

韓國醬類食品의 油脂成分에 關한 研究

第 1 報 : 청국장 醱酵과정중의 油脂成分 變化

李淑熙 · 金善淇* · 崔弘植*

釜山大學校 食品營養學科

*韓國科學技術院 食品化學研究室

(1983년 6월 27일 수리)

Studies on the Lipids in Korean Soybean Fermented Foods

I. Changes of Lipids Composition during *Chungkookjang* Fermentation

Sook-Hee Rhee, Sun Ki Kim* and Hong-Sik Cheigh*

Dept. of Food & Nutrition, Busan National Univ., Busan,

* Food Chem. & Technol. Lab., Korea Advanced Institute of Science & Technol., Seoul, Korea

(Received June 27, 1983)

Abstract

Chungkookjang, a traditional Korean fermented soybean food, was prepared by a commercial process. Cooked soybeans were fermented with *Bacillus natto* for 3 days and ripened with addition of 7% salt for 20 days. And the changes in the lipids during these *chungkookjang* fermentation were studied.

The total lipid content was decreased during *chungkookjang* preparation from 12.1% to 9.5%. Total lipid of cooked soybean consisted of 92.08% neutral lipids, 1.76% free fatty acids, 2.04% glycolipids and 4.12% phospholipids, respectively. During fermentation, as neutral lipids were decreased, contents of free fatty acids and glycolipids were increased. The changes of phosphatidyl inositol and phosphatidyl choline in phospholipid fraction were observed and digalactosyl diglyceride in glycolipids fraction was significantly decreased during fermentation. Differences were observed in the fatty acid compositions of glycolipids and phospholipids of cooked soybeans and *chungkookjang*. Oleic acid was the major fatty acyl moiety in neutral lipid and free fatty acid fractions, and palmitic acid was predominant in glycolipids and phospholipids. During fermentation, saturated fatty acyl moieties of glycolipids and phospholipids were increased.

序 論

우리나라에 있어서 醬類食品은 전형적인 固有食品으로서, 간장, 된장, 고추장, 청국장 등이 있다. 우리나라 食單에 있어서 이들 食品은 主要한 調味料일 뿐만

아니라, 營養素의 供給源으로서도 그 의의는 대단히 크다.

청국장은 삶은콩을 벗겨낸 콩을 사용하여 채래식 방법으로 발효시키거나, *Bacillus natto* 등에 의하여 單期間 醱酵熟成시킨 大豆醱酵食品이라고 할 수 있다. 청국장

醱酵에 관한 연구로는 醱酵과정 중 일반성분 및 질소 화합물의 변화, 관련菌株와 酵素力価 그리고 製造方法에 관한 많은 研究들이 있다. ⁽⁶⁾한편, 醬類醱酵熟成 중 脂質劃分の 酸價增加^(1~3)에 대한 보고가 있고, 또 된장 醱酵중 콩고오지(koji) 製造과정에 있어서 脂質劃分 및 脂肪酸 組成의 變化⁽⁴⁾ 등에 관한 연구보고가 있다. 그러나 청국장 醱酵熟成과정중 油脂成分의 變化에 대한 체계적인 연구결과는 아직 發表된 바 없다.

본 연구에서는 청국장 제조과정에 있어서 油脂劃分の 變化를 살펴보기 위하여, 삶은콩에 *Bacillus natto* 를 接種하여 청국장 고오지(koji)를 만들고, 다시 식염을 가하여 혼합한후 상온에서 熟成시켜 청국장을 만들었다. 그리고 이들 醱酵熟成과정중 總脂質, 磷脂質, 糖脂質 및 中性脂質劃분을 분리, 구성성분을 분석하였고 아울러 各劃分の 脂肪酸組成 變化를 究明 하였으므로 이를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

實驗材料

試料로 사용한 콩은 1981년도 美國産 黄色種 No. 2로서 粗蛋白質 34.1%, 總糖 11.9%, 總脂質 22.6% (클로로포름-메탄올 추출물, 2 : 1, V/V), 水分 9.2%를 각각 함유하고 있었다. 또한 담금용 食塩은 1982年度産 純度 99%인 精製塩(한주소금)을 使用하였다.

