이 증대되었다고 하였으며, Zamora와 Veum⁴⁾은 *Asp. oryzae*와 *Rhizopus oligosporus*를 껍질벗긴 익힌콩에 접종하여 발효시킨 사료로 흰쥐를 사육한 결과 무발효시킨 익힌콩으로 사육한 흰쥐군보다 생물가와 NPU가 높았음을 보고하였다.

본 실험에서는 우리나라 전통식품으로서 대대로 이어져 내려오고 있는 *Asp. oryzae*를 이용하여 발효시킨 메주와, 볶짚을 이용하여 발효시킨 청국장의 영양학적 효과를 알아보기 위해 화학적 조성의 변화와 동시에 이를 단백질원으로 하여 실험동물에게 각각 섭취시킨후 단백질의 생체 이용율을 측정하였다. 아울러 미생물을 이용한 대두의 발효에 따른 antitrypsin activity를 확인하기 위해 체장의 무게 측정도 병행하였다.

실험재료 및 방법

1) 실험동물의 식이

본 실험에서 사용한 식이중 콩단백질의 급여형태는 생콩(Raw soybean), 익힌콩(Heated unfer-

mented soybean), 메주(Meju), 청국장(Chungkujang)으로 시중에서 구입한 대두를 원료로 이용하였다. 생콩(Raw soybean)은 대두를 분쇄하여 가루형태로 준비하였고, 대두를 실온에서 6시간 침수시킨후 15psi에서 15분간 autoclaving하고 풍건시킨후 분쇄하여 익힌콩(Heated unfermented soybean)으로 사용하였다. 메주제조에 사용한 군주는 숙명여자대학교 생활과학연구소에서 보관하고 있는 *Asp. oryzae*이었으며 메주 제조는 autoclaving한 콩을 30℃정도로 식힌후 익힌콩 1kg당 *Asp. oryzae*종국 2g을 첨가하여 약 30℃로 조절된 incubator에서 48시간 배양 발효시켰다. 청국장 제조는 지방에서 구입한 볶짚을 정선하여 익힌콩을 발효시켰는데 제조방법은 김등⁵⁾의 방법을 따랐다. 이렇게 만든 메주와 청국장을 풍건하여 마쇄한후 냉장보관하였다가 식이제조에 이용하였다. 그리고 생콩, 익힌콩, 메주, 청국장의 일반성분은 A.O. A.C.법⁶⁾에 준하여 정량하였다.

2) 식이의 구성성분

식이의 구성성분은 Table 1과 같다. 이 식이들은 전체가 탄수화물 79%, 단백질 10%, 지방 5%의 성분을 함유하였으며 무단백식이군(Nitrogen free diet)을 두어 체단백질의 유지에 필요한 손실량을 보정할수 있도록 하였다. Vitamin mixture와 salt mixture는 각각 1%와 4%로 첨가하였으며 corn starch로 충당하여 전체가 100%가 되도록 하였다. 섬유소는 alpha cellulose로써 Casein군과 무단백식이군에 1%씩 첨가하여 다른 식이군과 그 비율을 같게 하였다.

3) 실험동물의 사육

실험동물은 생후 3주된 Sprague-Dawley종 male rat 35마리인데 3일간 casein 9% - corn starch 80%를 함유한 식이를 주어 환경에 적응시킨후 체중에 따라 한군에 5마리씩 6개의 군으로 나누었다. 사육하는 10일간에는 식이와 물은 마음대로 섭취하도록 하였고 매일 오물처리를 하였으며 사

Table 1. Formulation of experimental diets

Ingredients	Casein	Raw soybean	Heated unfermented soybean	Fermented soybeans		N-free diet
				Meju	Chungkugjang	
Casein	11.2	-	-	-	-	-
Soybean product	-	25.9	25.0	22	22.6	-
Corn starch	77.8	69.1	70.0	73	72.4	89.0
Corn oil	5.0	-	-	-	-	5.0
Alpha-Cellulose ^b	1.0	-	-	-	-	1.0
Salt mixture ²⁾	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture ³⁻⁶⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

1) Sigma chemical Co., St. Louis.

2) Salt mixture(g/kg mixture): calcium carbonate 300, dipotassium phosphate 322.5, magnesium sulfate · 7H₂O 102, monocalcium phosphate · 2H₂O 75.0, sodium chloride 167.5, ferric citrate · 6H₂O 27.5, potassium iodide 0.8, zinc chloride 0.25, copper sulfate · 5H₂O 0.3, manganous sulfate · H₂O 5.0

3) Vitamin A.D. mixture(mg/cc corn oil): vitamin A 0.1(850 IU), vitamin D 0.01(85 IU).

