

## 인삼 농축액 첨가에 따른 재래식 된장 발효 과정중의 미생물, 효소 활성 및 기능성의 변화

장상문 · 이주백 · 안홍 · 이창호\* · 박희동\*  
대구보건대학 보건식품계열, \*경북대학교 식품공학과

### Changes of Microorganisms, Enzyme Activity and Physiological Functionality in the Korean Soybean Paste with Various Concentrations of *Ginseng* Extract during Fermentation

Sang-Moon Jang, Joo-Baek Lee, Hong An, Chang-Ho Rhee\* and Heui-Dong Park\*

Department of Health Food, Taegu Health College

\*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

#### Abstract

In order to improve the functionality of Korean soybean paste the changes of microorganisms, enzyme activity and physiological functionality of five types of Korean soybean paste prepared with various concentrations of *Ginseng* extract. The pH of Korean soybean paste was decreased during fermentation but total acidity was increased. NaCl concentrations was increased up to 15.67 ~ 16.90% until 30 ~ 45days of fermentation and amino acidity was increase of the mixture ratio of *Ginseng* extract. Reducing sugar content was increased up to 45days of fermentation and total sugar content was increased up to 16.92 ~ 20.01% until 30days of fermentation, but decreased after that. The number of bacteria was highest in all sample after 45days fermentation, while that of mold was decreased during fermentation. Amylase and protease showed the highest activity at 30days of fermentation. Tyrosinase activity was increased during fermentation. Antimutagenic activities of Korean soybean paste (10% *Ginseng* extract) were 80.90%, 62.46% against MNNG, NPD on *S. typhimutium* TA100 and 51.96%, 58.88% against NQO, NPD on *S. typhimutium* TA98.

**Key words :** *ginseng* extract, Korean soybean paste, enzyme activity, physiological functionality

#### 서 론

우리 나라 고유의 전통 발효 식품인 장류는 옛부터 가공 이용되어진 대두 발효 식품으로서 조미 발효 식품인 동시에 필수 아미노산 등의 영양소를 보충해 준다는 데서 영양학적으로 매우 중요한 기능을 가지고 있다(1,2)고 할 수 있다. 그 중 된장은 전통적인 맛과 향을

지닌 대두 발효식품으로 탄수화물 원료에 *Aspergillus* sp.의 균을 이용 대두와 함께 제조하는 것으로 우리의 식생활에 단백질 공급원으로서도 중요한 식품이다(3).

재래식 된장은 최근 전통적인 맛과 향을 지닌 대두 발효식품(4)에서 탄수화물을 부원료로 첨가하여 제조되는 개량식 된장으로 바뀌어 보급되고 있으며 한국식과 일본식의 혼합형의 제조 방법 등이 연구되고 있다(5,6). 된장은 콩이나 콩 가공식품을 이용하여 제조하는 것으로 콩에 존재하는 여러 가지 건강 기능성을 나타내는 성분들이 존재하는 것으로 알려져 있다. 즉 이들 식품은 특히 암, 혈관계 질환, 골다공증, 신장 질환 등

Corresponding author : Sang-Moon Jang, Department of Health Food, Taegu Health College, San 7, Taejun-dong, Puk-gu, Taegu 702-722, Korea  
E-mail : smjang@mail.taegu-he.ac.kr

의 각종 성인병에 예방 및 치료 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(7).

된장도 콩을 이용한 발효 식품이므로 콩이 가지고 있는 생리 활성이 된장에도 존재하고 있으므로 최근 된장의 기능성에 관한 연구가 점차 증가하고 있는 추세이다. 이미 일본에서는 일본 된장(Miso) 및 간장(Shoyu)에서 항암, 항돌연변이 및 항산화 물질이 발견된다는 보고가 있으며(8-12), 한국에서도 전통 된장에서 분리한 항돌연변이 및 항암 물질이 존재한다는 사실이 여러 연구자들에 의해 밝혀지고 있다(13-17). 또한 기타 된장의 발효 숙성 과정 중에 생성되는 생리활성 물질의 기능은 고혈압 방지 효과(13,14) 등이 있다.

