

메밀가루 첨가 공장산 고추장의 발효과정 중 Rutin과 Quercetin의 변화

이승진¹ · 김성주² · 한민수¹ · 장규섭^{2*}

¹(주)해찬들

²충남대학교 식품공학과

Changes of Rutin and Quercetin in Commercial *Gochujang* Prepared with Buckwheat Flour during Fermentation

Seung-Jin Lee¹, Seong-Ju Kim², Min-Soo Han¹ and Kyu-Seob Chang^{2*}

¹Haechandle Co., Ltd., Chungnam 320-833, Korea

²Dept. of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

Changes in rutin and quercetin contents of *Gochujang*, which was added buckwheat flour, were investigated during steaming and fermentation for 1 month. Not steamed buckwheat flour showed only in presence of rutin. But rutin decreased and quercetin increased after steaming. The koji of buckwheat flour showed maximum contents of rutin and quercetin at 20 hours during fermentation. The rutin content of *Gochujang* made with koji of buckwheat flour decreased slightly during fermentation but the quercetin content increased with decreasing contents of rutin, probably due to degradation of rutin. All rutin degraded completely in *Gochujang* made with koji of buckwheat flour after 20 days.

Key words: rutin, quercetin, *Gochujang*, fermentation, buckwheat

서 론

메밀(Buckwheat; *Fagopyrum esculentum* Moench)은 마디풀과에 속하는 일년초로서 분류학상 곡류와는 구별되지만 곡류와 유사한 특성을 가지고 있으며(1) 탄수화물을 비롯하여 조단백질, lysine, arginine 등의 필수 아미노산, 불포화 지방산 및 각종 무기물과 비타민을 함유하고 있다. 또한 메밀은 전통적으로 위를 강하게 하고 기운을 돋우며, 정신을 맑게 하고 오장내의 노폐물을 제거하는 생리적 작용이 있는 것으로 알려져 있다(2).

메밀에는 많은 기능성 성분들이 보고되었는데 그 중 flavonoids 성분으로는 rutin(2-phenyl-3,5,7,3',4'-pentahydroxybenzopyrone)을 비롯한 quercetin, isoquercitrin, myricetin 등이 알려져 있으며, 이들 화합물은 항산화 작용, 혈압 저하작용, 혈관 수축작용, 항균작용 등 생체조절기능이 밝혀짐에 따라서 새로운 메밀제품의 가공개발이 활발하게 이루어지고 있고, 이로 인한 메밀 수요량도 점차적으로 증가하고 있다. Rutin은 quercetin을 aglycone으로 하여 rutinose(rhamnose+glucose)로 구성된 수용성 flavonoid 화합물로 혈관계 질환 치료제로 이용되는 것이 보고되어 있으며, 동물의 임상학적 실험에서 rutin을 정맥 내 투여 시 콜레스테롤 저

하 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(3).

고추장은 우리나라 고유의 전통적인 발효 식품으로 제조과정 중 amylase에 의한 당화작용으로 인하여 탄수화물에서 생성된 당류의 단맛, protease의 단백질 분해 작용으로 생성된 아미노산의 구수한 맛, lipase의 작용으로 생성된 지방산과 고춧가루의 매운맛, 소금의 짠맛 등의 조화에 의해 특유한 맛을 이룬다(4). 고추장의 비만억제 및 항암효과 같은 다양한 생리활성 기능(5)이 학술적으로 검증되면서 기능성을 첨가한 고추장 제조에 관한 연구(6-14)가 많이 이루어지고 있으며 소비자들이 식생활 요구 수준이 높아짐에 따라 기능성 물질이 첨가된 전통장류제품을 선호할 것이라고 생각된다. 이에 따라, 다양한 기능성을 지닌 메밀을 공장산 고추장에 첨가 가공하여 기능성을 지닌 전통장류 제품의 적용을 시도하고, 그 공정 및 발효과정 중의 생리활성 성분인 rutin의 함량 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 고추장 담금 실험에서 사용한 메밀가루는 (주) 동아제분의 2003년산 제품을 구입하여 사용하였고, 소맥분

*Corresponding author. E-mail: changks@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6727, Fax: 82-42-822-2153

은 (주)동아제분에서 제조한 장류용 제품, 식염은 (주)한주소금(NaCl 98%이상), 밀쌀은 (주)밀다원에서 구입한 원료를 사용하여 반제품을 제조하였다. 분석 시약 중에서 rutin, quercetin, α , β -amylase(역가 22,500 unit/g)은 Sigma Chem. Co.(St. Louis, MO., USA)제품을 사용하였다.

