

재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구

1. 메주 발효 및 된장숙성중의 지질산화와 갈변

이종호[†] · 김미혜 · 임상선

경상대학교 식품영양학과

Antioxidative Materials in Domestic Meju and Doenjang

1. Lipid Oxidation and Browning during Fermentation of Meju and Doenjang

Jong-Ho Lee[†], Mi-Hye Kim and Sang-Sun Im

Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

Lipid oxidation and browning during fermentation of domestic Meju and Doenjang were examined in order to elucidate the antioxidative effects of browning products and phenol compounds from Meju and Doenjang. Peroxide values of lipids from Meju were detectable and slightly increased until 3 weeks of fermentation, but started to be decreased after 3 weeks of fermentation and not detectable after 6 weeks. Peroxides were not detected in Doenjang during the whole fermentation, but started to be decreased after 3 weeks of period of 22 weeks fermentation. Carbonyl values were increased during the whole period of Meju fermentation, but started to be decreased at the early stage of Doenjang fermentation. Hydrophilic fraction of browning products from Meju was much higher than lipophilic fraction and the former fraction was dramatically increased at the early stage of the fermentation. But the both fractions maintained high values during Doenjang fermentation. Hydrophilic browning products and phenol compounds in Meju showed strong antioxidative activity against linoleic acid.

Key words : meju, doenjang, lipid oxidation, antioxidant

서 론

된장은 우리나라 고유의 발효식품으로 조미료의 구실뿐만 아니라 영양원으로서도 우리 식생활에 큰 비중을 차지하고 있는데, 장기간의 발효과정을 거쳐 만 들어지기 때문에 여러가지 생물학적, 화학적 요인에

의하여 원료인 대두의 성분이 크게 변화되는 것으로 밝혀져 있다. 메주 및 된장의 성분변화에 대하여 이 등¹⁾²⁾과 배등³⁾은 단백질 및 아미노산의 변화를 조사한 바 있고, 지질성분에 관하여는 손등⁴⁾과 이등⁵⁾을 비롯한 많은 연구보고가 있다^{5~7)}.

특히 된장은 발효 및 숙성중에 원료에 함유된 아미

[†]To whom all correspondence should be addressed

¹⁾본 연구는 1990년도 한국과학재단 기초연구비에 의하여 이루어진 연구의 일부임.

노화합물과 당의 작용에 의하여 쉽게 갈변을 일으키게 되는데⁸ 山口 등⁹과 최등¹⁰은 된장과 간장의 발효숙성중 생성된 갈변물질의 지질산화에 대한 항산화효력을 보고한 바 있다.

대두중에는 갈변물질 이외에도 토코페롤, isoflavones 및 phenolic acids 등의 항산화성물질이 함유되어 있는것으로 알려지고 있는데 이를 화합물들이 메주나 된장의 발효 및 숙성중에 일어날 것으로 예상되는 함유지질의 산화에 어떠한 양상으로 영향을 미치는가에 대하여는 명확히 밝혀지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 서부 경남지역의 전통적 방식에 의하여 메주 및 된장을 제조하여 발효 및 숙성 중의 갈변물질과 폐놀화합물의 함량변화를 측정하고 이를 화합물이 함유지질의 산화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시료

원료로 사용한 대두는 1989년도 산청지방에서 생산된 광교(廣喬) 품종으로 수분 9.2%, 조단백질 41.3%, 조지방 17.6%를 함유하고 있었다.

메주의 제조는 대두 12kg을 수도물중에 담구어 실온에서 18시간 불리고 5시간 동안 증자한 것을 $20 \times 12 \times 8\text{cm}$ 의 크기로 만들고 짚으로 엮어서 처마에 매단채로 80일간 발효시켰다. 발효기간중의 기온분포는 12월중에 최고기온 10.4°C, 최저기온 -3°C, 평균기온 2.7°C였고, 1월중에 최고기온 5.8°C, 최저기온 -5.5°C, 평균기온 0.4°C였다. 된장은 발효된 메주를 3배량의 18% 소금물에 60일간 침장한 후 전져내어 간장을 걸러내고 옹기에 넣어 상온에서 보존하면서 된장시료로 하였다.

