

## 김치 발효중 Aspartame의 분해

유주현 · 유효상 · 김명희 · 유행준 · 문동상 · 황규인  
연세대학교 식품공학과

### Changes of Aspartame during the Fermentation of Kimchi

Ju-Hyun Yu, Hyo-Sang Ryou, Myeong-Hee Kim  
Haeng-Jun Yoo, Dong-Sang Moon and Kyu-In Hwang

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

#### Abstract

To examine the potential of APM as the sweetener of Kimchi, the change of APM (0.1%) added to Kimchi was monitored during the fermentation of Kimchi at 25°C. The content of APM added to Kimchi was increased to the extent of 20% after 20hrs by being decomposed into aspartylphenylalanine and phenylalanine. The decomposition degree of APM during the fermentation was only below 10% caused by the joint effects of lactic acid bacteria and pH and was disclosed as mainly led the reaction of enzymes contained in the raw chinees cabbage. The decomposition of APM was inhibited by increasing the concentration of NaCl.

Key words: APM(aspartame), Kimchi fermentation.

#### 서 론

1965년 Morley 등에 의해 발견된 aspartame<sup>(1)</sup>은 설탕에 비해 감미도가 150-200<sup>(2-3)</sup>배로 알려진 dipeptide sweetner<sup>(3)</sup>로서 두 개의 아미노산으로 구성된 L-aspartyl-L-phenylalanyl-1-methyl ester이다. 이 물질은 생체내에서 독성이 없는 것으로 알려져 있으며 dry mixes, cold breakfast cereals, chewing gum, pudding gelatine 및 탄산음료 등에 사용되고 있다. 그러나 가공식품에 사용시 pH 및 온도<sup>(4)</sup>에 대한 안전성이 문제가 되어 있다.

pH와 온도에 따른 aspartame(APM)의 분해는 1차 반응속도로 분해되는 것<sup>(5)</sup>으로 알려져 있으며<sup>(6)</sup>, 안정된 pH 범위는 2.5-5.0으로 알려져 있다<sup>(4)</sup>.

Aspartame이 직접 가수분해 되어 생기는 분해물에는 aspartic acid와 phenylalaninemethylester가 있고, 그 외에 dipeptide인 aspartyl-phenylalanine, aspartic acid, phenylalanine 및 환상의 3-carboxy-methyl-6-benzyl-2,5-dioxo-piperazine (Diketopiperazine)이 있다. 또한 1984년 Prudel 등은 aspartame의 분해물에는 주로 aspartylphenylalanine(AP

과 diketopiperazine (DKP)이 있으며, pH가 높아지면 DKP량은 증가하고, AP량은 감소한다고 발표하였다 (Fig. 1).

김치에는 2% 정도의<sup>(7)</sup> 설탕을 첨가하는 경우가 있는데 이 경우 aspartame을 설탕 대신 사용할 수 있는지 알아보기 위하여 본 연구를 수행하였다.

#### 실험재료 및 방법

##### Aspartame 용액의 조제

Aspartame 0.1%를 증류수에 녹인 후 남아 있는 미량을 ultrasonication 하여 완전히 용해시켜서 사용하였다.

##### 김치담금

배추를 10% NaCl 용액에 13시간 동안 절인 후 깨끗이 씻고, 물을 뺀 후 1-2cm 크기로 잘라서 70% 되게 넣고 무우 20%, 새우 젓 2%, 소금 0.5% 고추가루 3%, 파 3%, 생강 0.5%, 마늘 1%를 첨가한 다음 잘 혼합하여서 담금한 후 실온에서 발효시켰다.

