

대두와 된장의 지용성 성분 비교

차 배 천

상지대학교 농과대학

Comparison of Lipid Constituents in Soybean and Beanpaste

Bae Cheon Cha

College of Agriculture, Sang Ji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract—Soybean and beanpaste have been used as one of the important food in Korea. Beanpaste is made from soybean(Seed of *Glycine max* MERRIL, Leguminosae) by traditional fermentation. It was expected that the secondary metabolites might be formed by the action of some microorganisms or enzymes on the constituents primarily contained in soybean during manufacturing or storage of beanpaste. A systematic investigation on the chemical constituents was carried out. As a result, sterol glycoside named daucosterin, lipo-daucosterin have been isolated from the lipid fraction of soybean and their structures elucidated on the basis of chemical and physicochemical evidences. A ratio of composition of the lipid constituents in soybean and beanpaste were estimated.

Keywords—Soybean • beanpaste • *Glycine max* MERRIL • Leguminosae • lipid constituents • sterol glycoside • daucosterin • lipo-daucosterin • composition

대두는 세계 각지에서 대량으로 재배되어지고 있는 주요 곡물 중의 하나로서, 특히 한국, 일본, 중국 등에서는 대두 그 자체로서의 식품이 용 뿐만 아니라 된장, 두부, 간장 등의 대두가공 식품으로서 대량 소비 되어지고 있다. 대두의 함유 성분으로는 lipid¹⁾, flavonoid²⁾, glyceolin³⁾ 등이 보고되어지고 있는 외에, 체내 과산화지질의 생성을 억제⁴⁾하는 등의 유효한 생물활성을 가지는 것으로 알려진 soyaaponin I, II, III⁵⁾ 및 A₁, A₂⁶⁾로 불리워지는 oligo 배당체 성분들이 보고되어지고 또한 이들 saponin의 비당부 성분으로서 soyaapogenol A, B, C⁷⁾, D⁸⁾, E⁹⁾가 알려져 있는 등 saponin성분에 관하여서는 상세한 화학적 성분 연구가 행하여져 있는 반면 지용성 성분에 관하여서는 lipid성분 이외에는

상세한 화학적 성분연구가 이루어져 있지 않다.

한편 된장(soybean paste)은 우리나라에서 전통적으로 사용되어 온 식품으로서 대두를 원료로 한 발효 식품이다. 된장에 관한 연구로서는 맛을 개량하기 위한 향기 성분의 미생물 종류에 따른 변화,¹⁰⁾ 품질 향상을 목적으로 한 제조법에 관한 연구¹¹⁾, mutagen함유에 관한 검토¹²⁾ 및 지용성 성분에 관한 상세한 화학적 성분 연구¹³⁾가 보고되어져 있다. 반면, 대두와 대두가공식품중에 있어서의 함유 성분의 변환에 관한 연구에 있어서는 soyaaponin 및 oligo 배당체의 saponin정량 연구¹⁴⁾는 보고되어져 있으나, 지용성 성분의 함량 변환에 관한 연구는 찾아볼 수 없다. 본 연구는 대두에 있어서 지용성 성분에 관한 상세한 화학적 성분 연구가 보고되어 있지

않다는 점과 된장이 우리나라에서 전통적으로 사용되어져온 발효 식품으로서 제조시나 저장중에 원료인 대두중에 함유된 성분의 2차적 변환에 의하여 함유성분의 함량이 변환 될 것이라고 기대되어 대두와 된장의 지용성 성분에 관한 화학적 성분분석 연구를 수행한 결과, 대두에 있어서는 lipid성분, sterol성분 이외에 sterol배당체를 단리하여 그 구조를 확인 동정함과 동시에, 대두와 된장에 있어서 지용성 성분들의 조성비율에 변환이 있음을 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

실험재료—본 실험에 사용한 대두 및 된장은 시판 시장품을 사용하였고, 대두는 분말기로 분말화하여, 된장은 음건하여 분쇄 한 후 실험재료로 사용하였다.

시약 및 기기—분석용 시약은 특급 시약을 사용하였고 그의 시약은 모두 일급 시약을 사용하였다. 적외선 흡수스펙트럼(IR)은 Shimadzu IR-400을 사용하여 측정하였고, 질량 spectrum은 JMS-new D-300 질량분석장치를, gas liquid chromatography(GLC)는日立 663-50형을 사용하여 실시하였다. ¹H-NMR은 Jeol-FX90Q(90MHz)를 사용하여 TMS를 내부 표준물질로 하여 측정하였고, ¹³C-NMR은 동일한 기기(22.5 MHz)를 사용하여 측정하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kieselgel 60(70~230 mesh, Merck)을, TLC용 precoated plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck)를 사용하였다.