장류의 기능성은 아직 자세한 생성 기작과 생리적 효과가 규명되지 않았지만 주로 된장 발효에 관여하는 미생물, 원료 대두 및 발효에 관여하는 미생물이 생산하는 2차 대사산물에 의한 것으로 알려지고 있다(18). 지금까지의 된장에 관한 연구로는 각 균주를 이용한 단백질 분해력, 당화력, 향기의 생성 능력 그리고 일반적인 화학 성분의 변화에 관하여 많은 연구(3,15,16)와 제조 방법을 다르게 하여 된장을 제조한 후, 일정 기간을 숙성시키면서 각각의 품질의 변화를 측정한 연구 결과가 있다(8-12,19). 또한, 최근에는 된장의 분말화, 저염 장류의 제조와 안정성, 영양가와 기능성의 강화 등으로 연구가 활발히 진행되고 있으나(20,21), 인삼 농축액을 혼합하여 숙성중의 변화와 생리 기능성을 검토한 결과는 거의 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 새로운 기능성을 가지는 전통 발효 된장의 산업적 생산에 응용하고자 된장 제조시 인삼 농축액을 일정 비율로 첨가하여 된장 숙성 중의 미생물의 변화, 각종 효소 활성, tyrosinase 저해 활성, ACE 저해활성 및 항돌연변이 활성 등 각종 기능성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험의 재료인 재래식 메주는 성 바오로 수녀원(경북 경산, 1999년도)에서 제조한 것을 구입하여 사용하였으며, 식염은 순도 97%인 정제염을 사용하였다. 그리고 인삼 농축액(Ginseng extract, 30brix)은 한국 담배인삼공사에서 구입하여 사용하였다.

### 된장의 제조

각각 제조한 된장의 배합은 Table 1과 같이 5개의 시험구로 하여 각각의 메주에 소금 300 g을 첨가하여

염 농도가  $15 \pm 1\%$  되도록 조절하였고 수분 함량은  $55 \pm 1\%$  되도록 조절하여 항은 배양기( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 60일간 숙성시켰다.

Table 1. Mixing ratio for making Korean soybean paste

Materials	Treatment				
	A	B	C	B	E
Traditional meju(kg)	0.700	0.700	0.700	0.700	0.700
Ginseng extract(30brix, kg)	-	0.005	0.015	0.025	0.050
Salt(kg)	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
Water	1.100	1.095	1.085	1.075	1.050

A. Korean Soybean paste(Control); B. 1% Ginseng extract + Korean Soybean paste; C. 3% Ginseng extract + Korean Soybean paste; D. 5% Ginseng extract + Korean Soybean paste; E. 10% Ginseng extract + Korean Soybean paste.

### 이화학적 성분의 분석

이화학적 성분의 분석은 pH는 pH meter로, 산도와 아미노산도의 측정은 중화법에 준하였고, NaCl 농도는 Mohr 법(22), 환원당 측정은 DNS(Dinitrosalicylic acid) 법(23)으로 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 총당의 정량은 phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법(24)으로 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 미생물 균수의 측정

된장 시료 10 g에 멸균 증류수 90 ml를 첨가하고 상온에서 2시간 진탕한 후, 시료를 단계별로 희석하여 평판 배지에서 배양하였다. 총 균수의 측정은 영양한천배지(Nutrient agar plate)를 이용하여 30°C에서 2 - 3일, 효모수의 측정은 YPD agar plate(yeast extract 0.5%, peptone 1.0%, dextrose 1.0%, agar 1.5%)를 이용하여 30°C에서 2 - 3일, 곰팡이의 측정은 PDA(potato dextrose agar) plate를 이용하여 30°C에서 4 - 6일 배양한 후에 생육하는 colony수를 계수 하였다.

### 조효소액의 조제

된장 시료 10 g에 증류수를 첨가하여 200 ml로 정용한 후, shaking water bath(30°C)에서 4시간 동안 추출하여 4°C에서 2시간 방치한 다음 12,000 × g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 조효소액으로 사용하였다.

### 효소 활성의 측정

Amylase의 활성은 DNS법(23), Protease의 활성은 Hull(25)의 방법을 사용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 tyrosine양( $\mu\text{g/ml}$ )으로 환산하였다. Tyrosinase 활성 저해능 측정(26)은 475 nm에서 단위 시간당 변화된

초기 흡광도의 변화값( $S_{Abs}$ )과 효소액 대신에 증류수를 0.1 ml 첨가하여 흡광도를 측정 한 값( $B_{Abs}$ ), 시료 용액 대신에 증류수를 0.5 ml 첨가하여 동일한 방법으로 흡광도를 측정 한 값( $C_{Abs}$ )을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory effect(\%)} = \{ 1 - [ S_{Abs} - B_{Abs} / C_{Abs} ] \} \times 100$$

**ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해 활성 측정**

된장 시료 20 g에 증류수를 20 ml 첨가하여 95℃ 항온 수조에서 20분간 방치한 후, 증류수를 20 ml 첨가한 후, 10,000 × g에서 20분간 원심 분리하여 상정액을 시료로 사용하였다.