지질의 추출 및 분리

시료의 지질은 Folch 등¹¹의 방법에 준하여 추출하였으며 추출한 총지질은 Rouser¹²의 방법에 따라 silicic acid column chromatography에 의하여 중성지질, 당지질 및 인지질로 분리하였다.

지방산조성의 분석

추출 분리한 각 지질을 메타놀성 5%염산으로 methanolysis하여 얻은 지방산 methyl ester를 GLC

(Shimadzu GC-6AM)로 분석하였다.

과산화물가의 측정

AOAC공정법¹³에 준하여 측정하였다.

카아보닐가의 측정

2, 4-Dinitrophenyl hydrazine법¹⁴에 준하여 측정하였다.

산가의 측정

시료 1g을 취하여 benzene/ethanol(1 : 1, v/v) 용액 100ml를 가하여 용해시킨 후 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여 에타놀성 0.1N-KOH용액으로 적정하였다.

아미노태 질소의 정량

Spies와 Chamber의 동엽법¹⁵으로 정량하였다.

환원당의 정량

Somogyi법¹⁶에 준하여 정량하였다.

갈변도의 측정

갈변도는 Chung과 Toyomizu¹⁶의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 5g에 n-hexane 50ml씩을 가하여 3회 탈지시킨 후 여과하고 잔사를 chloroform methanol(2 : 1, v/v) 혼액 50ml로써 3회 추출한 것을 지용성 갈변물질로 하였고, 추출 잔사에 메타놀-증류수(1 : 1, v/v) 50ml를 가하여 5°C에서 48시간동안 추출한 것을 수용성 갈변물질로 하여 420nm에서의 흡광도를 측정하였다.

폐놀화합물의 추출 및 정량

폐놀화합물의 추출은 Pratt 등¹⁷의 방법에 따라 시료를 n-hexane으로 탈지시키고, 그 잔사를 메타놀에서 16시간동안 침지시킨 후 80°C에서 90분간 환류가열하여 여과하고 40°C에서 감압농축한 것을 메타놀성 추출분(methanolic extracts)으로 하였다.

폐놀화합물의 함량은 Hammerschmidt¹⁸의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 메타놀성 추출분 0.1mg을 2% Na₂CO₃ 용액 2.0ml에 녹이고 2분 후 50% Folin-Ciocalteau reagent 0.1ml를 가하여 실온에서 30분간

Table 1. Composition of neutral lipid, glycolipid and phospholipid in total lipids of Meju and Doenjang during fermentation (%)

	Meju			Doenjang		
	1	6	11 weeks	2	4	6 weeks
Neutral lipid	90.4	89.6	84.8	86.2	83.3	81.4
Glycolipid	1.6	2.3	3.1	3.2	5.0	5.0
Phospholipid	8.0	8.1	12.1	12.6	12.0	13.6
Recovery*	94.2	96.2	95.2	98.7	97.3	96.1

*Recovery indicated as weight percent of recovered lipids to total lipids during column chromatography procedure.

incubation시킨 다음 750nm의 흡광도를 측정하고 chlorogenic acid를 표준으로 하여 폐놀함량을 산출하였다.

항산화력의 측정

시료로부터 추출한 수용성 갈변물질과 폐놀화합물은 메타놀, 자용성 갈변물질은 에테르에 용해시킨 후 각각 linoleic acid에 2%가 되도록 첨가한 후 9배량의 Avicel에 균일하게 혼합, 흡착시켜서 페트리 접시에 0.5cm정도의 두께로 깔아 40°C 보존중의 과산화물가와 카아보닐가의 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

지질 및 지방산조성의 변화

Table 1은 매주발효 및 된장숙성중의 지질조성의 변화를 조사한 결과인데 매주발효 1주째의 중성지질,

당지질 및 인지질의 함량비는 90.4 : 1.6 : 8.0이었는데 11주째는 84.8 : 3.1 : 12.1로 중성지질구분의 함량이 감소한 반면, 당지질과 인지질구분의 함량비가 상대적으로 증가하였는데 된장숙성중에도 이와 비슷한 경향을 나타내었다.