Koji의 제조

소맥분과 메밀의 증자, 제국은 수분을 각기 38%로 보충하여 균질하게 혼합한 다음 sieve에 담고, 이를 121°C에서 30분간 증자한 후 30°C에서 냉각하였다. 통기성이 있는 플라스틱 용기(40 cm×30 cm×10 cm)에 광목을 바닥에 깔은 후에 증자, 냉각한 소맥분과 메밀에 *Aspergillus oryzae*(충무발효, 중모균)을 각기 0.2%씩 접종하여 균질하게 혼합한 후 표면에 광목을 덮어 초기온도를 30°C로 설정한 후 입국하였다. 입국 8시간 후에는 곡자의 품은 상승 억제와 균의 활성을 돕기 위해서 뒤집기를 실시하였고, 이후에는 품온을 40°C 이하가 되도록 계속 유지하면서 3일 동안 제국한 후 koji를 만들어 사용하였다(Fig. 1).

메밀고추장 반제품 제조

메밀고추장 발효과정 중 메밀제국곡자의 첨가함량에 따른 rutin과 quercetin의 변화를 측정하기 위한 방법으로서 공장산 고추장 제조방법에 준하여 발효과정 단계의 반제품을 제조였다. 고추장 담금 배합비는 Table 1과 같다. 제국한 메밀곡자를 전체 제조증량에 각각 13%(A), 25%(B)의 함량이 되도록 첨가하였고, 증자 밀쌀과 식염에 일정 비율의 밀가루 곡자를 혼합하여 최종수분 34%, 염도 9%로 하여 제조하였다. 30°C에서 30일간 숙성하면서 10일 간격으로 측정하였다.

효소역가

α -Amylase는 Shin 등(15)의 방법을 일부 수정하여 측정

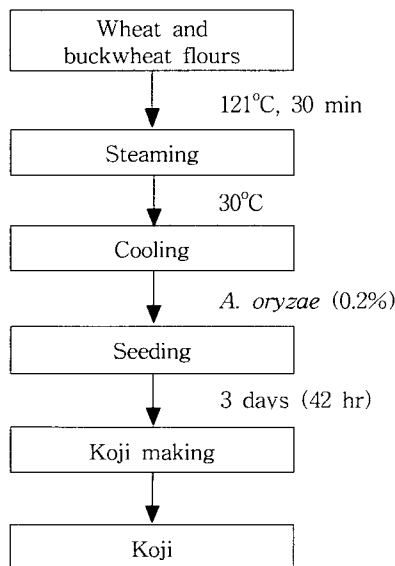


Fig. 1. Procedure of koji making.

Table 1. The mixing ratio of raw materials for preparation of buckwheat *Gochujang* (unit: g)

Raw materials	Koji		Polished wheat	Salt	Water
	Wheat	Buckwheat			
Control	1,894		822	449	1,821
A	737	405 ¹⁾	486	269	1,035
B	714	1,290 ²⁾	809	449	1,723

¹⁾13% of total content.

²⁾25% of total content.

하였다. 1% 전분용액(pH 5.2)에 조효소액을 넣고 40°C에서 정확히 30분간 반응시킨 후 1 N acetic acid를 넣어 반응을 정지시킨 다음 660 nm에서 흡광도를 구하여 측정하였다. 이때 활성도는 반응 전후의 흡광도 차에 희석배수를 곱하여 표시하였다. β -Amylase 활성도(15)는 1% 전분용액에 조효소액을 넣고 30°C에서 정확히 1시간 반응시킨 후 5% ZnSO₄ 용액과 0.3 N Ba(OH)₂ 용액을 혼합하여 원심 분리한 여액에 DNS(3,5-dinitro salicylic acid)시약을 첨가하여 비등수에 10분간 방치한 다음, 증류수를 가해 575 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다. 표준곡선은 glucose를 이용하여 분석하였으며 β -amylase 활성도는 시료 1 g에서 1분간 생성한 환원당을 환산하여 μ M로 표시한 것을 1 unit로 하였다.