ACE 저해 활성의 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(27)에 따라 228 nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{저해율(\%)} = [ ( B - A ) / ( B - C ) ] \times 100$$

B : 시료 대신 증류수 첨가시의 흡광도

A : 시료 첨가시의 흡광도

C : 반응 정지 후 시료 첨가시의 흡광도

**항돌연변이 활성의 측정**

된장 시료 20 g에 증류수를 100 ml 첨가하여 균질화한 후, 80℃ 항온 수조에서 3시간 열수 추출한 다음 원심 분리하여 상등액을 건고 시킨 후, 증류수를 첨가하여 시료로 사용하였다.

시료의 돌연변이 및 항돌연변이 활성 측정은 Ames test를 개량한 preincubation method(28-30)에 따라 히스티딘 영양 요구주로서 point mutant인 *Salmonella typhimurium* TA100(hisG46, rfa, ΔuvrB)과 frame shift mutant인 *S. typhimurium* TA98(hisD3052, rfa, ΔuvrB)을 사용하여 시료에 의한 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 정도를 조사하여 행하였다. 변이원으로는 *S. typhimurium* TA100인 경우에는 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine) NPD (4-nitro-O-phenylenediamine)를 plate당 각각 5 μg, 15 μg되게 사용하였으며, *S. typhimurium* TA98인 경우에는 NPD, NQO(4-nitroquinoline-1-oxide)를 각각 2.5 μg, 0.25 μg되게 사용하였다. 항돌연변이 활성은 minimal glucose agar상에서 생육하는 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니를 계수한 다음 다음식으로 환산하여 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 저해율(inhibition ratio)로서 나타내었다.

$$\text{Inhibition ratio(\%)} = 100 \times [ ( a - b ) / ( a - c ) ]$$

a : 변이원에 의해 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

b : 변이원과 시료 처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

c : 변이원과 시료 무처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수

시료의 돌연변이원성 조사를 위하여는 변이원을 첨가하지 않고 시료만을 첨가하여 상기의 항돌연변이 활성 실험과 같은 방법으로 행하였다. 돌연변이 활성은 시료에 의한 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이율로서 무처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수에 대한 시료 처리시 유도된 His<sup>+</sup> 복귀 돌연변이 콜로니 수의 %로 나타내었다. 돌연변이 및 항돌연변이 활성 조사는 3구 3회 반복으로 실험하여 평균값으로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**pH 및 총산의 변화**

된장을 제조하여 일정 기간 발효를 시킨 후, 인삼 농축액을 각 농도별로 첨가하여 발효시키면서 pH 및 총산의 변화를 측정 한 결과는 Table 2와 같다. 발효 과정중의 pH 변화와 총산의 변화는 미생물의 발효 대사산물과 밀접한 관련이 존재하는데 pH의 변화는 된장 제조 직후의 pH가 6.19에서 발효기간이 길어짐에 따라 60일 발효 후 5.77 ~ 5.80로 감소하였으며, 감소하는 비율은 거의 유사한 수준이었다. 총산의 변화는 pH의 변화와 반대로 인삼 농축액을 첨가한 경우 60일 발효시 대조구보다 총산 함량이 비슷하거나 조금 낮게 나타났다.

Table 2. Changes of pH and total acidity in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation

Fermentation time(days)	Treatment*									
	A		B		C		D		E	
	pH	Acidity	pH	Acidity	pH	Acidity	pH	Acidity	pH	Acidity
0	6.19	0.47	-	-	-	-	-	-	-	-
15	6.13	0.68	-	-	-	-	-	-	-	-
30	6.08	0.77	6.13	0.76	6.11	0.79	6.10	0.83	6.13	0.90
45	5.92	0.90	5.97	0.90	5.91	0.94	5.90	0.95	5.89	0.99
60	5.80	1.15	5.83	1.01	5.79	1.04	5.77	1.04	5.78	1.03

\* Symbol were same as those used in Table 1.

**NaCl 농도와 아미노산도의 변화**

인삼 농축액 첨가시 된장 발효 기간에 따른 NaCl 함량과 아미노산도의 변화를 Table 3에 나타내었다. NaCl의 함량 변화는 발효 30일 까지는 증가하는 경향을 나타내었으며 그 이후의 기간에서는 대체로 감소하

는 경향을 나타내었다. 이러한 현상은 된장 발효 기간이 경과함에 따라 NaCl의 농도가 평형화되어 가는 과정으로 생각된다. 아미노산도의 변화는 대조구보다 인삼 농축액을 첨가한 실험구에서 대조구보다 높은 아미노산도를 나타내었다. 그리고 인삼 농축액의 첨가량이 증가하거나 발효 기간이 길어질수록 증가하는 경향을 나타내었다.