각 지질구분의 지방산조성의 변화를 Table 2에서 보면 중성지질과 당지질구분에서는 가장 함량이 많은 linolic acid의 함량이 5~6%정도 감소하였으나 인지질구분에서는 linolenic acid의 함량이 크게 감소하였으며 palmitic과 stearic acid는 상대적으로 약간의 증가를 보였다.

과산화물가, 카아보닐가 및 산가의 변화

매주발효 및 된장숙성중의 함유지질의 산폐정도를 검토하기 위하여 과산화물가, 카아보닐가 및 산가의 변화를 측정하였다. Fig. 1에 나타난 결과에서 보면 과산화물가는 매주발효초기에 약간의 증가를 보여 3주째에 7.2meq/kg으로 측정된 후 급속히 감소하여 6

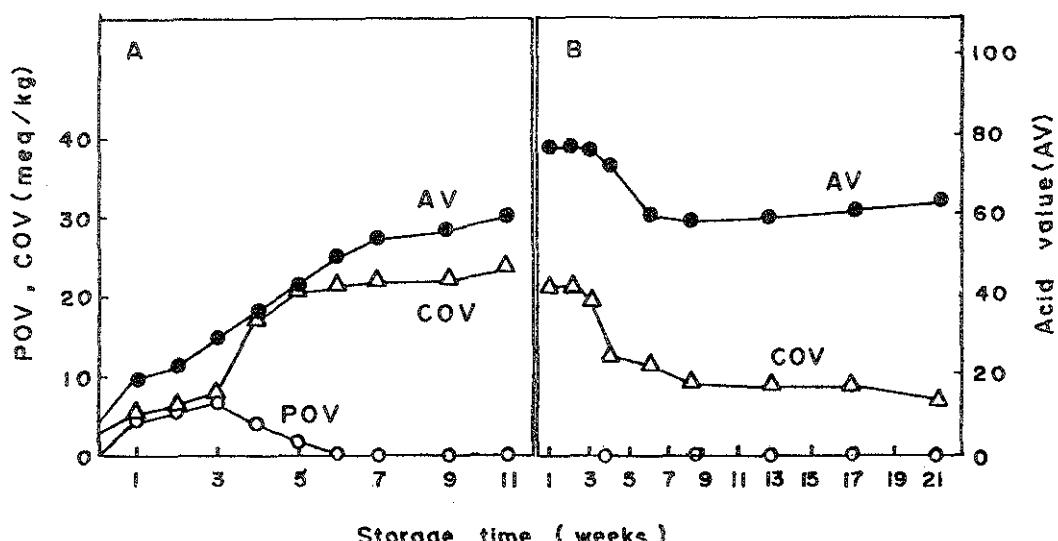


Fig. 1. Changes of peroxide value (POV), carbonyl value (COV) and acid value (AV) in Meju (A) and Doenjang (B) during fermentation.

Table 2. Fatty acid composition of the lipids from Meju and Doenjang during fermentation

(%)