추출 및 단리—대두(1.8 kg)를 EtOAc(3 l)로 3회 가열 추출하고 전 추출물을 감압 농축하여 엑스 320 g을 얻었다. 이 EtOAc 엑스를 물에 현탁시킨 후 ether로 추출하여 얻은 ether 가용성분을 benzene에 녹인 후 silica gel column chromatography(용출용매 : benzene-acetone=5 : 1)로 주성분만 분리하여 화합물 1(288 g), 화합물 2(2.9 g), 화합물 3(720 mg), 화합물 4(180 mg)를 각각 얻었다. 동시에 음건하여 분말로한 된장(2 kg)을 대두와 같은 방법으로 추출, 정제 처리하여 화합물 1(250 g), 화합물 2(4.6 g), 화

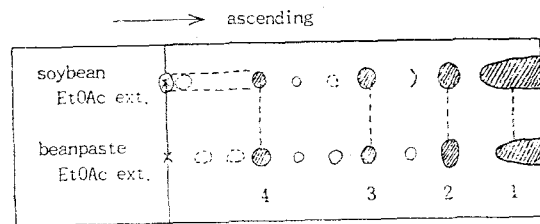


Fig. 1. TLC pattern of EtOAc extract of soybean and beanpaste
Solvent: CHCl₃-MeOH=10 : 1 detection: 1% Ce(SO₄)₂/10% H₂SO₄
1: triglyceride 2: sterol
3: lipo-daucosterin 4: daucosterin

합물 3(860 mg), 화합물 4(1.2 g)를 얻었다. 대두와 된장의 EtOAc엑스의 TLC pattern을 Fig. 1에 표시하였고, 화합물 1은 GLC분석 결과 triglyceride임을 확인하였고, 화합물 2, 3, 4는 이하의 물리화학적 실험결과와 고찰로 부터 sterol, lipo-daucosterin 및 daucosterin임을 각각 확인, 동정되었다.

Sterol 성분의 확인 및 동정—EtOAc 엑스트로부터 단리된 화합물 2는 TLC상에서 1 spot로 나타나고, Liebermann-Burchard test에 양성 반응을 나타내며, 1% Ce(SO₄)₂/10% H₂SO₄용액의 발색시약에서 청색에서 자주색으로 변색하는 steroid의 특징적 정색 반응을 나타내므로 sterol 화합물임을 확인할 수 있었다.

2: IR, ν_{max}(CHCl₃) 3410 (OH), 1645, 792 (C=C)cm⁻¹; ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃) δ: 0.80 ~ 1.25(6 × CH₃), 3.55(1 H, m, H-3), 5.41(1 H, d, J=5.2 Hz, vinyl proton); ¹³C-NMR(22.5 MHz, CDCl₃) δ: 141.7(C-5), 122.7(C-6), 136.3, 128.3(vinyl carbons), 72.3(C-3); MS, m/z(%) 414(42.5), 412(17.7), 400(7.5) (M⁺ ions).

이 화합물 2는 sterol 혼합물로 GLC 분석결과 campesterol, stigmasterol, β-sitosterol이 대두에 있어서는 30%, 17%, 53%의 비율로, 된장에 있어서는 16%, 20%, 64%의 비율로 존재하고 있음을 확인하였다.

Daucosterin의 확인—대두의 EtOAc엑스트로부터 단리한 화합물 4는 TLC상에서 1 spot로 나타나며 steroid의 특징적 정색을 나타내는 화합

물로 표준품과 TLC상에서 일치하므로 화합물 4는 daucosterin임을 확인할 수 있었다.

4: IR, ν_{\max} (KBr) 3410(OH), 1010~1100 cm^{-1} (glycoside); $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.70~1.05($6\times\text{CH}_3$), 5.10(1 H, d, $J=7.2$ Hz, anomeric proton), 5.39(1 H, br. d, $J=5.3$ Hz, vinyl proton); $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz, pyridine- d_5) δ : 141.2(C-5), 121.7(C-6), 78.8(C-3), 102.1(C-1'), 78.5(C-5'), 78.1(C-3'), 75.1(C-2'), 71.9(C-4'), 62.5(C-6').

