

## 지방질의 산화에 대한 된장 및 그 추출물의 항산화 특성

최홍식 · 박경숙 · 문갑순\* · 박건영

부산대학교 식품영양학과

\*인제대학교 식품영양학과

### Antioxidative Characteristics of Fermented Soybean Paste and Its Extracts on the Lipid Oxidation

Hong-Sik Cheigh, Kyung-Sook Park, Gap-Soon Moon\* and Kun-Young Park

*Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea.*

*\*Dept. of Food Science and Nutrition, Inje University, Kimhae, 621-170, Korea.*

#### Abstract

Antioxidative effects of soybean paste(SP) on the lipid oxidation were studied with the model systems of ground cooked meat(GCM)-SP or ground cooked fish(GCF)-SP and model systems of linoleic acid mixture(LA)-SP powder (SPP) or LA-SP extract fractions during oxidation reaction. SP played a role as an antioxidative substance in the system employed, especially in GCM-SP and the antioxidative activity was increased with the increase of SP addition in the system of GCF-SP during storage at 6°C. SPP also exhibited some antioxidative activity during the oxidation reaction of LA. The activity was increased as the concentrations of SPP increased in the range from 0.1% to 0.5%. Considerable antioxidative activities have been observed in both water soluble and lipid soluble fractions from SP on LA reaction system.

#### 서론

대두 및 대두제품 그리고 양조간장이 지방질의 산화반응에 항산화적 효과가 있음은 이미 알려진 바 있으며, 특히 양조간장은 가열우육의 지방질 산화에 강한 항산화 특성이 있고 모델 시스템에 있어서 그 효과는 양조간장의 숙성기간이 길수록 또 농도가 높을수록 유의적인 정적 상관관계가 있음은 이미 보고된 바와 같다<sup>1-3,6)</sup>. 그리고 발효대두식품의 항산화 효과와 관련된 주요 원인 물질로는 아미노산, 페놀물질 및 갈색물질 등으로 추정된다<sup>1-3)</sup>. 이들 물질들은 발효숙성 과

정중 원료 대두 및 기타 곡류 등의 분해에 의하여 생성된 아미노산 또는 펩티드 성분들이거나 동 원료에서 용출된 페놀화합물들 그리고 마이야르 반응 등에 의하여 형성된 멜라노이딘 성분들이라고 사료된다<sup>3-7)</sup>. 오늘날 합성항산화제의 안전성에 대한 의문이 제기되면서 천연항산화물질에 대한 관심이 고조되고 있는 바, 대두발효식품의 항산화 작용은 그 자체가 지니는 조미식품의 중요한 기능적 특성이라는 점에서 큰 의의가 있다고 생각된다. 그러나 대두 및 양조간장에 대한 이 분야의 연구는 있으나 된장의 관련 특성에 관한 보고는 아직 없는 듯 하다.

본 연구는 지방질의 산화반응에 대한 된장의 항산화 작용에 관한 것으로, 조식 지방질 산화에 미치는 된장의 항산화 특성 그리고 리놀레산 등의 지방산 산화에 대한 된장 및 그 추출물의 항산화 특성을 검토하였으며 그 결과를 보고 하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료의 조제

된장은 이전의 보고<sup>9)</sup>에 따라 60일간 숙성시켜 제조한 것으로서 함유 조단백질은 11.0% (N×6.25), 환원당 13.4%, 염분 12.5% 그리고 수분함량은 48.0%이었다. 그리고 건조시료는 이를 동결온도  $-40^{\circ}\text{C}$ 에서 급속동결시킨 후 수분함량 3% 이하로 동결건조(Virtis Bench Top III, Virtis Co., Ltd, USA, 조건: 진공도 100mili torr 내외, 온도  $-20^{\circ}\text{C}$  이하) 시킨 다음 질소가스를 치환한 용기에 밀봉한 상태로하여 냉동고( $-18^{\circ}\text{C}$ )에 저장하면서 실험에 사용하였다. 또한 건조된장 분말을 isopropanol-chloroform(2:1, v/v) 또는 증류수로 16시간이상 교반하면서 추출하여 유용성 추출물과 수용성추출물을 각각 얻었으며 유용성 추출물은 다시 정제과정<sup>7,11)</sup>의하여 비지방질획분과 지방질획분으로 나누어 얻었다.

