

양조간장의 항산화작용 및 항산화성 물질에 관한 연구

문갑순, 최홍식*

인제대학 식품영양학과 *부산대학교 식품영양학과

Antioxidative Characteristics of Soybean Sauce in Lipid Oxidation Process

Gap-Soon Moon and Hong-Sik Cheigh*

Department of Food and Nutrition, Inje College, Kimhae

*Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan

Abstract

Antioxidative characteristics and it's related substances of fermented soybean sauce in lipid oxidation process were studied. Soybean sauce was prepared according to various periods of fermentation, and model systems were made of cooked ground meat with soybean sauce of various levels of combination (1/10,2/10,3/10,4/10,5/10 in system) and various fermentation periods (0,2,4,6 months). During the storage for 5 weeks at 6°C, antioxidative activities of soybean sauce in the systems were increased with the increase of concentration and fermentation period of soybean sauce. And also in the comparison of the antioxidative effect on the compositions of total phenol content, Maillard browning reaction products and free amino acids in the soybean sauces of the various fermentation periods, the browning products were considered as the major antioxidative substances in soybean sauce.

서 론

양조간장이 加熱牛肉의 지방질에 대해 강한 항산화 효과를 나타낸 것은 前報⁽¹⁾에서 보고한 바와 같다. 양조간장의 항산화작용을 나타내는 주요 원인 물질로는 아미노산이나 단백질 등의 질소화합물, phenol화합물, 그리고 갈색반응 물질 등으로 추정할 수 있다. 원료 대두(大豆) 속의 항산화물질에는 isoflavon과 flavonoid 등의 phenol물질이 알려져 있으며⁽²⁻⁵⁾, 대두단백질 및 여러가지 아미노산 등, 질소화합물의 역할이 이미 보고된 바 있다.⁽⁶⁻⁸⁾ 그리고 Maillard형 갈색반응 물질의 항산화작용에 대해서도 많은 연구가 행해진 바 있다.⁽⁹⁻¹³⁾

한편, 간장의 발효숙성 과정에서 원료(대두와 소맥) 단백질 및 탄수화물의 분해작용이 일어나고 따라서 펩티드, 아미노산 및 당등의 성분들이 생성되며, 아울러 Maillard형 반응 등에 의한 갈색물질들이 형성된다. 또한 숙성기간에 따라 phenol물질들도 용출되어 나오게 된다. 이들이 다같이 지방질의 항산화작용에 관여할 수 있을 것이며, 특히 Maillard형 반응의 관련 물질들의 항산화작용이 기대된다.

본연구에서는 양조간장과 가열우육의 model system을 조제하되, 양조간장의 농도(조합수준)를 달리하거

나 발효숙성 기간을 달리했을때 이들이 우육 지방질의 항산화성에 미치는 영향을 살펴보고, 아울러 양조간장의 항산화성과 관련이 있을 것으로 추정되는 유리 아미노산, 총phenol물질 및 갈색물질 등에 대하여 숙성기간별 변화 양상을 살펴보았으며, 이들 성분들과 항산화작용과의 관련성을 검토하였다.

재료 및 방법

가열우육과 양조간장의 model system조제
가열우육의 제조는 前報⁽¹⁾에 준하였으며 양조간장은 常法⁽¹⁴⁾에 따라 제조하였다. 즉 탈지대두와 밀을 6:4의 比로 혼합하되 탈지대두는 미리 수분 함량이 65%가 되도록 加水한 후 증자 냉각하였고, 밀은 볶아 3~4쪽으로 분쇄한 후 이들을 혼합하여 *Aspergillus oryzae* 종균을 무게비로 0.1%가 되도록 접종한 후 40°C의 국실에서 3일간 제균하였다. 이것을 출국하여 20보에 식염수에 메주와 부피비로 1:1이 되게 사일한 후 27°C에서 숙성·발효시켰다. 기간별로 숙성 발효시킨 생간장을 압착 여과한 다음 화입 및 여과를 행하여 시료간장으로 하였다.

가열우육과 양조간장의 model system의 조제도 前報⁽¹⁾에 준하였는 바, 다만 양조간장의 농도별 조합비율

은 6개월 숙성간장을 Table 1과 같이 조제하였고, 발효숙성 기간별 조합비율은 숙성기간이 0, 2, 4, 6개월인 간장을 Table 2와 같이 조제하였다.