4) Fat soluble vitamin mixture: α-tocopherol acetate(vit. E) 5g & menadione(vit. k) 200mg mixed with 200ml corn oil.

5) Water soluble vitamin mixture(mg/kg diet): choline chloride 2,000, thiamine hydrochloride 10, riboflavin 20, nicotinic acid 120, pyridoxin 10, calcium pantothenate 100, biotin 0.05, folic acid 4, inositol 500, PABA 100.

6) Vitamin B₁₂ solution: vitamin B₁₂ 5mg mixed with 500ml distilled water

육실 온도는 24±1°C 습도는 55±2%로 유지하였다. 각 실험동물은 식이급여 전 16시간 정도 절식시켜서 실험개시 체중을 구하였고 나머지 5마리는 희생시켜 실험개시의 체단백을 조사하였다. 실험기간동안 식이섭취량은 개체별로 매일 일정한 시간에 측정하여 열흘동안의 섭취량으로 계산하였고, 체중은 3일에 한번씩 일정한 시간에 측정하여 열흘동안의 체중증가량으로 계산하였는데 이 때 식이섭취로 인한 갑작스런 체중증가를 막기 위하여 체중측정 2시간 전에 식이통을 꺼내주었으며 가능한 한 시간적인 격차를 줄이기 위해서 각 실험군에서 한마리씩 순서대로 측정하였다.

실험기간동안 식이효율(feed/gain)은 열흘간 섭취한 식이량을 그 동안의 체중증가량으로 나누어 산출하였고 단백질급원간에 단백질의 생체이용율을 비교하기 위해 PER(protein efficiency ratio)⁷⁾ NPR(Net protein ratio)⁸⁾ 및 NPU(Net protein

utilization)⁹⁾¹⁰⁾을 구하였다.

개체별 체질소 함량을 구하기 위하여 실험이 끝난 쥐들을 Ethyl-Ether로 마취시켜 사망케 한 후 계통¹¹⁾의 방법대로 소화기관의 잔류식을 철저히 제거하였다. 공복시 체중을 측정하였고 체장은 떼어내어 무게를 측정하여 기록한 후 다시 사체와 합하여 냉동저장하였다. 냉동저장한 사체는 각 개체별 체중의 두배량에 해당하는 증류수에 담근 상태로 15psi의 압력에서 1시간동안 autoclaving 하였고 waring blender로 2분동안 균질화한후 이액상의 검체를 1~1.5g 정도 채취하여 Kjeldahl⁶⁾ 방법에 의해 질소함량을 정량하였다.

4) 통계 처리

모든 data는 One way analysis에 의해 분산분석을 실시하였고 각 평균간의 유의성은 Duncan's new multiple-range test¹²⁾로 α=0.05수준에서 검정

하였다.

결과 및 고찰

1) 대두의 발효에 따른 일반성분의 변화

생콩(Raw soybean), 익힌콩(Heated unfermented soybean), 메주(Meju) 및 청국장(Chungkugjang)의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

익힌콩은 생콩에 비해 거의 변화된 것이 없으며 발효시킨 콩이 생콩과 익힌콩에 비해 일반성분중 조회분, 조지방, 조단백이 증가하였고 조섬유와 가용성무질소물은 감소하였다. 조회분, 조지방이 증가한것은 쪄를 발효시키는동안 수분감소에 따른 발효콩의 절대량감소로 인해 상대적으로 증가한것으로 사료되며 조단백의 증가는 발효콩의 절대량감소와 미생물이 콩의 단백질을 동화하여 균체단백질로 합성한것에 기인한것으로 생각된다. 발효콩에서 조섬유가 감소한것은 미생물이 cellulase를 분비하여 섬유소를 다소나마 분해시킨것으로 생각된다. 또한 가용성무질소물이 발효콩에서 생콩과 익힌콩보다 감소하였는데 이것은 미생물이 발육하는데 필요한 에너지원으로 이용되어 CO₂, H₂O 및 다른 물질로 휘산되거나 다른 물질의 합성에 이용된것으로 사료된다.

2) 동물사육실험

(1) 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 웨장

무게

실험기간동안 각 식이를 섭취시킨후 측정된 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율 및 웨장무게를 비교한 결과는 Table 3과 같다.