Fatty acid	Meju			Doenjang		
	3	6	11 weeks	2	4	6 weeks
Total lipids						
16:0	11.79	12.10	12.15	12.79	13.44	13.66
18:0	2.59	2.45	2.98	2.84	3.03	3.63
18:1	20.62	22.78	24.95	23.48	23.69	24.04
18:2	57.85	56.05	53.39	53.40	51.20	50.27
Neutral lipids						
16:0	8.93	9.29	10.02	10.24	11.06	11.62
18:0	3.08	3.19	3.21	3.29	3.34	3.61
18:1	22.60	23.36	22.28	22.69	23.32	22.97
18:2	59.43	58.09	57.97	56.60	54.91	53.88
18:3	5.96	6.09	6.52	7.09	7.37	7.98
Glycolipids						
16:0	10.16	11.54	12.05	13.31	13.54	14.00
18:0	2.29	2.23	2.29	3.99	4.22	4.20
18:1	24.19	24.03	23.52	22.65	22.49	22.37
18:2	58.07	56.16	56.00	54.33	54.05	53.83
18:3	6.29	5.94	5.84	5.72	5.70	5.60
Phospholipids						
16:0	12.89	13.09	14.08	13.69	14.54	15.65
18:0	4.57	5.94	6.51	6.81	6.59	7.34
18:1	20.44	18.46	22.23	21.22	23.06	23.66
18:2	53.80	54.95	54.09	53.67	52.30	52.83
18:3	8.30	7.56	8.08	3.61	2.85	2.52

주 이후부터는 측정되지 않았으며 된장시료중에서도
파산화물은 측정되지 않았다. 이것은 발효가 진행되면서
항산화성물질의 작용으로 지질 파산화물의 생
성이 억제되었거나 생성된 파산화물이 2차생물인
카아보닐화합물로 분해되었다기 때문으로 생각된다.

카아보닐화합물의 변화를 보면 발효 5주째에 20.9
meq/kg으로 급격한 증가를 보이고 있으므로 메주의
발효후기에 파산화물가가 측정되지 않은 것은 파산
화물의 분해에 기인된 것으로 추정된다. 한편, 된장
의 숙성중에는 카아보닐화합물이 초기부터 크게 감소되
었는데, 이는 생성된 카아보닐화합물이 아미노산이나
단백질등의 질소화합물과 반응하여 갈변물질등의
중합물을 형성하였기 때문으로 생각된다.

산가는 메주의 발효기간중 지속적으로 증가하여
미생물이 생산한 lipase의 작용으로 유리지방산이 축
적됨을 알 수 있었고 된장의 숙성중에는 초기에 약
간의 증가를 보였으나 6주째에는 크게 감소하였으며
그 이후는 큰 변화를 나타내지 않았다.

아미노태 질소 및 환원당함량의 변화

메주발효 및 된장숙성중의 당과 아미노화합물에
의한 갈변반응의 정도를 조사하기 위하여 아미노태
질소 및 환원당의 함량변화를 측정한 결과는 Table 3
과 같다.

아미노태 질소의 함량은 메주의 발효가 진행되는
동안 단백질의 분해등에 의하여 지속적인 증가를 보
여 11주째에는 4908mg%의 함량을 나타내었고 된장
의 경우는 숙성 3주째까지는 증가를 보이다가 4주부
터는 감소하기 시작하여 숙성 11주째에는 1013mg%
의 낮은 값을 보여 숙성후기에 갈변반응등으로 인하
여 아미노태 질소의 손실이 크게 나타났다.

환원당 함량은 메주의 발효 4주째까지는 감소하였
으나 그 이후부터는 오히려 증가를 보였는데 초기의
감소는 아미노화합물과의 반응에 의한 것으로 볼수
있고 후기의 증가는 증식된 미생물의 작용으로 전분
이 가수분해되기 때문인 것으로 생각된다.

Table 3. Changes of moisture, amino nitrogen and reducing sugar contents of Meju and Doenjang during fermentation

	Fermentation time							
	0	1	2	3	4	6	8	12 weeks
Meju								
Moisture(%)	63.0	48.3	43.3	38.3	35.0	28.3	16.6	11.7
NH ₂ -N(mg%)	2885	3306	3493	3520	3640	3820	4602	4908
Reducing sugar(mg%)	311	223	175	163	155	191	199	222
Doenjang								
Moisture(%)	63.3	56.6	58.3	56.6	58.3	56.6	56.6	56.6
NH ₂ -N(mg%)	1400	1509	1821	2035	1632	1502	1252	1013
Reducing sugar(mg%)	274	328	390	209	289	331	265	226