항산화성의 측정 방법

위와 같이 조제한 model system을 6°C에서 5주간 저장하면서 매주별 TBA가 를 Tarladgis등⁽¹⁵⁾의 방법으로 측정하여 항산화성을 관찰하였다.

유리아미노산 함량의 분석 방법

발효숙성 기간별 양조간장 5ml를 정량하여 trichloroacetic acid로 단백질을 침전시키고 유리아미노산을 추출, 단리, 농축 한 후 citrate buffer(pH 2.20)에 용해시켜 아미노산 자동분석기(Hitachi model 835-50)를 사용하여 유리아미노산을 분석하였다.⁽¹⁶⁾

갈색도, 환원력 및 총phenol량의 측정

갈색도는 간장의 100배 희석액에 대한 440nm에서의 흡광도로 나타내었다. 환원력은 potassium ferri-cyanide reagent법에 의해 측정하였으며,⁽¹⁷⁾ 총phenol량의 측정은 양조간장 0.1ml씩을 2% 탄산나트륨 용액에 섞고, 2분 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 0.1ml를 가하여 실온에서 30분간 incubation시킨 다음 750nm의 흡광도를 측정하였다.⁽¹⁸⁾

항산화성 관련 요인들간의 상관관계 분석

발효숙성 기간별 양조간장의 항산화력과 관련된 요인들 즉, 유리아미노산의 양, 갈색도, 환원력, 및 총phenol량과의 상관관계를 분석 검토하였다.⁽¹⁹⁾

결과 및 고찰

양조간장의 농도와 항산화효과

양조간장의 함유 농도를 달리했을 때 가열유육 지방질의 산화에 미치는 항산화 효과를 관찰하기 위하여, model system에서 간장의 조합비율을 달리하여 6°C에서 5주간 저장하면서 TBA의 변화를 살펴 본 결과는 Fig. 1과 같다. 즉, CGM-S-2(양조간장 10%수준)의 TBA가는 5주후 1.32로서 가장 높은 값을 보였으며, 대체로 양조간장의 농도가 높을수록 항산화 효과가 높은 경향을 나타내어 CGM-S-10(양조간장 50%수준)의 경우 5주후의 값이 0.55에 불과하여 이는 양조간장 속의 항산화효과를 가진 물질의 농도가 높아지기 때문으로 보인다. 그러나 CGM-S-2의 TBA가가 1.32로 전보⁽¹⁾에서 보고한 CGM만의 TBA가 8.97에 비하면 대단히 낮은 값을 보인 점을 고려할때, 소량의 간장을 첨가하여도 상당한 항산화효과를 나타내고 있음을 알 수 있다. 따라서 육제품의 냉장 저장시에도 상당한 산패를 일으킨다는 이전의 보고를⁽²⁰⁾ 고려할 때, 육제품에 간장을 일정 수준 조합할 경우 냉장 저장시에 보다

Table 1. Formulation of samples by soybean sauce concentration

Code	Formulation ^{a)}
CGM ^{b)} -S-2	CGM 10g + (soybean sauce 2 ml + water 8 ml)
CGM-S-4	CGM 10g + (soybean sauce 4 ml + water 6 ml)
CGM-S-6	CGM 10g + (soybean sauce 6 ml + water 4 ml)
CGM-S-8	CGM 10g + (soybean sauce 8 ml + water 2 ml)
CGM-S-10	CGM 10g + (soybean sauce 10 ml only)

a) Six month fermented soybean sauce was used

b) Cooked ground meat

Table 2. Formulation of samples by fermentation period of soybean sauce

Code	Formulation
CGM-0MS	CGM 10g + (0 month fermented soybean sauce 4ml + water 6ml)
CGM-2MS	CGM 10g + (2 month fermented soybean sauce 4ml + water 6ml)
CGM-4MS	CGM 10g + (4 month fermented soybean sauce 4ml + water 6ml)
CGM-6MS	CGM 10g + (6 month fermented soybean sauce 4ml + water 6ml)