Table 3. Changes of NaCl concentration and amino acidity in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation

Fermentation time(days)	Treatment*									
	A		B		C		D		E	
	NaCl (%)	Amino acidity (%)	NaCl (%)	Amino acidity (%)	NaCl (%)	Amino acidity (%)	NaCl (%)	Amino acidity (%)	NaCl (%)	Amino acidity (%)
0	15.21	1.10	-	-	-	-	-	-	-	-
15	15.79	1.93	-	-	-	-	-	-	-	-
30	15.67	2.35	15.21	2.35	15.80	2.35	15.50	2.60	16.90	2.75
45	15.40	2.75	14.92	2.70	15.21	2.80	14.92	2.95	15.50	3.00
60	15.21	2.95	14.04	3.00	14.63	3.20	1.63	3.40	14.92	3.55

\* Symbols were same as those used in Table 1.

Table 4. Changes of reducing sugar and total sugar in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation (%)

Fermentation time(days)	Treatment*									
	A		B		C		D		E	
	Reducing sugar	Total sugar	Reducing sugar	Total sugar	Reducing sugar	Total sugar	Reducing sugar	Total sugar	Reducing sugar	Total sugar
0	2.97	12.73	-	-	-	-	-	-	-	-
15	5.86	15.47	-	-	-	-	-	-	-	-
30	6.02	19.75	5.76	16.92	5.92	16.94	5.92	19.74	6.13	20.01
45	6.02	16.43	6.14	14.34	6.16	14.78	6.20	16.46	6.26	18.45
60	5.78	14.17	6.02	12.78	6.11	13.11	6.12	14.75	6.16	16.13

\* Symbols were same as those used in Table 1.

#### 환원당 및 총당의 변화

된장 발효 과정중의 환원당과 총당 함량의 변화는 Table 4와 같다. 환원당 함량은 담금 직후에는 2.97%이었던 것이 발효 기간이 45일일 때 6.02 ~ 6.26%로 증가하는 경향을 나타내었다. 발효 초기에는 당화 amylase의 작용이 미약하여 환원당의 생성이 적으나, 발효 45일 때 당화 amylase의 활성이 비교적 높게 나타나 당 함량이 최대치를 나타내었고, 그 후 된장에 생육되는 미생물의 영양원, 알콜 발효, 유기산 발효의 기질로 당이 이용되었기 때문에 환원당 함량이 감소된 것으로 생각된다. 이는 발효 중반기에 환원당이 증가하였다가 그 후 감소되었다는 Lee(19)의 보고와 유사하였다. 총

당의 함량은 인삼 농축액을 10% 첨가하여 발효 30일 일 때 최대를 나타내었으며, 그 이후에는 감소하는 경향을 나타내었다. 발효 과정 중 총당이 감소된 것은 당질의 일부가 알콜 발효 및 유기산 발효의 기질로 이용된 것으로 생각된다.

#### 미생물 생균수의 변화

된장 발효 과정중의 균수 변화는 Table 5와 같다. 총균수의 경우 전 시험구에서 발효 45일까지는 증가하다가 그 이후에는 감소하는 경향을 나타내었다. 인삼 농축액을 첨가한 경우 대조구보다 총균수가 낮게 나타났으며, 또한 농도가 높을수록 총균수가 적게 나타났다. 이는 pH의 저하로 인한 생육의 환경의 변화와 인삼 농축액이 미생물의 생육을 저해하였기 때문이라고 생각된다. 된장의 효모 생균수는 발효 30일까지는 증가한 후 다시 감소하였으며, 재래식 된장의 경우 발효 초기에 pH가 6.10 전후로서 효모의 생육이 가능했음에도 불구하고 숙성 15일부터 출현하여 발효 30일까지 증가한 후 감소하였다. 곰팡이의 경우에는 발효 초기에 많은 균수를 나타내었으나 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 pH의 영향 보다 염 농도에 의해 감소되는 것으로 추정된다. 된장 발효 과정 중에 생육하는 미생물은 된장의 품질에 중요한 영향을 주며 특히 맛과 향기 생성에 크게 기여하는데(31), 이러한 결과는 Kim 등(32)이 발효 기간에 따른 곰팡이의 변화를 조사한 결과, 발효 60일까지 증가한 후 감소하였다고 보고하여 본 실험과 다른 결과를 나타내었다.