또한 산화반응에 사용한 牛肉 및 어육은 한우 및 무지개 송어의 육조직을 이용 하였으며 그 조제 방법은 전보에 준하여 실시하였다<sup>2,16)</sup>. 또한 산화반응용 지방산은 리놀레산혼합물(linoleic acid mixture, Fluka Co., Switzerland) 이었으며 이전에 보고한 방법<sup>7)</sup>에 따라 이의 지방산 조성을 분석해 본 결과 리놀레산이 64.6% 그리고 올레산이 27.4%이었다<sup>15)</sup>.

### 산화반응조건 및 분석 방법

전보<sup>2)</sup>에 준하되 만쇄 우육 또는 어육 10g과 된장 일정량(조건에 따라 0~10g)을 50ml용 petri dish에 담은 다음 이를 microwave heating을 60초간 행하였다. 그리고 미리 필요에 따라 식염(1.2g) 또는 증류수 일정량(0~10g)을 첨가 하였다. 이와같이 조제된 model system을  $6^{\circ}\text{C}$ 에서 5주간

저장하면서 산화반응을 유도시켰고 이때 경시적으로 TBA값을 살펴 보았다<sup>2,3)</sup>.

한편 삼각후라스크(100ml)에 지방산(리놀레산 혼합물) 1.00g을 정칭하여 주입한 후 에탄올 20ml를 가해 이를 녹이고, 인산완충용액(0.2M, pH 7.0) 25ml를 가하여 혼합 하였다. 그리고 분말된장을 미리 인산완충용액에 용해시켜 해당농도로 만든 다음 그 1ml를 여기에 첨가 하였으며 추출물의 경우는 완충용액 또는 에탄올에 녹여서 같은 방법으로 첨가 하였다. 다음  $50^{\circ}\text{C}$ (또는  $60^{\circ}\text{C}$ )에서 해당 반응시간 동안 자동산화 시킨후 통상의 방법에 따라 반응이 진행된 지방산의 과산화물값을 분석하였다<sup>8)</sup>.

## 결과 및 고찰

### 우육 지방질의 산화에 미치는 된장의 영향

우육조식 지방질의 산화에 미치는 된장 성분의 영향을 살펴보기 위하여, 우육, 우육-식염, 우육-된장 등의 model system을 열처리된 행한 다음 저온에서 5주간 산화 반응시키면서 TBA값을 살펴 본 결과는 Fig. 1과 같다. 우육과 된장을

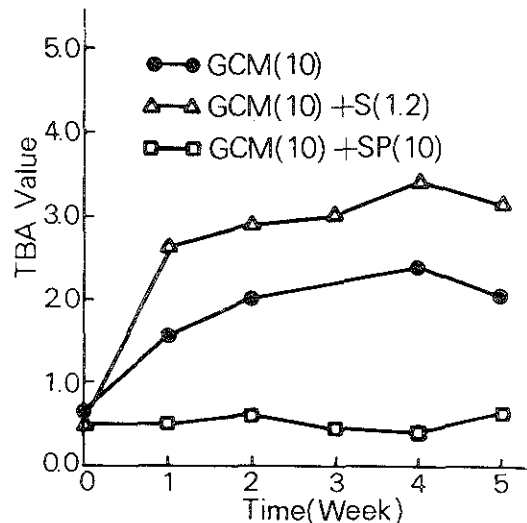


Fig. 1. Changes of thiobarbituric acid(TBA) values of ground cooked meat(GCM) with the addition of soybean paste(SP) and salt (S) during storage at  $6^{\circ}\text{C}$ .

동량으로 조합한 시스템에선 반응 전기간 동안 그 값의 변화가 없이 초기의 값을 그대로 유지함으로써 우육조직 지방질의 산화가 거의 일어나지 않고 있었다. 그러나 우육 및 우육-식염의 시스템들은 비록 저온이지만 반응 전기간중 계속 산화가 진행 되었으며 2주 이후에는 이미 TBA 값이 2를 넘고 있었다. 그리고 우육 단독 시스템보다 우육-식염 시스템이 더 급격한 산화양상을 보였다.