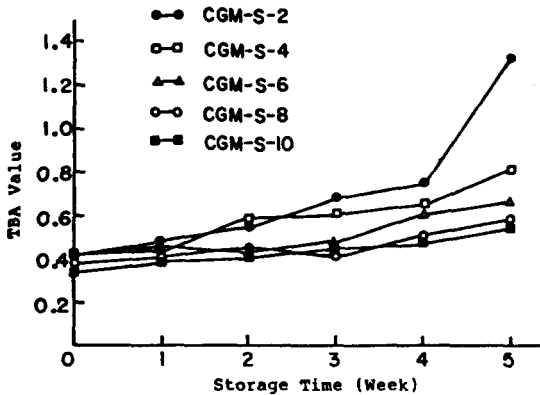


Fig. 1. Changes in TBA value of samples with different level of soybean sauce during the storage at 6°C

높은 산화안정성을 나타낼 수 있을 것으로 판단된다.

발효숙성 기간에 따른 양조간장의 항산화작용

발효숙성 기간별 양조간장의 가열우육에 대한 항산화효과를 관찰하기 위해, 발효숙성 기간이 다른 양조간장을 가열우육과 함께 model system을 조제한 후 이를 6°C에서 5주간 저장하면서 TBA가를 측정된 결과는 Fig. 2 와 같다.

그림에서와 같이 TBA가는 저장기간 중 서서히 증가하는 경향이였으며 5주 저장 후의 TBA가는 숙성초일(初日)의 양조간장을 사용한 것(CGMS-OMS)이 2.81로서 가장 높았고, 2개월 숙성 간장을 사용한 CGM-2MS에서는 1.65였으며 4개월 및 6개월 숙성시킨 간장을 사용한 CGM-4MS 및 CGM-6MS에서는 모두 1.0이하였다. Shinhuber⁽²¹⁾는 TBA가 0.5-1.0의 범위가 산패

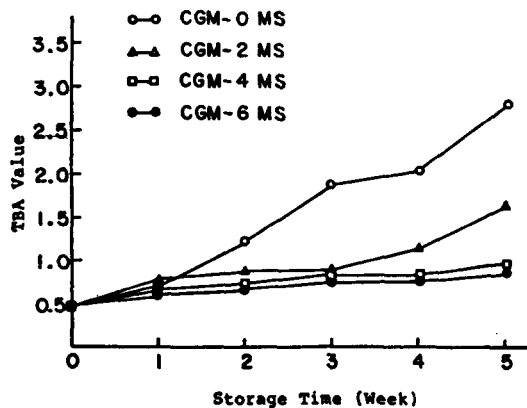


Fig. 2. Changes in TBA value of samples with different fermentation period of soybean sauce

취에 대한 역치라고 하였던 바 4개월 이상 발효숙성시킨 양조간장의 이용은 산화 억제면에서 매우 의미있는 결과라고 할 수 있다. 그러나 TBA가가 가장 높았던 숙성초일의 간장을 사용한 경우와 CGM만의 결과⁽¹⁾와 비교해보면, 숙성초일의 TBA가가 훨씬 낮아, 상당한 항산화물질이 숙성초일의 양조간장 속에도 존재함을 알 수 있었다.

발효숙성 기간에 따른 양조간장의 유리 아미노산 변화와 항산화성

발효숙성 기간별 양조간장의 유리아미노산 분석 결과는 Table 3과 같다. 즉 숙성초일의 유리아미노산들의 함량은 극히 적었으나 숙성 2개월일때 그 함량이 크게 증가하여 glutamic acid가 가장 많았으며 proline, arginine, leucine, phenylalanine 등의 순으로 많이 함유되어 있었다. 그리고 4개월 숙성시에 총유리 아미노산 함량이 가장 많았고, glutamic acid, proline, leucine, arginine, phenylalanine, valine, lysine, aspartic acid 등의 순으로 많이 함유되어 있었으며, 6개월 숙성

Table 3. Free amino acid content of soybean sauce with different fermentation period (mg%)