한편 菌株는 생표食品工業(株) 研究室 保管菌株인 *Bacillus natto* 를 사용하였다. 그리고 糖脂質, 磷脂質, 中性脂質 및 脂肪酸들의 標準物質은 Sigma Chemical Co. (U. S. A.) 및 Applied Science Laboratories Inc. (U. S. A.)의 제품을, 脂質成分의 抽出 및 劃分을 위한 溶媒는 Merck co. (West Germany) 및 Mallinckrodt Co. (U. S. A.)의 제품을 사용하였다. 기타 분석용 試藥은 Mallinckrodt Co. 및 Wako Chemical Co. (Japan)의 것을 사용하였다.

청국장의 製造 및 試料의 調製

청국장의 제조는 徐⁽²¹⁾ 등의 方法에 따라 행하였다. 즉, 정선된 콩 9Kg을 취하여 15시간 침지한 후 1시간 동안 물배기를 행한 다음 스테인레스製 상자에 담아 증자(2Kg/cm², 75분간)한 후 50℃로 냉각하고, 여기에 미리 만들어진 *Bacillus natto* 種菌을 원료의 약 2% 정도 접종하여 35~40℃의 항온기에서 72시간 발효시켰다. 발효시킨 청국장 고오지에 원료의 7%에 해당되는 식염을 넣어 초피로 혼합하고 이를 상온에서 20일간 숙성시켜 청국장 제품을 제조하였다. 이와

같이 제조된 삶은콩, 청국장 고오지 및 청국장 제품 등 시료들을 李⁽⁴⁾의 方法에 따라 각각 냉동건조하고 이들을 분쇄하여 폴리에틸렌 필름 주머니에 담고 봉한후 -20℃의 냉동고에 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

一般成分 分析 및 蛋白質分解酵素의 力價測定

水分, 總糖, 還元糖, 粗纖維, 窒素化合物 등은 基準味噌分析法⁽⁸⁻¹¹⁾에 따라 행하였고, 蛋白質分解粗酵素液의 調製는 徐⁽²¹⁾의 方法으로, 그리고 蛋白質分解酵素의 力價測定은 Anson⁽⁶⁾ 및 萩原⁽⁷⁾의 方法에 따랐다.

脂質의 抽出 및 脂質成分의 劃分定量

總脂質은 냉동건조된 試料를 클로로포름-메탄올(2 : 1, V/V)로 추출하여 Folch 方法⁽¹²⁾에 의해 精製하였다. 정제한 脂質시료를 실리산 관 크로마토그래피(silicic acid column chromatography)⁽¹³⁻¹⁵⁾에 의해 中性脂質, 糖脂質 및 磷脂質로 分別하고 遊離脂肪酸은 中性脂質로부터 나트륨鹽의 형태로 분리하여 常法⁽¹⁶⁾에 準하여 酸性化 한 후 추출하였다.

糖脂質과 磷脂質은 얇은막 크로마토그래피(TLC)로 再劃分 하였는바, 이때 사용된 TLC plate는 미리 만들어진 200μm 두께의 Silica gel G(Merck Co., West Germany)였고, 전개 용매는 糖脂質의 분리에는 클로로포름-메탄올(110 : 40, V/V)을, 磷脂質의 분리에는 클로로포름-메탄올-물-18.4% 암모니아수(130 : 70 : 8 : 0.5, V/V/V/V)을 사용하였다. 糖脂質과 磷脂質내의 구성성분의 정량을 위하여 전개된 TLC plate를 증크롬산 칼륨 황산용액을 분무하여 105℃에서 20분간 발색시킨 후 Fiber Optic Scanner(Model 800, Kontes, U. S. A.)에 의해 분석하였다. 한편 분리한 各 脂質劃分の 脂肪酸組成은 前報⁽⁴⁾에 準하여 실시하였다.

結果 및 考察

一般特性 變化

청국장 醱酵과정중의 일반조성 및 단백질 분해효소의 활성등에 관한 변화는 Table 1과 같다. 즉, 總窒素는 삶은콩에서보다 醱酵熟成과정중 증가되었고 아미노態, 암모니아態 및 가용성 질소 함량은 급격한 증가 추세를 나타내고 있다. 그러나 水分과 粗纖維 함량은 다른 특성들의 증감에 비해 큰 변화를 나타내지 않았다.