##### 젖산균 배양

Sucrose 3%, soy sauce 1%, vegetable extract 10%로 만든 A 배지와 A 배지에 0.2%의 yeast extract와 0.2%의 peptane을 첨가해서 만든 B 배지 50ml를

Corresponding author: Ju-Hyun Yu, Department of Food Engineering, Yonsei University 134, Shinchondong, Seodaemun-gu, Seoul 120-749

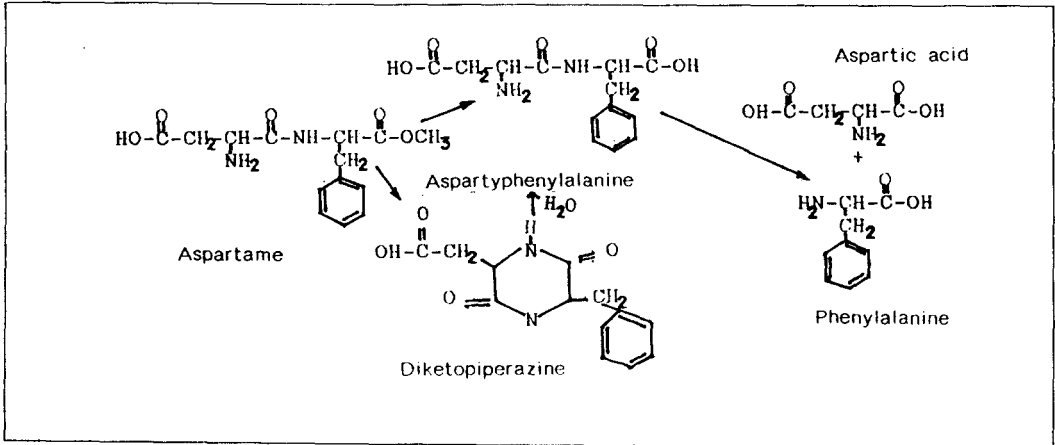


Fig. 1. Typical chemical reactions showing the conversion of aspartame to nonsweet compounds.

100ml 삼각 플라스크에 넣고, 0.1% APM 을 첨가한 후 121°C에서 5분간 살균하였으며, 배양된 종균을 각각 2% 접종하고 30°C에서 72시간 정치 배양하였다. 실험에 사용된 젖산균은 *Leuconostoc mesenteroides* (KFCC 25471), *Lactobacillus brevis* (KFCC 25464), *Lactobacillus plantarum* (KFCC 11322), *Lactobacillus acidophilus* (KFCC 12731), *Streptococcus lactis* (KFCC 32406)이었다<sup>(8-11)</sup>.

**배추즙의 제조**

배추를 10% NaCl 용액에 13시간 동안 절인 후 깨끗이 씻고, 물을 뺀 후 1-2cm 크기로 절단하고, 이 조각들을 ice bath에서 균질화 시킨 후, 여과하여 배추즙을 만들었다. 이 배추즙 중에 있는 효소를 변성시키기 위하여 120°C서 15분간 가열처리하였다.

**APM 과 그 분해물의 정성, 정량**

APM 과 AP, DKP, PA 의 정성 정량분석은 high performance liquid-chromatography(HPLC)<sup>(12)</sup>을 사용하였고, 그 조건은 다음과 같았다. HPLC는 Beckman model M 110B pump, Beckman Ultrasphere ODS 컬럼 (10µm, 4mm×25cm I.D C18-reversed-phase)을 사용하였으며, eluent의 조성은 0.15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : CH<sub>3</sub>CN=85 : 15(v/v, pH 3.5)였다. 시료는 214nm에서 검출하였다.

**결과 및 고찰**

**김치발효중 Aspartame 의 분해**

김치발효중 aspartame 의 변화를 연구하기 위하여 김치를 담글 때 배추에 aspartame 을 0.1% 첨가하여 25°C에서 자연발효 시켰다. 1시간 발효시킨 김치와 30시간 발효시킨 김치 추출액을 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 2와 같았다. 발효 1시간된 김치 추출액과 30시간된 김치추출액의 chromatogram 을 비교하여 보면, APM 이 현저하게 감소되었으며, 미량 함유된 DKP도 감소되었다. 반면, PA 가 현저하게 증가하였다. 이 결과로부터 APM 이 김치발효 중에 변화한다는 것을 알 수 있었다.

김치 발효중 APM 의 경시적 변화를 살펴본 결과 발효시간이 증가되면서 김치의 pH는 중성에서 산성으로 변화되어 발효 50시간 후에는 pH가 4.0까지 강하되었다. 또한 김치 담금시 첨가된 APM은 발효 20시간 경과 후 까지 급격히 감소하여 80% 정도가 분해 되었으며, 그 후는 변화가 적었다. 반면 aspartylphenylalanine은 발효 15시간까지 급상승하고, 그후부터는 감소하는 경향이었고 phenylalanine은 계속 증가하는 경향을 나타냈다 (Fig. 3). 이 결과로부터 김치 발효중에 APM은 1차적으로 PA로 분해되고, 2차적으로 PA와 ASP으로 분해된다고 생각할 수 있다.