Amino acid	Fermentation period(month)			
	0	2	4	6
Lys	12.5	194.0	222.0	262.0
His	8.3	66.0	41.2	26.1
Arg	19.9	233.0	269.0	96.9
Asp	11.7	136.0	207.0	82.4
Thr	8.8	174.0	174.0	168.0
Ser	7.4	144.0	159.0	208.0
Glu	31.7	557.0	450.0	128.0
Pro	27.3	311.0	359.0	368.0
Gly	5.3	62.9	67.7	31.5
Ala	12.2	167.0	165.0	150.0
Cys	12.6	41.6	36.6	29.0
Val	9.5	170.0	224.0	265.0
Met	5.8	56.1	68.4	73.0
Ileu	3.3	136.0	161.0	217.0
Leu	5.3	223.0	272.0	352.0
Tyr	7.5	184.0	112.0	62.4
Phe	13.6	207.0	238.0	190.0
Total free amino acid	202.7	3062.6	3225.9	2709.3

시에는 총유리아미노산의 양이 숙성 2개월 및 4개월 보다는 현저히 줄어들었으나 proline, leucine, valine, lysine, isoleucine, serine의 순으로 많이 함유되어 있었다. 이와 같은 결과는 함량의 차이는 다소 있으나 전반적인 경향은 이전의 연구 결과들과 유사하였고,⁽²²⁻²⁴⁾ 우리나라 재래식 양조간장의 결과⁽²⁵⁾와도 proline함량 외에도 비슷한 경향을 보였다.

발효숙성 기간별 양조간장의 총유리아미노산의 함량은 숙성 4개월 간장에서 최고치를 나타냈었다가 그 후에는 감소하는 것으로 나타났는데 이와 같은 결과를 한국 재래식 간장 발효 또는 일본 간장 발효에서 보고된 결과⁽²⁶⁻²⁹⁾와 비교할 때 최고치에 달하는 숙성기간은 다소 다르나 전반적인 경향은 서로 유사하였다.

한편, 아미노산이 지방질의 항산화성에 관련이 있음은 이미 보고된 바 있다. Marcuse⁽⁸⁾는 histidine과 tryptophan의 강한 항산화효과를 관찰하였고, Yamaguchi⁽³⁰⁾는 19개의 아미노산 중 tyrosine과 methionine, tryptophan이, 유⁽³¹⁾는 methionine과 tryptophan이, 그리고 滿用⁽³²⁾과 Karel⁽³³⁾은 tryptophan, tyrosine, histidine이 현저한 항산화효과를 나타낸다고 각각 보고한 바 있다. 본 연구에서는 이들 항산화성 아미노산 중 methionine은 발효숙성이 진행되면서 유리상태의 함량이 증가하였으나 histidine, tyrosine 그리고 총유리아미노산 등은 일정 기간 이후 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 앞에서 발효숙성 기간이 긴 양조간장일수록 항산화성이 컸다는 사실과 비교해보면, 간장 중의 여러 아미노산이 간장의 항산화성에 일부 작용을 하겠으나, 간장의 항산화효과의 가장 중요한 원인이 될 수는 없는 것 같다.

발효숙성 기간에 따른 주요 항산화요인들의 변화와 항산화성

양조간장에 있어서 항산화성 관련 요인으로 추정되는 총phenol량, 비효소적 갈변반응 생성물, 그리고 환원력에 대한 발효숙성 기간별 변화 양상은 Table 4와 같다. 양조간장의 총phenol량에 대한 750nm에서의 흡광도는 숙성초일에 0.468이었고, 숙성 4개월 간장에서 0.899를 나타내어 최대치를 기록하였다가 6개월 숙성 간장에서 0.799로 다소 감소하였다. Hashiba⁽³⁴⁾에 의하면 간장중의 polyphenol화합물의 양은 약 12ppm 정도로 소량 존재한다고 보고하였으며, 숙성 6개월 간장에서 총phenol량이 감소했다는 점등을 미루어 보아서 간장중의 phenol성 화합물이 차지하는 항산화효과는 상대적으로 크다고 할 수 없을 것 같다.