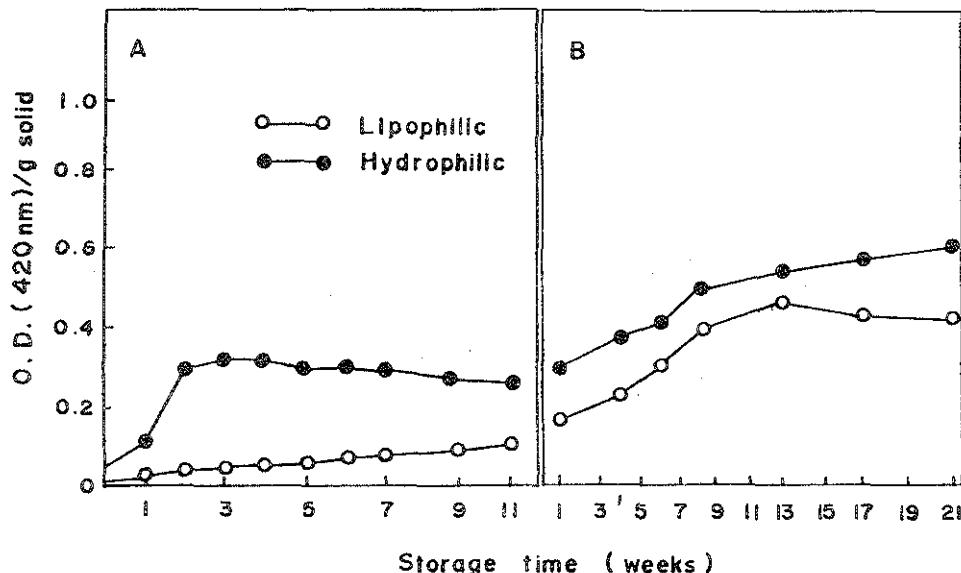


Fig. 2. Changes of hydrophilic and lipophilic brown pigments in Meju(A) and Doenjang(B) during fermentation.

갈변물질의 생성

매주 및 된장중의 갈변물질의 생성은 합유지질의 분해 및 중합반응에 의한것과 환원당과 아미노화합물과의 반응 및 카아보닐화합물과 아미노화합물과의 반응등에 의한 것으로 예상된다.

Fig. 2는 매주발효 및 된장숙성중의 갈변물질의 생성정도를 알아보기 위하여 수용성 및 지용성 갈변물질구분의 갈변도를 측정한 결과를 나타낸 것이다. 매주발효시 수용성 갈변물질구분에서는 초기부터 갈변도가 급격히 증가하여 발효 2주째에 최고치 0.396 (O.D./g solid)에 달한 후 3주째부터는 큰 변화를 보이지 않았으며 지용성구분에서는 낮은 값으로 완만한

증가를 보였다. 된장숙성중에는 수용성 및 지용성 갈변물질구분이 모두 초기의 급격한 증가와 더불어 높은 값을 나타내었고 매주의 경우와는 달리 지용성 갈변물질의 생성이 증가되어 지질산화 유래의 카아보닐화합물이 갈변반응에 크게 기여하고 있음을 시사하고 있다.

갈변물질의 항산화효력

매주의 발효중 생성된 갈변물질의 항산화효력을 알아보기 위하여 발효 5주째의 시료로 부터 추출한 수용성 및 지용성 갈변물질을 linoleic acid에 각각 2%농도로 첨가한 후 40°C보존중의 과산화물가와 카아