냉장온도로 저장한 어육류의 지방질 산화 현상은 이미 전보<sup>2)</sup>에서도 상세히 논의된 바 있으며, 열처리를 받은 식육 지방질의 산화는 더욱 가속화 된다고 알려져 있다<sup>2,3)</sup>. 이러한 조건에서 된장의 역할을 살펴 보았을 때, 비록 된장 자체가 상당한 지방질을 함유하고 있음에도 불구하고 우육단독시스템(GCM) 보다 우육-된장시스템(GCM+SP)에서 높은 산화안정성을 보였고 따라서 된장은 상당한 항산화 작용이 있음을 알 수 있었다. 그리고 해당 된장에 함유된 식염의 양을 별도로 첨가한 우육-식염(GCM+P) 시스템에서는 식염의 첨가로 산화가 더 촉진되었으며, 식염의 산화 촉진 현상은 이전의 보고에서도 논의된 바 있다<sup>2)</sup>. 그러나 본 실험 결과에서 보여준 바와 같이 비록 식염이 같은 수준으로 이미 된장에 함유되어 있음에도, 우육-된장 시스템에서 상대적으로 거의 산화가 진행되지 않은 것은 된장 성분의 항산화 작용이 비교적 높기 때문에 식염의 효과가 나타나지 않은 것으로 판단되었다.

된장의 첨가수준이 어육 지방질의 산화에 미치는 영향

된장의 첨가 수준을 달리 했을 때, 가열 어육 지방질의 산화에 미치는 된장의 항산화 효과를 살펴보기 위하여, model system에서 된장의 조합 비율을 달리하여 6°C에서 4주간 저장하면서 TBA값을 살펴 본 결과는 Fig. 2와 같다.

된장을 첨가하지 않고 그 중량에 해당하는 증류수만 첨가한 시스템[GCF(10)+SP(0)+W(10)]에서는 초기부터 산화가 급격히 진행되어 TBA값이 2주 후에는 18이상의 값을 보였으며 첨가수준을 상대적으로 증가시켰을 때 즉, 된장

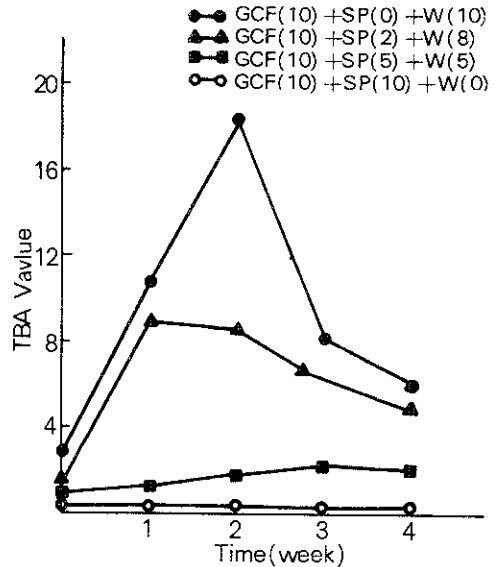


Fig. 2. Changes of thiobarbituric acid(TBA) values of ground cooked fish(GCF) with addition of soybean paste(SP) and water (W) during storage at 6°C.

농도를 높였을 때 가열어육 지방질의 산화를 점차 억제하는 결과를 보였다. 그리고 어육과 동량의 된장을 조합한 경우 [GCF(10)+SP(10)+W(0)]에는 저장 및 반응 전기간동안 산화반응이 거의 일어나지 않고 있었다. 이와같은 결과는 가열우육의 산화에 대한 양조간장 조합비율의 영향에서 보여준 경향과 거의 일치하고 있었다<sup>3)</sup>.

#### 지방산의 산화에 미치는 된장의 영향

된장이 지방산의 자동산화반응에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 그 분말을 0.1, 0.2, 0.5% 수준의 농도로 리놀레산 혼합물에 첨가하여 50°C에서 산화반응을 시키면서 과산화물값의 변화를 살펴 본 결과는 Table 1과 같다. 반응시간의 경과에 따라 산화는 급격히 진행되어 된장을 첨가하지 않은 대조구의 경우 반응 48시간에 790의 과산화물값을 보였으며 된장 첨가구의 경우는 모두 과산화물의 생성에 영향을 주었고 그 농도가 높을수록 항산화 경향이 높은 결과를 보였다. 그러나 반응 초기의 이러한 경향은 반응이 진행된 96시간의 경우에는 항산화 효과가 상대적으로

Table 1. Peroxide values of linoleic acid mixture (LA) with the addition of soybean paste powder(SPP) during oxidation reaction at 50°C for 24 and 48hrs.