한편, 간장의 갈색도는 숙성초일에 0.003으로서 거

Table 4. Changes of total phenol content, color intensity and reducing power of soybean sauce with different fermentation period

Fermentation period(month)	Total phenol content*	color intensity**	Reducing power***
0	0.468	0.003	0.056
2	0.825	0.259	0.218
4	0.899	0.315	0.294
6	0.799	0.395	0.319

* Absorbance at 750 nm

** Absorbance at 440 nm

*** Absorbance at 420 nm

의 색깔이 없었으나 간장의 숙성 기간이 증가함에 따라 비례하여 환원력과 함께 갈색도 역시 증가하였다. Hashiba⁽³⁴⁾은 간장과 동일한 아미노산 함량을 가진 model system을 6개월간 반응시켰을 때, 숙성기간에 따라 갈변도도 증가하였으며, 갈변물질의 환원력과 갈색도가 일치한다고 하였다. 그리고 간장 중에는 여러 가지 종류의 당류가 함유되어 있고, 대체로 발효숙성 과정에서 이들 유리당과 아미노산 등의 질소화합물들과의 상호반응에 의해서 melanoidin이 생성되며, 따라서 갈색화 현상이 일어나고 유리상태의 당과 아미노산이 감소된다고 알려지고 있다.⁽³⁵⁻³⁹⁾ 또한 melanoidin 색소성분의 환원력은 reductone 구조에 기인하므로 이것이 지방질산화의 억제작용과 밀접한 상관이 있다고 한다.⁽³⁰⁾ 따라서 간장 속의 melanoidin색소 성분도 환원력을 가지고 있을 것이며, 이것이 항산화작용과 관련있을 것으로 여겨진다. Hashiba⁽³⁴⁾도 앞의 model system에서 숙성기간에 따라 갈색도 증가와 더불어 환원력도 증가하여 갈변물질이 환원력과 갈색도 사이의 상관관계가 높음을 암시한 바 있다. 본실험에서도 총phenol량은 숙성기간이 증가함에 따라서 계속 증가하지 않았으나 갈색도와 환원력은 계속 증가하고 있어 앞에서 발효숙성 기간이 긴 양조간장에서 가열유육에 대한 항산화성이 컸던 점과 비교해볼 때 양조간장의 항산화성은 melanoidin 색소성분의 영향이 클 것으로 생각된다.

항산화성 관련 요인간의 상관성

저장 기간에 따른 양조간장 중의 항산화성 관련 요인들과 항산화력과의 관계를 알기위하여, 발효숙성 6개월 양조간장과 가열유육과의 model system을 6°C에서 5주간 저장하면서 TBA가와의 상관관계(상관계수)

Table 5. Coefficient of corelation between TBA value(TBA) and total phenol content (TPC), color intensity(CI) and reducing power(RP) during the storage 6°C for 5 weeks

Week	TPC/TBA	CI/TBA	RP/TBA
1	+0.24	-0.04	-0.09
2	-0.93	-0.99	-0.99
3	-0.97	-0.95	-0.95
4	-0.95	-0.98	-0.99
5	-0.91	-0.98	-0.99

Model system "CGM-6MS" was used (See Table 2)

를 Table 5에 나타내었다. 즉 저장 1주일에서는 항산화력과 간장 속의 성분 요인들과의 상관성이 거의 나타나지 않았으나, 2주일 후에는 간장의 항산화성과 관련 성분 요인들 사이에는 높은 부의 상관관계를 나타내었다. 총phenol량과 항산화성 사이에서도 초일의 간장을 제외하고는 높은 부의 상관관계가 보였으나 저장기간의 증가에 따라 다소 낮아졌다. 그러나 melanoidin색소성분과 관련된 갈색도와 환원력은 다같이 초일에서는 낮았으나 저장기간에 따라 매우 높은 부의 상관관계를 보여주었다. 이것은 양조간장의 중요 항산화성 관련 물질은 melanoidin 색소성분일 것이라는 앞의 주장을 뒷받침하고 있었다.

요 약

가열우육과 양조간장의 model system을 조제한 후 6°C에서 5주간 저장할 때, 우육지방질에 대한 양조간장의 항산화효과를 살펴보았다. 그 결과 양조간장의 조합비율을 1/10, 2/10, 3/10, 4/10, 5/10수준으로 달리 했을 때 그 비율이 높을수록, 그리고 발효속성기간을 0, 2, 4, 6개월로 달리한것들을 조합했을때 숙성기간이 긴 것일수록 항산화효과가 크게 나타났다. 그리고 양조간장의 항산화효과의 원인으로 추정되는 유리아미노산 함량, 총phenol량과 Maillard형 갈색반응 물질 등에 대하여 숙성기간별 변화양상을 관찰하고 또 항산화성과의 상관성을 살펴보았다. 그 결과 갈변반응 물질이 가장 유력한 항산화효과의 원인 물질로 추정되었으며, 갈변물질과 환원력은 양조간장의 발효속성 기간에 따라 항산화성과 높은 상관관계를 보였다.