또한 가공식품에 사용되었을 때 APM의 안정성은 영향을 받는다. APM이 김치발효중 감소하는 것은 김치의 pH 변화에 따른 영향 혹은 젖산균이 APM을 영양원으로 이용하거나, 미생물 효소에 의한 분해, 배추 흡착 또는 배추 중에 존재하는 효소에 의하여 일어난다고 생각되

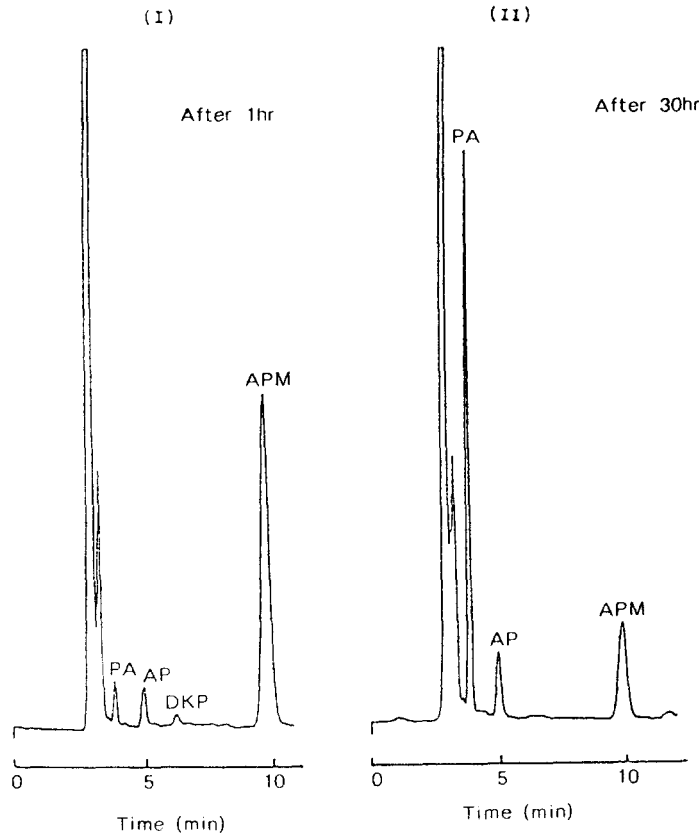


Fig. 2. Comparison of decomposition degree of aspartame by fermentation for 1 hr(I) and 30 hr(II).

는데 그 원인을 규명하기 위해 아래와 같이 연구하였다.

젖산균 배양에 의한 APM의 변화

젖산균에 의하여 APM이 분해되는 지를 알아보기 위하여 젖산균 배지에 APM을 0.1% 첨가하여 표준 젖산균 *St. lactis*, *Leu mesenteroides*, *Lac. breris*, *Lac. plantarum*을 혐기 조건하에서 단독 또는 혼합배양하여 균의 생육과 APM의 변화를 분석하였다(Fig. 4, 5). 이들 젖산균은 배양시간이 경과됨에 따라 균이 생육하면서 산을 생성하여 pH가 강하하였다. 특히, *Leu. mesenteroides*는 다른 젖산균에 비하여 균의 생육속도와 산의 생성속도가 빨랐다. 젖산균 배지에 APM 0.1%를 첨가하여 젖산균을 배양하여 경시적으로 발효중의 APM의 잔존량을 측정하였다. 이들 젖산균이 72시간 생육하는 동안 APM이 94% 이상 잔존되어 있었으며 그중에서도 5가지 젖산균을 혼합배양한 배지에서 잔존량이 가장 적었다. 이와같이 젖산균을 배양하는 동안 APM이 5% 이하

감소한 점으로 미루어 볼 때 김치 발효중 APM이 감소하는 현상은 젖산균에 의해 자화되기 때문은 아닌 것으로 생각할 수 있다.