HPLC 분석

분석용 시료는 methanol을 가한 후 20분 동안 초음파 분쇄를 실시하고 원심분리기로 5,000 rpm에서 5분 동안 분리 후 여과하여 Table 2의 조건으로 분석하였다.

결과 및 고찰

밀가루 koji와 메밀가루 koji의 성분 변화

증자 밀가루와 메밀을 이용하여 3일 제국(42시간)한 결과, 수분은 메밀곡자가 밀가루 곡자보다 약 5% 정도 높게 측정되었고, 그 이외의 pH, α -amylase 및 β -amylase에서는 뚜렷한 차이가 없었다(Table 3). 따라서 메밀고추장의 제조를 위한 코지의 제국에 있어서는 기존의 밀가루를 이용하는 제조와 비교하여 메밀곡자 적용성을 고려할 때 큰 차이가 없는 것으로 사료된다.

증자 및 제국과정 중의 메밀의 rutin과 quercetin의 변화

메밀가루와 증자메밀 및 메밀곡자의 rutin과 quercetin의 함량은 Table 4와 같다. 증자 전 메밀가루의 rutin 함량은 약 115 ppm이었지만, quercetin은 검출되지 않았다. 그러나 메밀가루를 증자한 후 rutin의 함량이 12.6 ppm으로 감소하였고 증자 전에 검출되지 않았던 quercetin이 46 ppm의 함량으로 검출되었다. 이는 가공과정을 통하여 메밀의 rutin이 quercetin으로 변환된 것으로 사료되며 메밀이 가공과정을 통해 rutin이 분해되어 quercetin 함량이 증가했다는 기존의 보고(16)와 일치하였다. 증자한 메밀을 이용하여 만든 메밀곡자에서는 Fig. 2에서 볼 수 있듯이 제국 20시간에 rutin과

Table 2. Analytical conditions of HPLC for rutin and quercetin of buckwheat flour

Instrument	Varian (USA)	
Column	Varian Amino Tag, 4.6×160	
Detector	Prostar 310, UV 370 nm	
Injection vol.	10 µL	
Flow rate	1.0 mL/min	
Column temp.	30°C	
Mobile phase ¹⁾	A: 0.1% TFA ²⁾ in DW, B: 0.1% TFA: ACN ³⁾	
Contents	Condition 1	Condition 2
	Initial (min): A/B = 75/25	Initial (min): A/B = 75/25
	Ini ~ 0 : A/B = 75/25	Ini ~ 05 : A/B = 75/25
Gradient conditions	03 ~ 06 : A/B = 63/37	05 ~ 08 : A/B = 65/35
	06 ~ 30 : A/B = 50/50	08 ~ 16 : A/B = 62/38
	30 ~ 40 : A/B = 50/50	16 ~ 30 : A/B = 20/80
		30 ~ 35 : A/B = 75/25

¹⁾Mixture ratio; A : B = 1 : 1.

²⁾Trifluoroacetic acid.

³⁾Acetonitrile.

Table 3. Moisture contents, pH and enzyme activity of koji

Materials	Moisture (%)	pH	α -Amylase (IU)	β -Amylase (μ M)
Buckwheat flour	28.5	5.1	290	50
Wheat flour	23.5	5.2	310	61

Table 4. Contents of rutin and quercetin in the buckwheat flour, steamed buckwheat flour and buckwheat koji (unit: ppm)

	Rutin*	Quercetin*
Buckwheat	114.9	0.0
Steamed buckwheat	12.6	46
Buckwheat koji	65.1	58

*Dry basis.

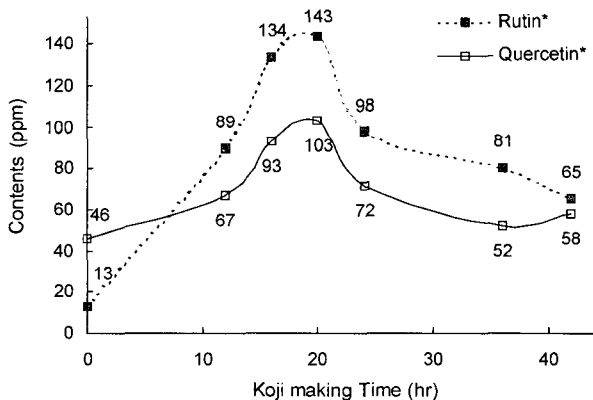


Fig. 2. Contents of rutin and quercetin in the buckwheat koji.