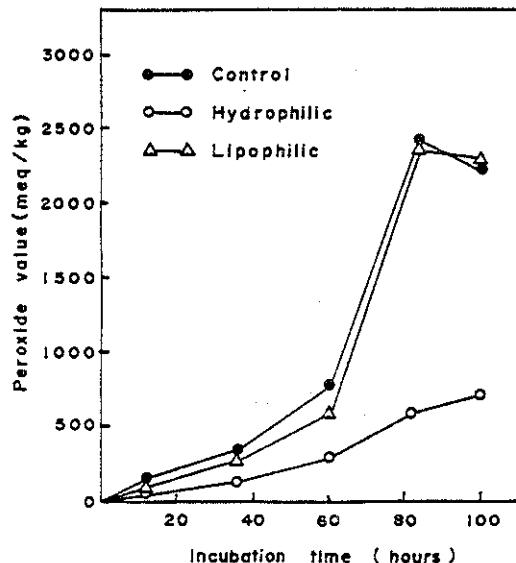


Fig. 3. Antioxidative effect of brown pigments extracted from Meju on autoxidation of linoleic acid kept at 40°C.

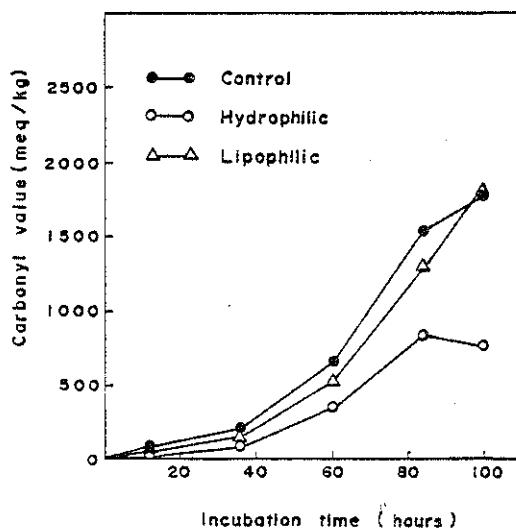


Fig. 4. Antioxidative effect of brown pigments extracted from Meju on autoxidation of linoleic acid kept at 40°C.

보닐가의 변화를 측정하였다. Fig. 3에서 과산화물가의 측정결과를 보면 지용성 구분은 대조구와 거의 같은 값을 보여 항산화효력이 없는 것으로 밝혀졌으나 수용성 구분은 보존 84시간째에 대조구 2420meq/kg에 비하여 590meq/kg으로 훨씬 낮은 값

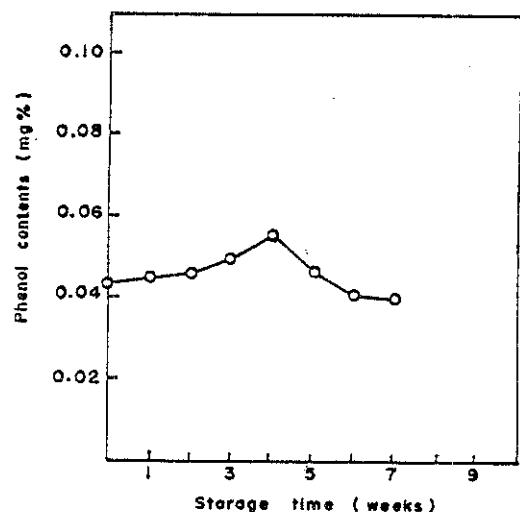


Fig. 5. Changes of total phenol contents during Meju fermentation.

을 보여 강한 항산화효력이 있는 것으로 나타났다. Fig. 4의 카아보닐가의 변화에서도 과산화물가의 경우와 마찬가지로 수용성 구분의 항산화효력이 인정되었다.

페놀화합물의 함량과 항산화효력

Naim 등^[9]에 의하면 대두종의 isoflavones의 함량은 약 0.2%이며 이 중 99%가 glycosides로서 존재한다고 하였으며, Arai 등^[20]은 대두로부터 9종의 phenolic acid를 분리하였다고 발표한 바 있다. 메주발효중의 페놀화합물의 함량변화를 측정한 결과 (Fig. 5)를 보면 원료대두에서는 0.045mg%이었으나 메주의 발효중에는 초기에는 약간 증가하여 4주째 0.055mg%로 되었으며 발효후기에는 감소하는 경향을 보였다.