Treatments	Peroxide value(meq/kg)	
	24 hrs	48 hrs
LA(Control)	790± 55*	1113± 40
LA+0.1% SPP	707± 64	1098± 12
LA+0.2% SPP	630± 10	1056± 60
LA+0.5% SPP	393± 28	1031± 99

\*Mean± standard deviation

의미있게 나타나지 않았다. 이와같은 사실은 간장분말이 지방산의 산화에 항산화 특성을 보였던 결과와<sup>15)</sup> 유사하게 된장 역시 유리지방산-수용액 시스템에서 같은 경향을 나타낸다고 할 수 있으나, 주어진 이 범위의 첨가 수준에서는 지속적인 항산화 특성을 나타내고 있다고는 볼 수 없었다. 된장의 이러한 항산화 특성은 대두 또는 그 제품에서 함유하고 있는 플라보놀 화합물, 특히 isoflavones, chlorogenic acid isomers, caffeic acid에 의할 수 있고<sup>1,6)</sup> 이러한 물질이 발효과정 중에 글루코시드 등으로 부터 유리되어 나오기 때문이라고 사료된다<sup>12)</sup>. 그러나 이러한 항산화성은 발효과정 중에 형성된 갈변물질에 의하여 더 강하게 일어날 수 있으며<sup>3,4)</sup> 여러가지 종류의 인지지방질, 토크페롤, 아미노산, 펩티드 등도 함께 기여할 것으로 판단된다<sup>13)</sup>.

#### 지방산 산화에 대한 된장 추출물의 영향

지방산 산화과정에 미치는 된장 추출물의 항산화성을 살펴 보기 위하여 유용성 추출물(oil extract) 및 수용성 추출물분말(WEP)을 첨가하여 산화반응을 시켜 본 결과는 Table 2와 같다. 그리고 유용성 추출물, 동 추출물로 부터 분리한 지방질획분(PLF)과 비지방질획분(NLF)의 영향을 같은 방법으로 살펴 본 결과는 Table 3과 같다. 초기 24시간 반응에서는 리놀레산 단독의 대조구에 비해서 된장 추출물 즉, 수용성 및 유용성 추출물 공히 항산화적 특성을 보여 주고 있으며 48시간 경과 후에도 같은 경향을 보여 주었다.

그러나 72시간 경과 후에는 수용성 추출물 첨가에서 지방산의 산화에 대한 뚜렷한 항산화 경향을 보였다. 그리고 유용성 추출물 중에서는 비지방질획분보다 지방질획분에서 더 명확한 항산화성을 보였다.

지방산에 대한 수용성 추출물의 강한 항산화성은 거의 같은 물질이라고 할 수 있는 양조간장으로 행한 연구에서 상세히 규명된 바 있으며<sup>15)</sup>, 관련 항산화성 성분에 대하여서도 앞에서 이미 논의 된바 있다. 그러나 된장의 지방질획분의 항산화 관련 물질은 여러 가지 성분들이 제시될 수 있겠으나 앞으로 계속 연구 검토되어야

Table 2. Peroxide values of linoleic acid mixture (LA) with the addition of oil fraction (OF) and water extract powder(WEP) from soybean paste powder(SPP) during oxidation reaction at 50°C for 24, 48 and 72 hrs.

Treatments	Peroxide value(meq/kg)		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs
LA(Control)	169± 10*	635± 11	1355± 140
LA+0.1% SPP-OF	120± 38	341± 65	1231± 204
LA+0.1% SPP-WEP	110± 17	311± 34	420± 75

\*Mean± standard deviation

Table 3. Peroxide values of linoleic acid mixture (LA) with the addition of crude lipid fraction(CLF), non-lipid fraction(NLF) and pure lipid fraction(PLF) from soybean paste powder(SPP) during oxidation reaction at 60°C for 24 and 48 hrs.