Table 5. Changes of total cell, yeast and mold in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation (Unit : log number(CFU/G))

	Treatment*	Fermentation time(days)				
		0	15	30	45	60
Total cells	A	6.54	7.04	7.84	7.85	7.46
	B	-	-	7.13	7.42	7.25
	C	-	-	7.11	7.40	7.15
	D	-	-	7.11	7.38	7.11
	E	-	-	7.14	7.24	7.10
Yeast	A	0.00	2.24	3.98	3.82	3.40
	B	-	-	3.97	3.70	3.34
	C	-	-	3.90	3.66	3.29
	D	-	-	3.87	3.64	3.20
	E	-	-	3.82	3.60	3.17
Mold	A	5.47	5.24	4.39	3.94	2.14
	B	-	-	4.35	3.86	2.06
	C	-	-	4.27	3.87	2.03
	D	-	-	4.33	3.74	2.09
	E	-	-	4.37	3.62	2.10

\* Symbols were same as those used in Table 1.

**효소 활성의 변화**

Amylase와 protease 활성의 변화 발효 중 amylase 활성의 경시적 변화는 Table 6과 같다. 발효가 진행됨에 따라 초기에 1.36 unit/ml인 것이 숙성 30일까지 2.96 - 3.07unit/ml로 활성이 증가하였으나 발효가 진행되면서 점차 활성이 감소하였다. 그리고 인삼 농축액을 첨가한 경우의 amylase의 활성은 대조구와 비교시 낮은 활성을 나타내었다. 된장의 맛 성분과 관련하여 유리당은 된장 발효에 관여하는 미생물이 분비하는 amylase의 활성도에 영향을 받으며, 이는 미생물의 변화와 총당, 환원당의 변화에 영향을 미친다. 된장의 protease의 활성은 단백질 분해 특유의 구수한 맛 성분을 유리하고 이들의 숙성도를 나타내는 유리 아미노산 함량에 많은 영향을 준다. 발효 중 protease 활성의 경시적 변화를 조사한 결과(Table 6), 발효가 진행됨에 따라 초기에 4.87 unit/ml인 것이 숙성 30일 일 때 인삼 농축액을 첨가한 경우 7.58 - 7.80unit/ml 까지 점차 그 활성이 증가하였으며 인삼 농축액의 농도가 높을수록 활성이 높게 나타났고 발효가 진행되면서 점차 활성이 감소하였다.

Table 6. Changes of amylase activity and protease activity in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation

Fermentation time(days)	Amylase activity(unit/ml)					Protease activity(unit/ml)				
	Treatment*									
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
0	1.36	-	-	-	-	4.87	-	-	-	-
15	2.46	-	-	-	-	6.46	-	-	-	-
30	3.07	2.99	2.99	2.96	2.98	7.46	7.58	7.53	7.67	7.80
45	3.00	2.83	2.96	2.91	2.95	6.29	6.46	6.47	6.51	6.66
60	2.75	2.71	2.76	2.78	2.79	4.65	5.77	5.80	5.68	6.17

\* Symbols were same as those used in Table 1.

**Tyrosinase 활성 저해능의 변화**

된장 제조시 인삼 농축액을 첨가하여 tyrosinase의 저해 활성능을 측정된 결과 Table 7과 같이 발효가 진행됨에 따라 tyrosinase의 저해 활성은 증가하는 경향을 나타내었으며, 특히 인삼 농축액을 10%첨가하여 된장을 발효시킨 경우에 대조구와 다른 실험구보다 높은 활성을 나타내었다. Tyrosinase는 tyrosine으로부터 quinone이 생성된 후에 아미노산 또는 단백질과의 중합 반응에 의해 melanin이 합성(33,34)되어 사람의 피부에 색소가 비정상적으로 생성되어 나타나는 원인 물질로서 생성된 색소를 파괴 또는 분해하여 제거하기란 매우 어렵고 현재 tyrosinase 저해제로 여러 가지가 사용되고 있

으나(35-38), 안전성과 경제성 등의 문제점을 안고 있기 때문에 인삼 농축액을 첨가하여 된장 제조시 tyrosinase 활성이 증가하기 때문에 자연스럽게 식품을 통하여는 섭취하면 tyrosinase의 활성을 저해할 수 있으리라 사료된다.

Table 7. Changes of tyrosinase inhibitor in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation

Fermentation time(days)	Treatment*				
	A	B	C	D	E
0	4.79	-	-	-	-
15	7.30	-	-	-	-
30	9.55	9.52	10.55	9.78	9.71
45	12.76	13.05	14.79	14.36	12.61
60	16.49	18.94	19.15	18.79	16.81

\* Symbols were same as those used in Table 1.