메주와 된장에 함유된 페놀화합물의 항산화효력을 검토하기 위하여 발효가 끝난 메주와 60일간 숙성한 된장의 메타톨성 추출분을 linoleic acid에 2%되게 첨가하여 40°C보존중의 과산화물가와 카아보닐가의 변화를 측정하였다. Fig. 6의 과산화물가의 변화를 보면 대조구에 비하여 메주와 된장의 메타톨성 추출분을 첨가한 구분은 과산화물의 생성이 크게 억제되어 강한 항산화효력이 있는 것으로 나타났고, Fig. 7의 카아보닐가의 경우에도 과산화물가와 같은 경향으로 카아보닐가의 상승이 억제되었다. Pratt^[17]는 대두제

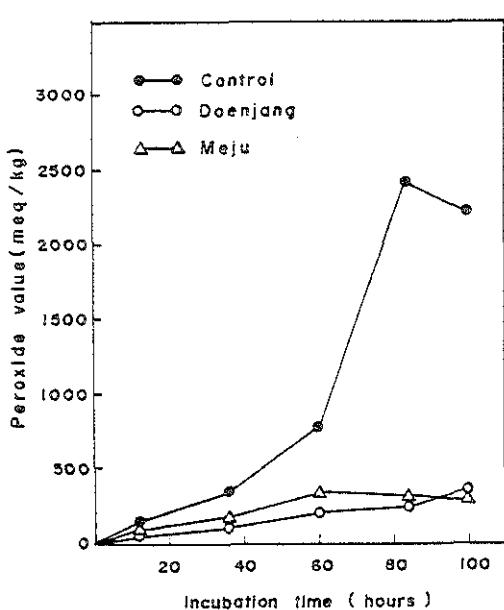


Fig. 6. Antioxidative effect of phenolic compounds of Meju and Doenjang on autoxidation of linoleic acid kept at 40°C.

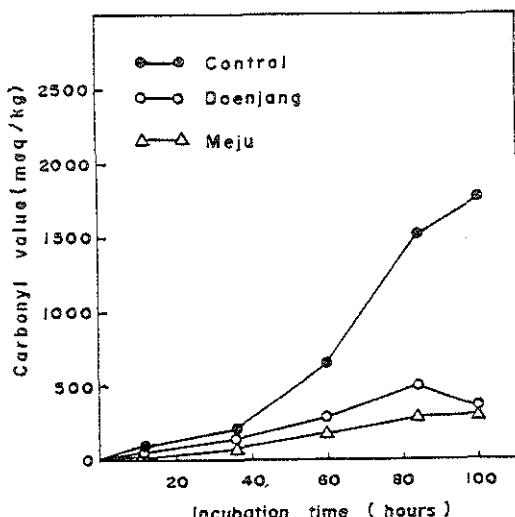


Fig. 7. Antioxidative effect of phenolic compounds of Meju and Doenjang on autoxidation of linoleic acid kept at 40°C.

품의 발효시 isoflavone glycosides가 가수분해되어 생성된 aglycones이 강한 항산화효력을 갖는다고 보고하였다. 대두종의 폐놀화합물의 항산화효력을 측정한

결과²¹를 보면 genistein, daidzein 및 glycinein은 quercetin보다는 약하나마 어느정도의 항산화효력이 있는것으로 보였으며, chlorogenic acid와 caffeic acid는 이들보다 훨씬 강한 항산화효력을 나타내었다. 그러나 장기간의 발효 및 숙성기간을 거치고 여러종류의 미생물이 관여하는 재래식 맥주 및 된장중에는 이를 폐놀화합물의 함량 및 항산화효력의 변화가 복잡할 것으로 예상되므로 면밀한 검토가 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

재래식 맥주 및 된장의 발효숙성중 함유지질의 열화와 갈변물질의 생성등을 조사하고 갈변물질과 폐놀화합물이 지질의 산화안정성에 미치는 영향을 검토하였다. 맥주의 발효기간중 함유지질의 과산화물가는 초기에 약간의 증가를 보여 3주째 7.2meq/kg을 나타낸 후 곧 감소하여 6주이후부터는 측정되지 않았고 된장의 숙성중에도 과산화물은 축적되지 않았다. 카아보닐가는 맥주의 발효중에는 지속적인 증가를 보였으나 된장숙성 중에는 초기부터 크게 감소하여 낮은 값을 유지하였다. 맥주의 발효중 수용성 갈변물질은 초기에 급격히 증가하였고, 지용성 갈변물질은 낮은 값을 완만한 증가를 보였으며, 된장숙성중에는 양 구분 모두 지속적으로 증가하여 높은 값을 나타내었다.