*Dry basis.

quercetin이 가장 많이 생성되었으며 이후에 감소하여 출국 시점에서 rutin은 약 65 ppm, quercetin은 약 58 ppm 정도만 존재하는 것으로 나타났다. 이는 일반적으로 제곡과정 중 미생물에 의한 효소 생성이 20시간 이후에 최고점(17)이 되어 효소 등에 의해 rutin이 분해되고 quercetin이 생성되는

것으로 사료된다.

메밀첨가 반제품 고추장 발효 과정에서의 rutin과 quercetin의 변화

Table 4의 메밀곡자를 고추장 담금하여 숙성기간별로 rutin과 quercetin함량을 관찰한 결과에서, 13% 메밀을 첨가한 고추장 담금 시험구의 rutin은 초기에 8.5 ppm이었던 것이 점차로 감소하여 30일째에는 완전히 분해되었고, 초기에 7.7 ppm이었던 quercetin은 계속 증가하여 20일째에는 16.5 ppm까지 증가하였다가 30일째는 15.9 ppm으로 감소하였다 (Fig. 3). 메밀 25%를 함유한 고추장 담금 시험구에서도 초기에 16.1 ppm의 rutin이 20일 발효 후에는 완전히 분해되었고, quercetin은 20일째에 28.7 ppm까지 증가하였지만, 30일째는 약간 감소하여 26 ppm으로 떨어졌다(Fig. 4). 이와 같은 결과로 볼 때 고추장 반제품을 발효시키면 일정기간 후에는 미생물에 의한 효소들로 인해서 quercetin까지도 분해되는 것으로 확인된다. 또한 quercetin함량이 부분적으로 증가된 이유로는 증자와 제곡과정에서 남아 있는 결합형의 quer-

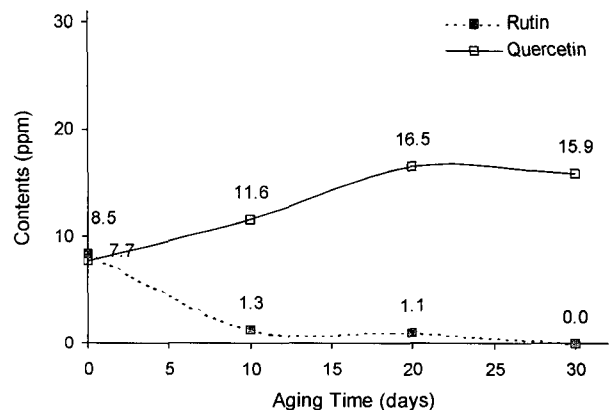


Fig. 3. Changes in rutin and quercetin content by aging period in Gochujang mash with addition of buckwheat koji (13% of total content).

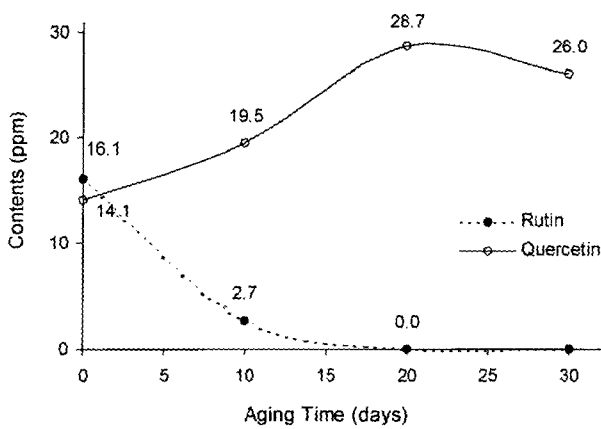


Fig. 4. Changes in rutin and quercetin content by aging period in *Gochujang* mash with addition of buckwheat koji (25% of total content).

cetin aglycone이 잔존하고 있다가 발효 과정 중에서 유리형으로 분해되면서 quercetin으로 전환된 것으로 추정된다.