Treatments	Peroxide value(meq/kg)	
	24 hrs	48 hrs
LA(Control)	415± 77*	1420± 143
LA+1% CLF	378± 25	926± 159
LA+1% NLF**	347± 8	1183± 101
LA+1% PLF**	251± 31	261± 25

\*Mean± standard deviation

\*\*NLF and PLF were refractionated from CLF

할 과정으로 생각된다<sup>11-13</sup>). 한편 이와같은 양조 간장의 과산화물 생성 억제 효과는 라디칼과의 반응, 산화촉진 미량 금속과의 킬레이트화 반응 또는 산화된 일차 항산화 물질의 재생 반응 등으로 설명될 수 있으나 그 메카니즘은 아직 불명확하며 앞으로 규명되어야 할 과제라고 생각된다<sup>10, 13-15</sup>).

## 요 약

지방질 산화에 대한 된장 및 그 추출물들의 항산화 특성을 살펴보기 위하여, 가열 우유 및 가열 어육을 이용한 저온에서의 산화반응 시스템 그리고 리놀레산이 함유된 액상 시스템에서 일련의 실험을 행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 된장은 지방질 산화반응 과정에서 과산화물 생성을 억제하였으며 반응에 첨가된 된장의 함량이 높을수록 항산화 작용이 더 큰 결과를 보였다. 특히 어육-된장 시스템에서 높은 수준으로 조합된 된장은 어육조직 지방질의 산화를 현저히 저하시켰다. 그리고 지방산의 액상 시스템에서 미량(0.1, 0.5% 수준) 첨가한 된장 역시 항산화 특성을 보였으며, 된장 추출물중에서 수용성 획분 및 지방질 획분 공히 항산화 특성을 보였다.

## 사 사

본 연구는 1988~1989년도 문교부 지원 한국 학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 이루어진 결과의 일부이며 이에 감사를 드린다.

## 문 헌

1. 최홍식 : 간장의 풍미 성분 및 안정성 관련 성분, 한국간장에 관한 심포지움, 한국농화학회 영남지부, 29(1989)
2. 문갑순, 최홍식 : 우유 지방질의 산화에 미치는 간장의 항산화작용에 관한 연구, 한국식품과학회지, 18, 313(1986)

3. 문갑순, 최홍식 : 양조간장의 항산화작용 및 항산화성 물질에 관한 연구, 한국식품과학회지, 19, 537(1987)
4. Motai, H. and Inoue, S. : Oxidative browning in color of shoyu. *J. Japanese Agr. Chem. Society*, 48, 329(1974)
5. Pratt, D. E. : Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.*, 37, 322(1972)
6. Pratt, D. E and Birac, P. M. : Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, 44, 1720(1979)
7. 김혜경, 김복남, 최홍식 : 쌀보리 결합지방질의 추출과 그 조성에 관한 연구, 한국영양식품학회지, 18, 109(1989)
8. Hayase, F. and Kato, H. : Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 30, 37(1984)
9. 김상순, 김순경, 유명기, 최홍식 : *A. oryzae* 를 이용한 대두발효식품의 색상개량에 관한 연구, 산업미생물학회지, 11, 67(1983)
10. Rogstad, A. and Reinton, R. : A gas chromatographic method for testing antioxidants. *J. Amer. Oil Chem. Society*, 54, 282(1977)
11. 이숙희, 최홍식 : 한국장류식품의 지질성분에 관한 연구. (2) 된장발효 숙성중의 지질 성분변화. 한국영양식품학회지, 14, 67(1985)
12. Murakami, H., Asakawa, T., Terao, J. and Matsushita, S. : Antioxidative stability of tempeh and liberation of isoflavones by fermentation. *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2971(1984)
13. Reinton, R. and Rogstad, A. : Antioxidant activity of tocopherols and ascorbic acid. *J. Food Sci.*, 46, 970(1981)
14. 이정수 : 양조간장에서 분리한 갈색물질의 항산화성에 관한 연구, 부산대학교 석사학위논문(1989)
15. 최홍식, 이정수, 문갑순, 박건영 : 지방산의 산화에 대한 양조간장의 항산화 특성. 한국식품과학회지, 22, (1990)(투고 인쇄중)
16. 김혜경 : 생체모델시스템에 있어서 필수지방산, 토코페롤 및 카로티노이드의 co-oxidation에 대한 lipoxigenase의 영향. 부산대학교 박사학위 논문(1990)

(1990년 1월 20일 접수)