감사의 말

본 연구는 농림문화재단의 연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

1. 문갑순, 최홍식 : 한국식품과학회지, 18, 313 (1986)
2. Pratt, D.E.: *J. Food sci.*, **37**, 322(1972)
3. Hayes, R.E., Bookwalter, G.N. and Barley, E.B. : *J. Food Sci.*, **42**, 1527(1967)
4. Pratt, D.E. and Birac, P.M.: *J. Food Sci.*, **44**, 1720(1979)
5. Pratt, D.E.: *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Plenum Press, New York, p. 283(1980)
6. Bishov, S.J. and Henick, A.S.: *J. Food Sci.*, **37**, 873(1972)
7. Bishov, S.J. and Henick, A.S.: *J. Food Sci.*, **40**, 345(1975)
8. Marcuse, R.E.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 97(1962)
9. Findlay, J.D., Higginbottom, C., Smith, J.A.B. and Lea, C.H.: *J. Dairy Res.*, **14**, 378(1946)
10. Mottern, H.H., Spadaro, J.J. and Gallo, A.S.: *Food Tech.*, **23**, 567(1969)
11. Iwansky, H. and Franzke, C.: *Dtsch. Lebensmittel*, **52**, 129(1956)
12. Griffith, J. and Johnson, J.A.: *Cereal Chem.*, **34**, 159(1957)
13. Hodge, J.E. and Rist, C.E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 316(1953)
13. Hodge, J.E. and Rist, C.E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 316(1953)
14. 佐藤信 : 食品의 熟成, 光琳, 東京, p.237(1984)
15. Tarladgis, B.G., Watts, B.M. and Yunathan, M.T.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **37**, 44(1960)
16. 문갑순 : 부산대학교 대학원 박사 학위논문(1987)
17. KiM, S.B.: *Ph.D. Thesis*, Tokgo Univ., Dept. of Agric. Chem. (1984)
18. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E.: *J. Food Sci.*, **43**, 557(1978)
19. Larmond E.: *Methods for Sensory Evaluation*, Canada Dept. of Agr., Ottawa(1970)
20. Green, B.E.: *J. Food Sci.*, **34**, 110(1969)
21. Shinhuber, R.O. and Yu, T.C.: *Food Tech.*, **12**, 9(1958)

22. 角田俊直, 石塚善太郎, 宮澤 滋, 田林學造: 日本農藝化學會誌, **26**, 477(1952)
 23. 石上有造 石川 造, 藤原耕三, 上田隆藏: 日本酸酵工學誌, **43**, 115(1965)
 24. Lee, C.H.: Korean J. Food Sci. and Tech., **15**, 210(1973)
 25. Kim J.K. and Kim C.S.: *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, **23**, 2(1980)
 26. 박계인, 박경태: 국립공업연구소보고서, **21**, 197(1971)
 27. 김종규: 경상대학 논문집, **17**, 177(1978)
 28. Chang, C.H.: *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, **6**, 8(1965)
 29. 鈴木 梅太郎: 日化總, **3**, 114(1910)
 30. Yamaguchi, N.: *J. Food Sci. and Fechnol.(Japan)*, **18**, 313(1971)
 31. 유병진: 부산수산대학 박사학위논문(1985)
 32. 滿用久輝, 安本教傳, 岩見公和: 營養口 食糧, **91**, 210(1966)
 33. Karel, M., Tannenbaum, S.R., Wallace, D.H. and Maloney, H.: *J. Food Sci.*, **31**, 892(1966)
 34. Hashiba, H., Okuhara, A. and Iguchi, N.: *Maillard Reactions in Food, Chemical, Physiological and Technological Aspects*, Pergamon Press, Oxford, p.93(1981)
 35. 市川邦介: 酸酵工業, **33**, 260(1955)
 36. 濱田麻生: 酸酵工業, **34**, 407(1956)
 37. 麻生 清: 酸酵工業, **37**, 145(1959)
 38. Chang, C.H.: *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, **7**, 35(1966)
 39. Kim, S.D., Do, J.H. and Oh, H.I.: *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, **24**, 161(1981)
-
- (1987년 7월 20일 접수)