식이섭취량은 익힌콩군이 98.15±6.65g 으로 가장 높았고 청국장군의 식이섭취량은 69.77±6.66g 으로 익힌콩군과 메주군의 식이섭취량에 비해 유의적으로 낮았는데 이는 청국장 특유의냄새로 인해 실험동물의 기호성이 저하된것으로 사료되며 무단백식이군은 실험기간동안 식이섭취량이 매우 저조하여 Casein군 식이섭취량의 45%에 불과하였다.

체중증가량은 생콩군과 청국장군에서 가장 낮았으며 무단백식이군에서는 4.06±2.48g의 체중감소가 있었다.

식이효율(feed/gain)은 익힌콩군과 메주군 및 청국장군 모두에서 생콩군의 식이효율보다 좋은것으로 나타나(p<0.05) 콩을 발효시킴에 따라 식이효율(feed/gain)의 증진효과가 있음을 알수 있다.

웨장무게에 미치는 체중의 영향을 배제하기 위하여 웨장의 무게를 체중으로 나누어 준 결과(Table 3)를 살펴보면 생콩군(0.64±0.11%)을 제외한 나머지 군간에는 그 수치가 거의 0.5%정도로 일정하였다. 이와같이 생두류에서의 웨장의 비대현상은 Lyman과 Lepkovsky³⁾이 보고한 바와 같이 생콩중의 trypsin inhibitor등의 인자를 섭취했을때 이를 보상하기 위해 웨장이 과도로 활성화되어 웨장효

Table 2. Chemical composition of the raw, heated unfermented and fermented soybean products (%)

Item	Raw soybean	Heated unfermented soybean	Fermented soybeans	
			Meju	Chungkugjang
Moisture	5.84	5.11	4.70	5.13
Crude protein	38.58	39.96	45.28	44.12
Crude fat	18.53	18.11	21.47	22.82
Crude ash	4.79	4.23	5.09	5.07
Crude fiber	5.77	5.28	3.42	4.95
N-free extract	26.49	27.31	20.04	17.91

Table 3. Feed intake, body weight gain and pancreas weight of rats¹⁾

Dietary groups	Feed intake (g)	Body weight gain (g)	Feed/gain	Weight of pancreas	
				wet wt (g)	wet wt/body wt (%)
Casein	91.91±14.08 ^a	35.23±7.77 ^a	2.66±0.26 ^a	0.33±0.04 ^a	0.05±0.06 ^b
Raw soybean	73.26± 6.62 ^b	14.62±3.64 ^c	5.26±1.09 ^c	0.31±0.05 ^a	0.64±0.11 ^a
Heated unfermented soybean	98.15± 6.65 ^a	31.92±3.73 ^{ab}	3.10±0.25 ^a	0.32±0.04 ^a	0.50±0.05 ^b
Meju	86.84± 7.18 ^a	26.85±3.95 ^b	3.27±0.26 ^a	0.30±0.04 ^{ab}	0.51±0.04 ^b
Chungkugjang	69.77± 6.66 ^b	17.05±3.83 ^c	4.29±0.88 ^b	0.25±0.05 ^b	0.50±0.08 ^b
N - Free	41.40± 4.09 ^c	-4.06±2.48 ^d	-	0.10±0.03 ^c	0.04±0.09 ^c

1) Initial body weight per rat was 32.08±2.12(S.D.) Mean value±standard deviation of rats fed diets for 10 days. Means with a common superscript are not significantly different.

Table 4. Carcass nitrogen, nitrogen intake and value of NPU, PER and NPR of diets containing of casein, raw soybean, heated unfermented soybean, meju, chungkugjang in rats¹⁾

Dietary groups	Total nitrogen per carcass (g)	Nitrogen intake per rat (g)	NPU (%)	PER	NPR
Initial	2.49±0.02 ^c	-	-	-	-
N - Free	2.21±0.03 ^d	0.13 ^d	-	-	-
Casein	2.74±0.05 ^a	1.56±0.24 ^a	43.20±8.42 ^{NS, 2)}	3.58±0.33 ^a	4.01±0.29 ^a
Raw soybean	2.55±0.08 ^c	1.20±0.11 ^{bc}	39.40±5.99	1.92±0.34 ^d	2.47±0.31 ^d
Heated unfermented soybean	2.68±0.10 ^{ab}	1.51±0.10 ^a	40.60±9.11	3.38±0.27 ^{ab}	3.81±0.26 ^{ab}
Meju	2.72±0.07 ^a	1.42±0.18 ^{ab}	45.00±6.60	3.00±0.23 ^b	3.46±0.20 ^{bc}
Chungkugjang	2.58±0.09 ^{bc}	1.12±0.10 ^c	46.20±3.66	2.41±0.43 ^c	2.99±0.40 ^c

1) Mean value±standard deviation of rats fed diets for 10 days. Means with a common superscript are not significantly different.