pH, 온도, NaCl이 APM의 안정성에 끼치는 영향

APM의 안정성은 pH와 온도에 영향을 받는다고 한다(Fig. 6, 7). 0.1% APM 용액의 pH를 다르게 조절하고 이 용액을 25°C에 저장하면서 APM의 분해정도를 분석하였다. pH 6.2 용액에서 분해속도가 제일 빠르고 50시간에 70% 이상 감소되었다(Fig. 6). 그리고 pH가 산성쪽 용액으로 될 수록 분해속도가 늦고 pH 5.5 이하에서의 APM이 분해된 것은 5% 이하였다. 이와 같은 결과는 Prudel 등<sup>(19)</sup>의 결과와 유사하다. 이러한 결과로부터 APM 용액에 젖산균을 배양하였을 경우, APM량이 감소한 것은 젖산균에 의한 것이 아니라 pH 변화에 의해 생긴 분해라 할 수 있다.

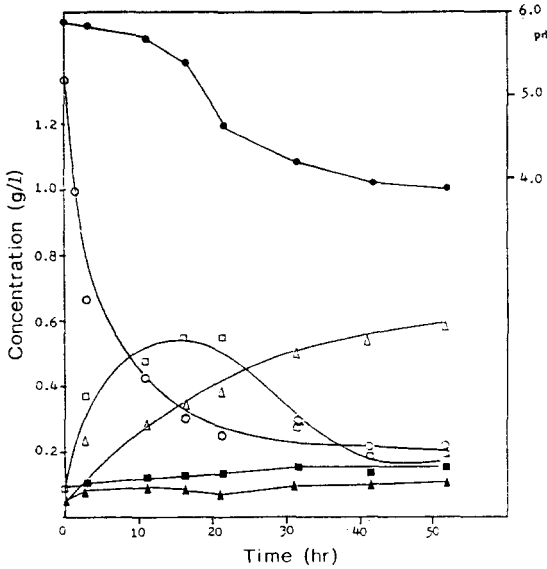


Fig. 3. Decomposition of aspartame during Kimchi fermentation at 25°C.

- : aspartame, △—△: phenylalanine
- : aspartylphenylalanine
- ▲—▲: phenylalaninecontrol
- : aspartylphenylalaninecontrol
- : pH

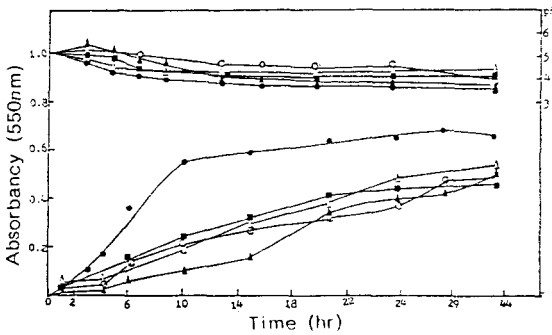


Fig. 4. Growth curves of some typical lactic acid-producing bacteria in 0.1% APM-containing medium.

- : *Leu. mesenteroides*
- : *Lac. brevis*
- ▲—▲: *Lac. plantarum*
- △—△: *St. lactis*
- : Mixed culture

온도의 영향

배추즙에 0.1%의 APM을 첨가하고, 15°C, 25°C, 35°C에서 30시간 반응시키고 경시적으로 APM의 잔존량을 측정 한 결과, Fig. 7과 같았다. APM은 반응 5시

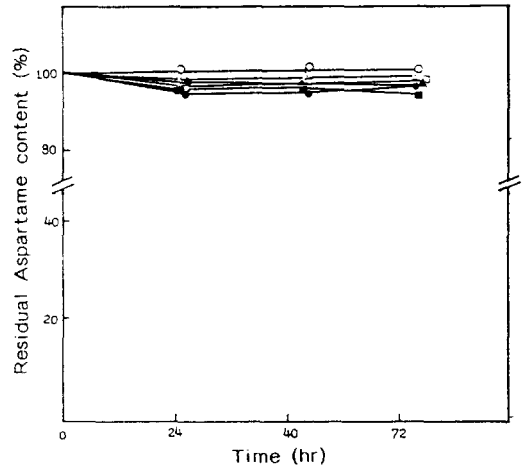


Fig. 5. Comparison of decomposition degree of APM by some typical lactic acid bacteria.