요 약

본 연구에서는 고추장의 기능성과 품질을 향상시키기 위한 목적으로 메밀을 공장산 고추장 반제품에 첨가하여 약 1개월 동안 발효실험을 하였다. 메밀의 증자과정과 발효과정에서의 rutin과 quercetin의 변화를 관찰하였다. 원료 상태의 메밀가루에서는 rutin만 검출되고 quercetin은 검출되지 않았으나 증자과정을 거쳐 rutin의 함량은 감소하고 quercetin이 새로이 생성되고 그 함량은 증가하였다. 또한 제곡과정 중의 메밀꼭자는 20시간 이후에 rutin과 quercetin의 함량이 최고가 되었다. 메밀꼭자를 이용한 고추장에서 꼭자 첨가량과 상관없이 20일 이후에 rutin은 완전히 분해되었고 quercetin의 경우는 발효초기에는 함량이 계속 증가하였지만 20일 이후에는 함량이 감소하는 것으로 보아 일정기간 이후에는 quercetin도 완전히 분해되는 것으로 사료된다.

문 헌

1. Marshall HG, Pomeranz Y. 1982. Buckwheat; Descripton, breeding, production and utilization. *Adv Cereal Sci Tech* 5: 127-210.
2. Kim YS, Chung SH, Suh HJ, Chung ST, Cho JS. 1994. Rutin and mineral contents on improved kinds of Korean buck-

- wheat at growing stage. *Korean J Food Sci Technol* 26: 759-763.
3. Choi YS, Shim TH, Kim JR, Kim SW, Cheong EH, Lee SY. 1999. Studies on compositional characteristics and quantitative determination of buckwheat flour in commercial products of kangwondo *Makkuksoo* (buckwheat noodle) and buckwheat flour. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 963-968.
4. Middleton E. 1998. Some biological properties of plant flavonoids. *Annal Alter* 61: 53-57.
5. Park JS, Lee TS, Kye HW, Ahn SM, Noh BS. 1993. Study on the preparation of *kochujang* with addition of fruit juices. *Korean J Food Sci Technol* 25: 98-104.
6. Lee KS, Kim DH. 1991. Effect of sake cake on the quality of low salted *kochujang*. *Korean J Food Sci Technol* 23: 109-115.
7. Lee YS, Kang CS, Lee YS. 1998. Changes in composition of pumpkin *kochujang* during fermentation. *KGARR* 9: 193-198.
8. Yoo MS, Park HJ, Chang CM. 1995. The quality improvement of *gochugang* (Korean red pepper paste) by adding ground garlic. *RAD J Agric Sci* 37: 709-714.
9. Kim DH, Lee JS. 2001. Effect of conditions on the physicochemical characteristics of traditional *Kochujang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 33: 353-360.
10. Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim MS, An EY. 1997. Physicochemical characteristics of traditional *kochujang* prepared with various raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 29: 907-912.
11. Lee HY, Park KH, Min BY, Kim JP, Chung DH. 1978. Studies on the changog composition of sweet potato *Kochujang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 10: 331-336.
12. Kang SG, Park IB, Jung ST. 1997. Characteristics of fermented hot pepper soybean paste (*kochujang*) prepared by liquid beni-koji. *Korean J Food Sci Technol* 29: 82-89.
13. Park KY, Kong KR, Jung KO, Rhee SH. 2001. Inhibitory effects of *kochujang* extracts on the tumor formation and lung metastasis in mice. *J Food Sci Nutr* 6: 187-191.
14. Oh HI, Shon SH, Kim JM. 2000. Changes in microflora and enzyme activities of *kochujang* prepared with *Aspergillus oryzae*, *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces rouxii* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 32: 410-416.
15. Shin DH, Kim DH, Choi U, Lim MS, An EY. 1997. Changes in microflora and enzyme activities of traditional *kochujang* prepared with various raw materials. *Korean J Food Sci Technol* 29: 901-906.
16. Maeng YS, Park HK, Kwon TB. 1990. Analysis of rutin contents in buckwheat and buckwheat foods. *Korean J Food Sci Technol* 22: 732-737.
17. Lee S, Cho HO, Kim CS, Kim JG. 1980. The brewing of *Kochuzang* (red pepper paste) from different starch sources. Part I. Proximate component and enzyme activity during koji preparation. *J Korean Agric Chem Soc* 23: 157-166.

(2005년 1월 21일 접수; 2005년 3월 3일 채택)