Table 8. Changes of ACE(angiotensin converting enzyme) inhibitor in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation

Fermentation time(days)	Treatment*				
	A	B	C	D	E
0	15.24	-	-	-	-
15	20.17	-	-	-	-
30	24.48	24.78	24.59	24.68	24.16
45	29.96	30.49	33.18	36.48	39.24
60	35.58	36.21	37.17	39.28	43.31

\* Symbols were same as those used in Table 1.

**ACE(Angiotensin converting enzyme) 저해 활성의 변화**

전통 발효 식품인 된장 발효시 인삼 농축액을 첨가하여 안지오텐신전환효소(Angiotensin converting enzyme) 활성 저해 효과를 조사한 결과, Table 8과 같이 발효가 진행됨에 따라 ACE 저해 활성은 증가하는 경향을 나타내었으며, 또한 인삼 농축액의 농도가 높을수록 저해 활성은 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 인삼 농축액에 ACE 저해 활성 물질이 존재하든지 아니면 된장 발효 중에 대두 단백질을 가수분해하여 ACE 저해 활성을 나타내는 peptide 생성에 된장 발효 중에 첨가된 인삼 농축액이 직접 또는 간접적으로 관여하였을 것으로 추정할 수 있다고 사료된다. 최근 우리나라에서도 식품으로부터 영양소 또는 비 영양소 성분의 항고혈압에 관한 생리 활성을 나타내는 기능성 성분들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(39,40). 이들의

활성 저해 효과는 혈압 강하제와 비교했을 때 비교적 낮은 활성을 나타내지만 대량으로 항상 섭취하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대 되어진다.

#### 항돌연변이 활성의 변화

전통 발효 식품인 된장이 항돌연변이 활성을 가지고 있다고 알려져 있다(16)고 확인되었기에 된장 제조시 인삼 농축액을 첨가하여 된장 발효시 항돌연변이 활성에 어떤 영향을 미치는지를 숙성 기간별로 물 추출하여 *S. typhimurium* TA98과 TA100을 사용하여 직접 변이원인 MNNG, NPD 및 4-NQO에 대한 항돌연변이 활성을 조사하여 Table 9에 나타내었다. *S. typhimurium* TA100에 대하여 변이원 MNNG와 NPD에 대한 된장의 물 추출물의 항돌연변이 활성은 인삼 농축액을 10% 첨가하여 60일 발효시 각각 80.90%와 62.46%로 대조구 보다 약 20%와 10% 정도 높게 나타났다. *S. typhimurium* TA98에 대하여 변이원 4-NQO와 NPD에 대한 된장의 물 추출물의 항돌연변이 활성은 *S. typhimurium* TA100과 마찬가지로 인삼 농축액의 농도가 높을수록 그리고 발효 기간이 60일일 때 각각 51.96%와 58.88%로 가장 높은 항돌연변이 활성을 나타내었다. 된장의 물 추출물은 돌연변이원의 종류와 사용 균주에 따라 다른 항돌연변이 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 돌연변이원의 종류에 따라 작용 기작이 다르므로 항돌연변이 활성도 돌연변이원에 따라 서로 다른 경향을 보이는 것으로 추정되며, 사용한 균주의 유전자형 또한 항돌연변이 활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

Table 9. Changes of antimutagenic activity in the Korean soybean paste with various concentrations of ginseng extract during fermentation (%)

Strains	Fermentation times(days)	Treatment*									
		A		B		C		D		E	
		MNNG	NPD	MNNG	NPD	MNNG	NPD	MNNG	NPD	MNNG	NPD
TA100	0	11.06	10.41	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	25.44	21.04	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	39.57	32.13	39.98	32.02	40.65	34.08	41.40	36.34	42.65	37.02
	45	50.55	44.43	52.96	43.85	56.87	51.74	61.94	53.94	68.25	58.36
	60	60.04	51.38	62.95	52.68	69.68	57.41	75.80	60.25	80.90	62.46
TA98		NQO		NPD		NQO		NPD		NQO	
	0	9.49	6.70	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	18.31	14.02	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	27.36	26.34	27.54	28.05	28.34	32.98	29.98	35.85	30.87	38.12
	45	35.17	34.05	35.81	35.54	37.27	43.46	39.22	46.51	42.15	52.00
60	40.31	38.32	42.46	40.81	45.21	50.56	49.38	54.21	51.96	58.88	

\* Symbols were same as those used in Table 1.