- : *Leu. mesenteroides*
- △—△: *Lac. acidophilus*
- : *Lac. plantarum*
- ▲—▲: *Lac. brevis*
- : *Str. lactis*
- : Mixed culture

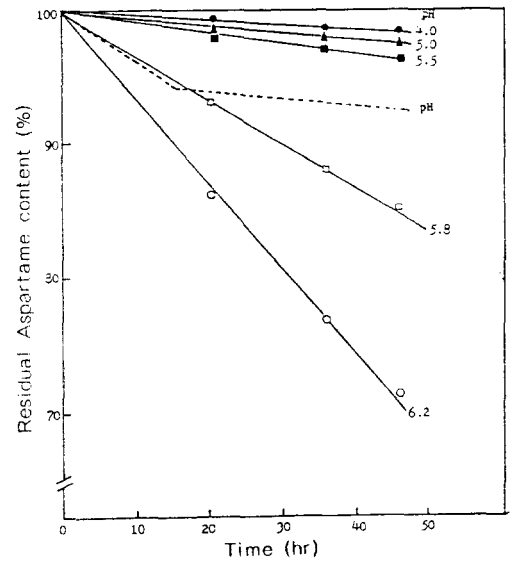


Fig. 6. Stability of aspartame in aqueous buffer at various pH values upon storage at 25°C.

- : pH 4.0
- : pH 5.5
- : pH 6.2
- ▲—▲: pH 5.0
- : pH 5.8

간이 되었을 때 70% 이상이 감소하였으며, 반응온도가 낮을 수록 속도가 느린 것으로 나타났다(Fig. 7).

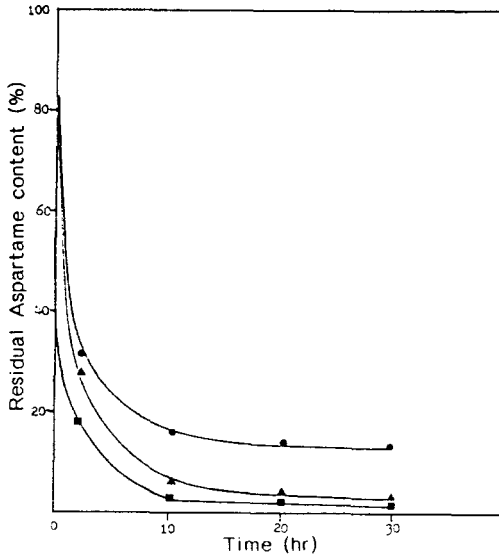


Fig. 7. Change of aspartame in cabbage extract during storage at various temperature.

●—●: 15°C    ▲—▲: 25°C    ■—■: 35°C

**NaCl 농도의 영향**

김치를 만들 때 배추에 식염을 첨가한다. 배추즙에 농도가 다르게 NaCl을 첨가하여 10시간 정치시킨 다음 APM의 잔존량을 측정하였다. APM은 반응 10시간이 되었을 때 식염을 첨가하지 않은 추출액 중의 잔존량이 5% 미만이었다. 그러나 식염농도가 높을 수록 잔존량이 많았다(Fig. 8). 이 결과는 배추 중에 있는 어떠한 물질에 의한 APM의 분해속도가 식염의 농도가 높으면 억제된다고 생각할 수 있다.

**야채즙의 가열처리**

이상의 결과로부터 김치 발효중 APM이 분해되는 것은, 젖산균에 의한 자화 및 주어진 pH 또는 온도에서의 파괴 또는 식염에 의한 것이 아니라고 생각할 수 있다. 그 외에 영향을 주는 인자는 배추 중에 있는 효소의 작용에 의하여 분해되거나, 배추 자체로 흡착되어 외견상 감소되는 것처럼 나타나는 것 두가지를 생각할 수 있다. 그러므로 절단한 배추를 가열처리한 것과 하지 않은 것에 APM을 0.1% 되게 첨가하여 25°C에 40시간 방치하면서 시간별로 여액중의 APM 잔존량을 측정하였다. 가열처리한 것은 40시간 후에도 90%가 잔존하였으나, 가열처리 하지 않은 것은 오히려 90%가 분해되었다(Fig. 9). 이 결과로부터 APM의 분해는 배추에 의해서 흡착되는 것이