麦주중의 폐놀화합물 함량은 발효의 전반기에는 증가하였으나 후반기에는 감소하였으며, 수용성 갈변물질구분과 폐놀화합물구분은 linoleic acid에 대하여 강한 항산화효력을 나타내었다.

문 헌

- Lee, C. H.: The effect of Korean soybean and soypaste making on soybean protein quality. *한국식품과학회지*, 8, 12(1976)
- 배만종, 홍상홍: 개량麦주의 숙성과정 중 Protein 및 Amino acid 변화에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 15, 370(1983)
- 손양도, 최준언, 안봉전, 손규목, 최청: 한국 재래식麦주 발효과정에 있어서 지질 및 지방산조성의 변화. *한국농화학회지*, 28, 226(1985)
- 이숙희, 최홍식: 한국장류식품의 지질성분에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, 14, 67(1985)
- 本間伸夫, 石原利夫: 無菌醸造みその脂質. *醸酵工學*, 56, 768(1978)

6. 양주동, 배만종, 윤상홍, 최정 : 개량맥주의 숙성 과정 중 지질조성의 변화에 관한 연구. 한국영양 식량학회지, 12, 189(1983)
7. 大西邦男 : みそ熟成中の脂質變化に及ぼすエタール の影響. 日本食品工業學會誌, 30, 88(1983)
8. 橋場弘長 : 醬油の褐變物質について. 日本農化學會誌, 45, 29(1971)
9. 山口真彦, 横尾良夫, 臟卷正生 : 味そ及びしょう油のリノール酸に対する抗酸化力. 日本食品工業學會誌, 26, 71(1979)
10. 최홍식, 박경숙, 문갑순, 박건영 : 지방질의 산화에 대한 된장 및 그 추출물의 항산화 특성. 한국 영양식량학회지, 19, 163(1990)
11. Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497(1957)
12. Rouser, G. and kritchevsky, G. : Quantitative analysis of brain and spinach leaf lipids employing silicic acid column chromatography and acetone for elution of glycolipids. *Lipid*, 2, 37 (1967)
13. A. O. A. C. : *Official Method of Analysis*, 14th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D. C., p. 223(1980)
14. Hernick, A. S., Benca, M. F. and Mitchell, Jr. : Estimating carbonyl compounds in rancid fats and food. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 38(1954)
15. Spies, J. P. and Chamber, D. C. : Spectrometric analysis of amino acids and pept-ides with their copper salts. *J. Biol. Chem.*, 191, 78(1951)
16. Chung, C. Y. and Toyomizu, M. : Studies on discoloration of fish products. V. Mechanism of rusting in amino acid reducing sugar-lipid system. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34, 857(1968)
17. Pratt, D. E. : Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.*, 37, 322(1972)
18. Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D. : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.*, 43, 556(1978)
19. Naim, M., Gestetner, B., Zilkah, S., Birk, Y. and Bondi, A. : Soybean isoflavones. Characterization, determination and antifungal activity. *J. Agri. Food Chem.*, 22, 806(1974)
20. Arai, S., Suzuki, H., Fujimaki, M. and Sakurai, Y. : Studies on flavor components in soybeans. Part 2. Phenolic acids in defatted soybean flour. *Agri. Biol. Chem.*, 30, 364(1966)
21. Pratt, D. E. and Birac, P. M. : Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, 44, 1720(1979)

(1990년 11월 10일 접수)