## 요약

전통 발효 식품인 된장에 새로운 기능을 부여하기 위한 기초실험으로서 된장을 제조하여 일정기간 발효시킨 후, 인삼 농축액을 일정 비율로 첨가하여 된장 발효 중의 미생물, 효소 활성 변화와 주요 성분의 변화를 조사하였다. pH는 발효기간 내내 감소하였으며, 총산은 발효기간이 길어짐에 따라 증가하였다. NaCl 함량은 발효 30일까지는 15.67 ~ 16.90%로 증가하는 경향을 나타내었으며, 아미노산도는 표고버섯의 농도가 높을수록 증가하였다. 환원당 함량은 발효 45일까지는 증가하였으며, 총당은 발효 30일 일 때 16.92 ~ 20.01%로 증가하는 경향을 나타내었으며 그 이후에는 감소하였다. 총균수는 모든 시험구에서 발효 45일 때 최대 균수를 나타내었으며, 효모수는 발효 30일까지는 증가한 후 다시 감소하였으며, 곰팡이의 경우에는 발효 초기에 많은 균수를 나타내었으나 발효가 진행됨에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다. amylase 활성과 protease 활성은 발효 30일 일 때 최대 활성을 나타내었으며, Tyrosinase의 저해 활성은 발효가 진행됨에 따라 증가하였다. ACE 저해 활성은 발효가 진행됨에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며 인삼 농축액을 첨가하여 된장을 발효시킨 경우에 활성이 대조구에 비하여 약 10% 정도 높게 나타났다. 항돌연변이 활성은 발효 기간이 길어질수록 증가하는 경향을 나타내었으며, *S. typhimurium* TA100에 대하여 변이원 MNNG와 NPD에 대한 항돌연변이 활성은 인삼 농축액을 10% 첨가시 각각 80.90%와 62.46%로 높은 활성을 나타내었다. *S. typhimurium* TA98에 대하여 변이원 4-NQO와 NPD에 대한 항돌연변이 활성은 *S. typhimurium* TA100과 마찬가지로 발효 기간이 길어질수록 증가하는 경향을 나타내었으며, 4-NQO와 NPD에 대한 항돌연변이 활성은 인삼 농축액을 10% 첨가시 각각 51.96%와 58.88%로 높은 활성을 나타내었다.

## 참고문헌

- Joo, H.K., Kim, D.H. and Oh, K.T. (1992) Chemical composition changes in fermented Doenjang depend on Doenjang koji and its mixture. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **35**, 351-360
- Jung, S.W., Kwon, D.J., Koo, M.S. and Kim, Y.S. (1994) Quality characteristics and acceptance for Doenjang prepared with rice. *Kor. Agric. Chem. Biotech.*, **37**, 266-271