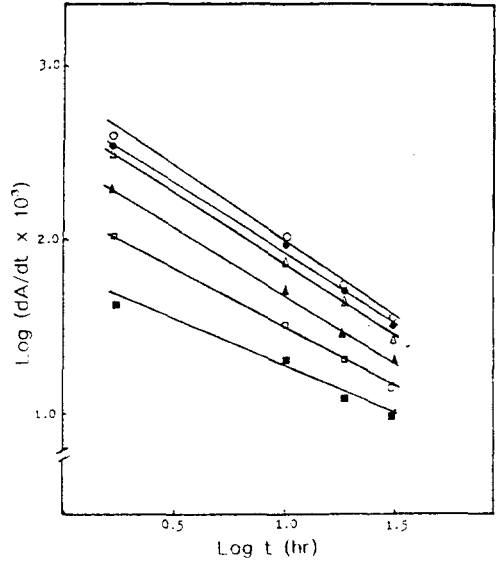


Fig. 8. The changes of decomposition rate of aspartame in cabbage extract during storage at various salt concentration.

○—○: 0%    ●—●: 2%  
 △—△: 4%    ▲—▲: 6%  
 □—□: 8%    ■—■: 10%

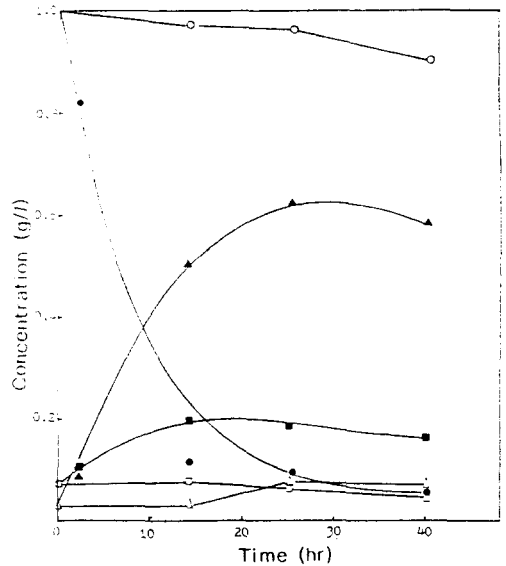


Fig. 9. Effect of heat treatment on APM decomposition.

○—○: aspartame    ●—●: aspartame  
 △—△: phenylalanine    ▲—▲: phenylalanine  
 □—□: aspartylphenylalanine    ■—■: aspartylphenylalanine  
 with heat treatment    without heat treatment

아니라 주로 배추 중에 있는 효소에 의하여 분해된다고 판단된다.

가열처리하지 않은 배추즙의 APM은 95% 이상 분해되어 5% 미만 잔존했었다. 그러나, 가열처리한 배추즙에서는 APM이 90% 잔존했었다. 야채즙을 가열처리함으로써 APM이 분해가 잘 되지 않는 결과로 미루어 볼 때 배추 중에 APM을 분해하는 효소가 존재하나 이 효소가 열에 의하여 변성되어 효소작용을 상실하였기 때문인 것으로 생각할 수 있다(Fig. 10).

이상의 모든 결과로부터 김치 담금할 때 첨가한 APM 함량이 많이 감소하는 것은 젖산균에 의한 것보다는 배추 중에 존재하는 APMase에 의하여 APM이 ASP과 PA로 분해된다고 할 수 있다. 결국 생배추를 이용하여 김치 등의 침치식품을 만들 때 감미료로서 APM을 사용할 수 없다고 생각된다. 그러나 염농도가 높은 경우는 식염에 의하여 APM 분해효소 작용이 억제되므로 대치가 가능하겠으나 식품의 관능면을 고려하면 염의 농도를 일정수준 이상으로 높인다는 것도 한계가 있다. 한편, APM은 젖산균에 의하여 분해되지 않고 젖산균이 성장할 때 생성된 젖산에 의하여 pH가 낮아지면 APM이 안정성이 높은 조건으로 되기 때문에 diet 발효유를 제조하는 데는 사용이 가능하다고 생각한다. 단 유유성분과 배추성분이 다르므로 이러한 측면이 끼치는 영향에 대해서는 앞으로

더욱 연구되어야 할 것이다.