이와같은 결과는 이전의 보고⁽¹⁸⁻²⁰⁾와 같은 경향이

Table 1. Changes in approximate chemical composition and protease activity during *Chungkookjang* fermentation

	Cooked Soybean	<i>Chungkookjang Koji</i> *	<i>Chungkookjang Product</i> **
Total nitrogen(%)	3.27	4.14	4.56
Amino type nitrogen(mg%)	18.94	387.70	789.15
Water soluble nitrogen(%)	0.470	1.015	1.270
Ammonia nitrogen(%)	0.0035	0.1280	0.1340
Total sugar(%)	4.98	3.91	3.57
Reducing sugar(%)	0.004	0.179	0.165
Crude fat(%)	12.07	12.01	9.58
Crude fiber(%)	6.72	7.04	6.98
Moisture(%)	53.81	52.09	52.12
Protease activity (tyrosine(g)/enzyme soln.(ml)	0.234	0.522	—

*Fermented for 3days with *Bacillus natto*

**Mixed with 7% salt and aged for 20 days after 3days fermentation

었고 일본의 納豆醱酵中の 成分變化와 서로 유사하였다.⁽²²⁾ 그리고 粗脂肪 함량 변화는 1차 발효 중에는 현저하지 않고 熟成 기간 중에 일반적으로 감소되고 있으며,⁽²¹⁾ 본 연구 결과에서도 동 기간중 9.58%로 감소됨을 알 수 있었다. 한편, 還元糖은 발효 결과 다소 증가되었고, 단백질 분해효소 활성은 발효 초기보다 말기에 더 높으며 이전 보고와⁽²¹⁾ 비슷한 범위에 있었다.

總脂質成分중 各劃分 組成

청국장 醱酵과정중 總脂質成分중 中性脂質, 遊離脂肪酸, 糖脂質, 磷脂質의 함량은 Table 2와 같다. 中性脂質이 전체의 88.8~92.1%로서 청국장 발효숙성중 다소 그 함량이 저하되고 있다. 그러나 遊離脂肪酸의 함량은 醱酵 및 熟成기간중 1.75%에서 4%이상으로 크게 증가하였고, 糖脂質 역시 미미하나마 증

가하는 경향이였다. 그리고 磷脂質은 1차 발효인 청국장 고오지 제조과정에서는 증가하였으나 숙성 후에는 감소 하였다. 청국장 總脂質成分중 中性脂質, 遊離脂肪酸, 糖脂質, 磷脂質의 組成比는 92.1:1.8:2.0:4.1이었다.

콩醱酵食品의 醱酵과정중 遊離脂肪酸의 증가현상은 된장⁽⁴⁾ 및 템페(tempeh) 등⁽²³⁾에서도 보고된 바 있으며, 이는 발효과정에서 형성된 油脂加水分解酵素가 크게 관여하였다고 판단된다. 그리고 청국장의 各劃分 組成比가 삶은콩의 그것과 다소 다른 것은 酵素의 역할에 菌體脂質의 영향도 있으리라 믿어진다.

磷脂質 및 糖脂質의 構成成分 組成

삶은콩과 숙성된 청국장에서의 磷脂質의 構成成分 組成은 Table 3과 같다. 즉, 포스파티딜 콜린(phosphatidyl choline) 및 포스파티딜 에탄올아민(phosph-

Table 2. Relative proportions of neutral lipids, free fatty acids, glycolipids and phospholipids of total lipids from cooked soybean and *chungkookjang*

(Unit : %)

	Cooked Soybean	<i>Chungkookjang Koji</i> *	<i>Chungkookjang Product</i> *
Neutral lipids	92.08	88.84	89.97
Free fatty acids	1.76	4.17	4.51
Glycolipids	2.04	2.15	2.33
Phospholipids	4.12	4.84	3.19

*See footnote in Table 1

Table 3. Relative proportions of phospholipids fraction from cooked soybean and chungkookjang product

	(unit : %)	
	Cooked soybean	Chungkookjang product
Lysphosphatidyl choline	3.2	1.2
Phosphatidyl choline	52.8	62.5
Phosphatidyl serine	2.3	1.0
Phosphatidyl inositol	12.5	3.9
Phosphatidyl ethanolamine	18.4	18.4
Others	10.8	13.0

atidyl ethanolamine) 이 전체 磷脂質의 70% 정도를 차지하고 있으며 그의 포스파티딜 이노시톨(phosphatidyl inositol), 포스파티딜 세린(phosphatidyl serine) 및 리소-포스파티딜 콜린 등을 함유하고 있다. 醱酵과정에서의 이들 성분의 변화는 현저하지는 않으나, 포스파티딜 이노시톨이 삶은콩에 비하여 청국장에서 더 낮았고 반면에 포스파티딜 콜린은 반대의 경향을 보였다. 이와같은 결과는 *Aspergillus oryzae* 를 이용한 된장발효에서 보인 양상¹⁾ 과는 다소 달랐으며, 이는 원료품종의 차이, 발효균주 및 발효방법 등의 차이에서 오는 것으로 판단된다.