3. Joo, H.K., Oh, K.T. and Kim, D.H. (1992) Effects of mixture of improved Meju, Korean traditional Meju and Natto on soybean paste fermentation. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **35**, 286-293
4. Lee, J.S., Kwon, S.J., Chung, S.W., Choi, Y.J., Yoo, J.Y. and Chung, D.H. (1996) Changes of microorganisms, enzyme activities and major components during the fermentation of korean traditional Doenjang and Kochujang. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 247-253
5. Seo, J.S., Han, E.M. and Lee, T.S. (1986) Effect of Meju shapes and strains on the chemical composition of soybean paste. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **15**, 1-9
6. An, H.S., Bae, J.S. and Lee, T.S. (1987) Comparison of free amino acids, sugars, and organic acids in soy bean paste prepared with various organisms. *J. Kor. Agricultural Chem. Soc.*, **30**, 345-350
7. Messina, M. (1995) Modern applications for an ancient bean : soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J. Nutr.*, **125**, 567-571
8. Benjamin, H., Storkson, J., Tallas, P.G. and Pariza, M.W. (1988) Reduction of bezo( $\alpha$ )pyren-induced mouse forestomach neoplasms in mice given nitrite and dietary soy sauce. *Food Chem. Toxic.*, **26**, 671-678
9. Benjamin, H., Storkson, J., Nagahara, A. and Pariza, M.W. (1991) Inhibition of bezo( $\alpha$ )pyren-induced mouse forestomach neoplasia by dietary soy sauce. *Cancer Res.*, **51**, 2940-2942
10. Nagahara, A., Benjamin, H., Storkson, J., Krewson, J., Sheng, K., Liu, W., and Pariza, M.W. (1992) Inhibition of bezo( $\alpha$ )pyren-induced mouse forestomach neoplasia by a principal flavor component of japanese-style fermented soy sauce. *Cancer Res.*, **52**, 1754-1756
11. Ohsaki, Y., Gazdar, A.F., Chen, H.C. and Johnson, B.E. (1992) Antitumor activity of Magainin analogues against human lung lines. *Cancer Res.*, **52**, 3534-3538
12. Asahara, N., Zhang, X.B. and Ohta, Y. (1992) antimutagenicity and mutagen-binding activation of mutagenic pyrolyzates by microorganisms isolated from Japanese miso. *J. Sci. Food Agric.*, **58**, 395-401
13. Cheigh, H.S. and Lee, C.Y. (1993) Antioxidative and antimutageni characteristics of melanoidin related products. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 246-252
14. Cheigh, H.S., Lee, J.S., Moon, G.S. and Park, K.Y. (1993) Antioxidative activity of browning products fractionated from fermented soybean sauce. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 565-569
15. Cheigh, H.S., Lee, J.S. and Lee, C.Y. (1993) Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 570-575
16. Park, K.Y., Moon, S.H., Baik, H.S. and Cheigh, H.S. (1990) Antimutagenic effect of Doenjang(Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **19**, 156-162
17. Yoon, K.D., Kwon, D.J., Hong, S.S., Kim, S.L and Chung, K.S.(1996) Inhibitory effect of Soybean and fermented Soybean products on the chemically induced mutagenesis. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 525-528
18. Lee, J.S., Kwon, S.J., Ahn, C. and Yoo, J.Y. (1997) Enzyme activities and physiological functionality of yeasts from traditional Meju. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 448-453
19. Lee, H.J. (1996) Health functional peptides from foods. *Proceed. IUFOST '96 Regional Symp. on Non-Nutritive Health Factors for future Foods.* (October, Seoul, Korea). 192-200
20. 조계선 (1989) 장류의 생산 수급 및 연구현황과 문제점. *식품과학과 산업*, **22**, 28-36
21. 정동효 (1976) 한국식품연구문헌총람(2). 한국식품과학회. 235-276
22. AOAC (1990) Official Methods of Analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.,
23. Summer, J.B. (1925) Dinitrosalicylic method for glucose. *J. Biol. Chem.*, **60**, 393-398
24. Dubois, M., Gills, K.A., Hamilton, J.N., Rebers, P.A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-352
25. Hull, M.E. (1974) Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J. Dairy Sci.*, **30**, 881-884
26. Jung, S.W., Han, D.S., Kim, S.J. and Chun, M.J. (1996) Fermentation of tyrosinase inhibitor in mushroom media. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 227-233
27. Cheung, H.S. and Chushman D.W. (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin- converting enzyme

- of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637-1640
28. Maron, D.M. and Ames B.N. (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-219
  29. Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto Y. (1975) Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivative. *Cancer Lett.*, **1**, 91-98
  30. Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T., and Okada M. (1977) Mutagenicities of N-nitrosamines on Salmonella. *Mutat. Res.*, **48**, 121-126
  31. Cho, J.S. (1980) Fermented soybean products. in "Survey on Korean fermented Foods"(in Korean). Kijeon Pub. Ltd., 47-90
  32. Kim, Y.S., Kwon, D.J., Koo, M.S., Oh, H.I. and Kang, D.S. (1993) Changes in microflora and enzyme activities of traditional Kochujang during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **25**, 502-509
  33. Iyenger, R. and McEvily A.J. (1992) Anti-browning agents : alternatives to the use of sulfites in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, **3**, 60-65
  34. Vamons-Vigyazo, L. (1981) Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **15**, 49-53
  35. Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M. and Kamei, H. (1990) A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J. Antibiotics.* **43**, 1601-1605
  36. Lozano-de-Gonzales, P.G., Barrett, D.M., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. (1993) Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice. *J. Food Sci.*, **58**, 399-405
  37. Otwell, W.S., Iyenger, R. and McEvily, A.J. (1992) Inhibition of shrimp melanosis by 4-hexylresorcinol. *J. Aquatic Food Prod. Technol.*, **1**, 53-57
  38. McEvily, A.J., Iyenger, R. and Gross, A.T. (1993) Compositions and methods for inhibiting browning in foods and beverages. U. S. Patent. **5**, 202,141
  39. Suh, H.J., Suh, D.B., Chung, S.H., Whang, J.H., Sung, H.J. and Yang, H.C. (1994) Purification of ACE inhibitor from soybean paste (in Korean). *Agric. Chem. Biotechnol.*, **37**, 441-446
  40. Shin, Z.I., Ahn, C.W., Nam, H.S., Lee, H.J. and Moon, T.H. (1995) Fraction of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste (Korean). *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **27**, 230-234

---

(접수 2000년 5월 18일)