2) Not significant among 5 groups at $\alpha=0.05$ level by duncan's new multiple range test.

소의 합성이 증가하기 때문에 일어난것으로 생각 된다. 또한 익힌콩군과 발효콩군의 쥐들의 췌장무게를 체중으로 나누어준 결과가 생콩군보다 유의적으로 낮았던것은 생콩군에서 췌장비대 현상을 일으켰던 trypsin inhibitor 등의 인자가 autoclaving 처리로 인해 불활성화된 것으로 추측된다. Wang 등¹⁴⁾은 익힌콩을 *R. oligosporus*를 이용해서 발효시켰을때 곰팡이 lipase에 의해 oil로부터 분해되어 나온 유리지방산으로 인해 antitrypsin activity가

증가한다고 보고하였고, Zamora와 Veum⁴⁾은 *Asp. oryzae*와 *R. oligosporus*로 발효시킨 콩에서 anti-trypsin activity가 약간 증대되었지만 췌장무게에는 별다른 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 본 실험에서도 *Asp. oryzae*를 이용하여 발효시킨 메주와, 볏짚을 이용하여 발효시킨 청국장의 발효콩군의 실험동물 췌장을 체중으로 나누어 준 결과가 발효시키지 않은 익힌콩군과 비교했을때 거의 비슷하였으므로 미생물 발효에 따른 antitry-

psin activity 의 증가는 무시해도 좋을 것으로 생각 된다.

(2) PER, NPR 및 NPU

각 식이균의 PER, NPR 및 NPU는 Table 4와 같다.

단백질의 질을 평가하는 방법으로서 가장 잘 알려진 것으로 PER을 들수 있는데 이 방법은 체중증가가 섭취단백질의 축적에 의한다는 이론에 바탕을 둔 것으로 오랫동안 널리 이용되어져 왔었던 간편한 방법이지만 지방이나 에너지 축적으로 인한 체중증가도 있을 수 있으므로 부정확하다고 볼 수 있다.

NPR 역시 PER과 마찬가지로 체중증가를 단백질의 축적에 의한 것으로 보는 문제점과 질이 좋지 않은 단백질을 과대평가하는 단점이 있으나 NPU와 함께 무단백식이균을 두어 체중감소량을 측정하여 동물체의 유지에 필요한 질소량을 고려하였다는 점에서 PER보다 더 정확한 방법으로 받아 들여지고 있다.

NUP는 실험동물의 체단백을 분석하는 것인데 섭취질소에 대한 보유된 질소를 측정하여 직접 단백질을 평가하는 방법으로 체단백 유지를 위해 필요한 단백질량 외에 실제로 동물에서의 단백질 소화율과 이용정도를 알수 있어 단백질 평가방법중 가장 정확하며 PER과 NPR보다 더 예민한 방법이라 할 수 있다.

본 실험결과 메주균과 청국장균의 NPR과 PER은 생콩균보다 유의적으로 높았고 익힌콩균보다는 다소 낮은 수치를 보였다. 이는 실험동물이 발효시킨 대두를 섭취했을 때 발효시키지 않은 익힌 대두식의 섭취시보다 통계적인 유의성은 없었지만 C-PER이 다소 증가하였다고 보고한 배와 원¹⁵⁾의 보고와는 일치하지 않았다.

Casein균, 생콩균, 익힌콩균, 메주균 및 청국장균의 NPU는 각각 43.20%, 39.40%, 40.60%, 45.00%, 46.20%로 발효콩균들의 NPU가 생콩균과 익힌콩균보다는 약간 높은 편이었으나 통계적으로 유의성은 없었다. 이 결과는 Casein균, ISP균, 삶

은 콩균, 메주균 및 Tempeh균의 단백질 보유율이 각 군간에 유의적 차이가 없었다고 보고한 배 등¹⁵⁾의 결과와는 일치하였으며, *Asp. oryzae*와 *R. oligosporus*로 발효시킨 대두를 함유한 식이균에서 발효시키지 않은 대두균보다 apparent biological value와 apparent net protein utilization이 유의적으로 높았다는 Zamora와 Veum⁴⁾의 보고와는 일치하지 않았다.