요 약

김치 담글 때 감미료로 설탕대신 aspartame을 사용할 수 있는지에 대하여 알아보기 위하여, 김치에 aspartame을 0.1% 첨가하여 25°C에서 발효시키면서 경시적으로 aspartame의 변화를 연구하였다. 첨가된 aspartame의 80%가 김치를 담근 후 20시간 만에 aspartylphenylalanine과 phenylalanine으로 분해되었다. 김치 발효시 aspartame의 분해는 배추 중에 존재하는 효소에 의한 것으로 추정되며 젖산균이나 pH에 의한 영향은 10% 이하였다. 그러나, aspartame의 분해는 NaCl의 농도를 높임에 따라 억제되었다.

문 헌

1. Larson-Powers, N., Pangborn, R.M. : Paired comparisons and time intensity measurements of the sensory properties of beverages and gelatins containing sucrose or synthetic sweeteners. *J. Food Sci.*, 43, 41-6(1978)
2. Clonigner, M.R., Baldwin, R.E. : Aspartylphenylalanine methylester : A low calorie sweetener. *Science*. 170, 81-2(1970)
3. New Artificial Sweetner, PAL, Ajinomoto., Nippon chemtec consulting Inc.(XIII-92-1)(1984)
4. Barry E. Homler : Properties and stability of Aspartame. *Food Tech*, 7, 89-55(1984)
5. Prudel, E. : Kinetics of Decomposition of Aspartame Hydrochloride in Aqueous Solutions. *J. of Food. Sci.* 51(6), 1393(1986)
6. Goff, D.H. Jordan, W.K. : Aspartame and polydextrose in a calorie-reduced frozen dairy dessert. *J. Food. Sci.* 49, 306, 1393(1984)
7. Jung, H.S., Y.T. Ko, S.J. Lim : Effects of sugars on Kimchi Fermentation and on the stability of Ascorbic Acid. *Korean, J. Nutr.* Vol. 18(1) (1984)
8. Cho, D.H., : The lactic acid bacteria in connection with the fermentation of vegetables. *Korean. J. Food. Sci.* 2(1) 3 (1970)
9. 황규찬·정윤수·김호식 : 김치의 미생물학적 연구(제 2보) : 호기성 세균의 분리와 동정. *과연회보*, 1, 51, (1960)

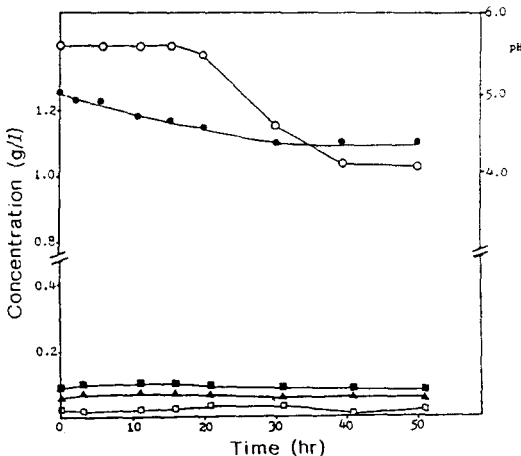


Fig. 10. Time course of decomposition of the aspartame added to heat treated Kimchi.

- : aspartame
- ▲—▲: phenylalanine
- : aspartylphenylalanine
- : diketopiperazine
- : pH

10. 김호식·전재근 : 김치 발효중의 세균의 동적 변화에 관한 연구. 원자력 논문집, 6, 112(1966)
11. 김호식·황규찬 : 김치의 미생물학적 연구(제 1 보) : 혐기성 세균의 분리와 동정. 과연취보, 4, 1, 56(1959)
12. Hussein, M.M., R.P.D'Amelia, A.L. MANZ, H. Jacin et. al. : Determination of reactivity of aspartame with flavor aldehydes by gas chromatography, HPLC and GPC. *J. Food Sci.* 49, 523(1984)
13. 박영란·박봉옥·이기열 : 우리나라 저장식품 중의 함량. 한국영양학회지 7권 1호 (1974)  
(1988년 6월 10일 접수)