한편, 糖脂質劃分の 構成은 Table 4 와 같이 디-갈락토실 디-글리세리드(digalactosyl diglyceride) 및 스테릴 글리코시드와 세레브로시드(steryl glycosides and cerebroside) 및 에스테르화 스테릴 글리코시드와 모노갈락토실 디-글리세리드(esterified steryl glycosides and monogalactosyl diglycerides) 등이 주

Table 4. Relative proportions of glycolipids fraction from cooked soyben and chungkookjang product

	(unit : %)	
	Cooked soybean	Chungkookjang product
Digalactosyl diglycerides	28.0	12.0
Steryl glycosides & cerebroside	25.0	28.0
Estrified steryl glycosides & monogalactosyl diglycesides	14.4	19.5
Others	32.1	40.5

요성분이었다. 이 가운데 디-갈락토실 디-글리세리드는 삶은콩(28%)보다 청국장(12%)에서 더 많았고 기타 성분에서도 다소 변화가 있으나 현저하지는 않았다. 콩식품의 발효 결과 디-갈락토실 디-글리세리드의 감소현상은 된장의 경우¹⁾에서도 주목되었다.

各 脂肪劃分の 脂肪酸 組成變化

삶은콩과 숙성된 청국장의 각 脂肪劃分の 脂肪酸 조성은 Table 5 와 같다. 삶은콩의 中性脂肪質에 있어서 주요 脂肪酸 성분은 리놀레산으로서 53.1%였고, 糖脂質의 주요 脂肪酸 성분은 팔미트산, 올레산, 리놀레산으로 각각 34.23%, 28.36%, 28.11%였으며 磷脂質에서는 팔미트산(52.56%)이 주성분임을 알 수 있었다. 그리고 遊離脂肪酸에서는 리놀레산(57.0%), 팔미트산(18.27%), 올레산(14.1%)이 주요 구성 지방산성분이었다. 한편, 숙성된 청국장에서 中性脂肪質의 주요 脂肪酸는 삶은콩에서와 같이 리놀레산(53.64%)과 팔미

Table 5. Fatty acid composition of lipid classes of cooked soybeans and chungkookjang products

Fatty acids	Cooked soybean				Chungkooking product			
	NL*	GL*	PL*	FFA*	NL*	GL*	PL*	FFA*
C 16 : 0	13.25	34.23	52.56	18.27	12.91	32.24	31.71	19.50
C 18 : 0	3.83	9.30	11.58	4.20	3.80	7.80	7.05	4.50
C 18 : 1	23.20	28.36	13.82	14.10	21.86	20.16	10.24	13.21
C 18 : 2	53.10	28.11	20.33	57.04	53.64	39.80	46.07	55.81
C 18 : 3	6.62	<0.1	1.70	6.41	7.80	<0.1	4.93	7.00

*NL : Neutral lipids
 GL : Glycolipids
 PL : Phospholipids
 FFA : Free fatty acids

트산(32.24%)이며 磷脂質 및 遊離脂肪酸에서도 리놀레산(46.07%)과 팔미트산(31.71%)이 주성분이었다.

醱酵과정중 磷脂質과 糖脂質에 있어서는 비교적 포화도가 높은 팔미트산, 스테아르산, 올레산 등의 함량이 감소한 반면(磷脂質의 팔미트산은 52.6%에서 31.7%로 감소), 불포화도가 높은 리놀레산과 리놀렌산의 함량이 증가(磷脂質의 리놀레산이 20.3%에서 46.1% 증가됨)하고 있는 것을 주목할 수 있으며, 이는 菌體脂質의 영향인지 또는 발효과정중 다른 機作이 관여하고 있는지는 앞으로 계속 검토되어야 할 것이다. 그러나 中性脂質 및 遊離脂肪酸 劃分에서는 醱酵熟成에 따른 脂肪酸組成에서의 큰 변화는 없는 듯 하다.