요 약

우리나라 전통식품으로서 대두발효식품인 메주와 청국장의 영양학적 효과를 알아보고자 *Aspergillus oryzae*와 벵짚을 이용하여 각각 발효대두를 제조하여 그 일반성분과 동시에 쥐 식이에 단백질 급원으로 첨가한후 사육하여 성장률과 식이효율 및 웨장의 무게를 측정하였으며 NPU, PER 및 NPR과 같은 단백질의 생체이용율을 조사한 결과는 다음과 같다.

1) 메주와 청국장의 일반성분은 원료인 생콩에 비해 각각 조단백질이 38.58%에서 45.28%와 44.12%로, 조지방은 18.53%에서 21.47%와 22.82%로, 조회분은 4.79%에서 5.09%와 5.07%로 증가하였고, 조섬유는 5.77%에서 3.42%와 4.95%로, 가용성무질소물은 26.49%에서 20.04%와 17.91%로 감소하였다.

2) 쥐의 식이섭취량과 체중증가량은 익힌콩균과 메주균에서 생콩균과 청국장균보다 유의적으로 높았다.

3) 식이효율 또한 익힌콩균과 메주균에서 생콩균과 청국장균보다 훨씬 좋아 통계적유의성을 나타내었다.

4) 쥐의 웨장무게를 체중으로 나누어 준 결과를 보면 생콩균에서는 웨장의 비대여부를 확인할 수 있었으며 익힌콩균과 메주균 및 청국장균에서는 거의 변화가 없었다.

5) 메주균과 청국장균의 NPR과 PER은 생콩균보다 유의적으로 높았고 익힌콩균보다는 다소 낮

은 수치를 보였다.

6) Casein균, 생콩균, 익힌콩균, 메주균 및 청국장균의 NPU는 각각 43.20%, 39.40%, 40.60%, 45.00%, 46.20%로 발효콩균들의 NPU가 생콩균과 익힌콩균의 NPU보다는 약간 높은 편이었으나 통계적으로 유의성은 없었다.

REFERENCES

- 1) Ensminger AH, Ensminger ME, Konlande JE, Robinson JRK. *Food & Nutrition Encyclopedia Vol 2, pp1-8, U.S.A. 1983*
- 2) 이성우. 한국식품문화사 pp16 교문사, 서울, 1984
- 3) Chah CC, Carlson CW, Semeniuk G, Palmer IS, Hesseltine CW. *Growth-promoting effects of fermented soybeans for broilers. Poultry Sci 54:600-609, 1975*
- 4) Zamora RG, Veum TL. *The nutritive value of dehulled soybeans fermented with Aspergillus oryzae or Rhizopus oligosporus as evaluated by rats. J Nutr 109:1333-1339, 1979*
- 5) 김경자, 유명기, 김상순. 벧짚을 이용한 청국장 제조에 관한 연구. 한국식품과학회지 14(4):109-116, 1982
- 6) AOAC. *Official method of analysis of the association of official analytical chemists 13th ed Washington DC, 1980*
- 7) Mitchell HH. *Determination of the nutritive value of the proteins of food products. Ind Eng Chem(analytical edition) 16:696-700, 1944*
- 8) Bender AE, Doell BH. *Biological evaluation of protein; a new aspect. Br J Nutr 140-148, 1957*
- 9) Bender AE, Miller DS. *New brief method of estimating net protein value. Biochem J 53: VII - VIII, 1953*
- 10) Miller DS, Bender AE. *The determination of protein by a shortened method. Br J Nutr 9: 382-385, 1955*
- 11) 계승희, 김상순, 지규만. *Aspergillus oryzae*를 이용한 밀기울 단백질의 질적 향상에 관한 연구. 한국영양학회지 18(3):234-241, 1985
- 12) Steel RG, Torrie JH. *Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Book Co, New York, 1960*
- 13) Lyman RL, Lepkovsky S. *The effect of raw soybean meal and trypsin inhibitor diets on pancreatic enzyme secretion in the rat. J Nutr 62:269-283, 1957*
- 14) Wang HL, Swain EW, Wallen LL, Hesseltine CW. *Free Fatty acids identified as antitryptic factor in soybeans fermented by Rhizopus oligosporus. J Nutr 105:1351-1355, 1975*
- 15) 배영희, 윤 선. 대두의 발효가 흰쥐의 단백질 및 무기질의 생체 이용율에 미치는 영향. 한국영양학회지 18(2):139-146, 1985