要 約

청국장 발효과정중에 일어나는 脂質成分의 變化를 규명하고자 삶은콩에 *Bacillus natto*를 接種, 3일간 발효시킨후 식염을 7% 첨가하여 20일간 熟成한 청국장을 만들고, 삶은콩, 청국장 고오지 및 청국장제품의 脂質에 관한 연구를 행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

삶은콩의 總脂質 함량중 中性脂質은 92.08%, 遊離脂肪酸은 1.76%, 糖脂質은 2.04%, 磷脂質은 4.12%이었으나, 醱酵熟成과정중 中性脂質이 감소하고 遊離脂肪酸 함량이 증가하였으며 糖脂質의 함량도 증가하는 경향을 나타냈고 磷脂質의 함량은 청국장 고오지 발효중에 증가하였다가 숙성기간중 감소하였다. 또한 磷脂質과 糖脂質劃分들의 醱酵熟成中的 구성성분의 변화에 있어서 특히 포스파티딜 이노시톨 및 포스파티딜 콜린의 변화가 주목되었고 또 다-갈락토실 디-글리세리드가 현저하게 감소되었다. 한편, 中性脂質 및 遊離脂肪酸들의 구성 脂肪酸중 주요성분은 리놀레산이었으며 糖脂質과 磷脂質에서는 팔미트산이었고 특히, 다른 脂質劃分에 비해 糖脂質에는 리놀렌산 함량이 거의 없는 것으로 나타났다. 醱酵熟成 결과 磷脂質 및 糖脂質劃分들에서 포화脂肪酸 함량이 감소한 반면 불포화도가 높은 脂肪酸의 함량은 증가하였다.

謝 辭

本研究는 文敎部 學術研究助成費 지원으로 수행되었으며, 이를 깊이 감사 드립니다.

文 獻

1. 吉田弘美, 梶本五郎; 榮養七食糧, 25, 415(1972)
2. Kiuchi, K., Ohta, T. and Ebine, H. : *J. Ferment. Technol.*, 53, 869 (1975)
3. 紫崎一雄, 木村繁昭: 日本食品工業學會誌, 16, 57 (1969)
4. 李淑熙, 崔弘植, 金昌湜: 韓國食品科學會誌, 14, 375(1982)
5. 曹哉統: 韓國醱酵食品研究, p. 80~82 (1980)
6. Anson, M. L. : *J. Gen. Physiol.*, 22, 79 (1938)
7. 萩原文二: 赤堀編, 酵素研究法, Vol. II, p. 240 (1956)
8. Japanese Association of Soy Sauce Technology: *Standard Methods of Soy-sauce Analysis* (1966)
9. 東京大學編: 實驗農藝化學(別卷), 朝倉書店, 東京, 157 (1961)
10. 東京大學編: 實驗農藝化學(下卷), 朝倉書店, 東京, p. 639 (1961)
11. 大亦正次郎, 川合美保子: 調味科學, 11, 181 (1968)
12. Folch, J., Lee, M. and Sloan-Stanly, H. S. : *J. Biol. Chem.*, 233, 69, (1955)
13. Lee, S. Y. and Shin, H. S. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 11, 291 (1979)
14. Price, P. B. and Parsons, J. G. : *Lipids*, 9, 561 (1974)
15. Parsons, J. G. and Price, P. B. : *Lipids*, 9, 805 (1974)
16. Mattick, L. R. and Lee, F. A. : *J. Food Sci.*, 24, 451 (1959)
17. Amenta, J. S. : *J. Lipid Res.*, 5, 270 (1964)
18. 朴啓仁: 韓國農化學會誌, 15, 93 (1972)
19. 朴泰濬, 曹惠鉉, 金浩植: 韓國農化學會誌, 2, 17 (1961)
20. 이철호: 韓國食品科學會誌, 8, 12 (1976)
21. 徐正淑, 李尚建, 柳明基: 韓國食品科學會誌, 14, 309 (1982)
22. 渡辺篤二, 海老根英雄, 太田輝夫: 大豆食品, 光琳書院, 東京, p. 132~133 (1971)
23. Wagenknecht, A. C., Mattick, L. R., Lewin, L. M., Hand, D. B. and Steinkraus, K. H. : *J. Food Sci.*, 26, 373 (1961)