Daucosterin의 methanolysis—화합물 4(50 mg)를 6% HCl-dry MeOH(10 ml)에 녹이고 2시간 동안 환류 반응시킨 뒤, 반응액을 Ag_2CO_3 분말로 중화하고 여과하였다. 여액을 농축하고 silica gel column chromatography(eluent: benzene-acetone=5:1)로 분리하여 aglycone(34 mg)과 methyl화 당(15 mg)을 각각 얻었다. Aglycone은 TLC, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 및 GLC에 의해 campesterol, stigmasterol, β -sitosterol이 5:4:16의 비율로 조성되어 있는 sterol 혼합물임을 확인하였고, methyl화 당은 표준품과의 TLC에 의해 methyl β -D-glucopyranoside로 확인되어 대두에서 분리한 화합물 4는 daucosterin임이 확인 동정되었다.

Lipo-daucosterin의 확인—대두의 EtOAc 엑스로부터 분리한 화합물 3은 TLC상에서 단일 spot로 나타나는 화합물로 이 화합물은 Liebermann-Burchard test에 양성, 1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/10\%$ H_2SO_4 발색제에 의해 청색에서 자주색으로 변하는 steroid의 특징적 정색을 나타내고 표준품과 TLC상에서 일치하므로 화합물 3은 lipo-daucosterin임을 대두로부터 분리 확인할 수 있었다.

3: IR, ν_{\max} (CHCl_3) 3410(OH), 985~1090 (glycoside) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.72~1.15($6\times\text{CH}_3$), 1.30(CH_2), 5.22(1 H, d, $J=7.2$ Hz, anomeric proton), 5.45(1 H, br. d, $J=5.3$ Hz, vinyl proton); $^{13}\text{C-NMR}$ (22.5 MHz, pyridine- d_5) δ : 173.7(ester carbon), 142.1(C-5), 122.1(C-6), 102.5(C-1'), 78.5(C-5'), 78.2(C-3'), 75.0(C-2'), 71.9(C-4'), 64.3(C-6'), 78.9(C-3).

Lipo-daucosterin의 alkali 분해—화합물 3(100 mg)을 dry MeOH(5 ml)에 녹이고 10% NaOMe(5 ml)를 가하여 30분간 가열 환류시켰다. 반응물을 Dowex 50 W \times 8(H^+ form)으로 중화한 다음 감압 농축하여 잔여물(120 mg)을 얻었다. 이를 silica gel column chromatography(eluent: *n*-hexane-ether=3:1 및 CHCl_3 -MeOH=10:1)로 분리하여 5종의 지방산 methyl ester(52 mg)와 daucosterin(30 mg)을 얻었다. 5종의 지방산 methyl ester는 GLC분석에 의하여 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid, linolenic acid, stearic acid가 55:30:7:5:3의 비율로 조성되어있음을 확인하였고, 얻어진 daucosterin은 본 실험에서 분리한 화합물 4와 TLC(CHCl_3 -MeOH=10:1), $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum이 일치하였다.

Lipo-daucosterin의 methanolysis—화합물 3(100 mg)을 dry-MeOH(5 ml) 용액에 9% HCl/MeOH(10 ml)을 가하고 2시간 가열 환류하여 반응시킨 다음 반응액을 Ag_2CO_3 로 중화하고 감압 농축하여 잔사(95 mg)를 얻었다. 이 잔사를 silica gel column chromatography(eluent: benzene-acetone=5:1 및 CHCl_3 -MeOH=10:1)로 용출시켜 sterol 혼합물과 methyl glycoside를 얻었다. Sterol 혼합물은 TLC, IR, $^1\text{H-NMR}$ 및 GLC분석에 의해 campesterol, stigmasterol, β -sitosterol이 5:4:16의 비율로 조성되어 있음을 확인하였고, methyl glycoside는 표준품과의 TLC 및 GLC에 의해 methyl β -D-glucopyranoside로 확인 동정하였다.

Lipo-daucosterin의 permethyl화 및 methanolysis—화합물 3(100 mg)을 Kuhn법¹⁵⁾에 의해 dry-DMF(10 ml)에 녹이고 Ag_2O 를 촉매로 CH_3I (90 ml)을 가하여 질소 기류하에서 3시간 반응시켰다. 이 반응물을 여과하고 감압 농축하여 잔사(108 mg)를 얻고 이를 silica gel column chromatography(eluent: *n*-hexane-ether=3:1)를 행하여 완전 methyl화 유도체(5, 57 mg)를 얻고, IR, $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ 에 의해 그 구조를 확인하였다.

5: IR, ν_{\max} (CCl_4) no OH, 1721(ester C=O); $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3) δ : 0.72, 0.82, 0.83,

0.92, 0.98, 1.02(6×CH₃), 2.97, 3.02, 3.11 (3×OCH₃), 5.12(1H, m, vinyl proton), ¹³C-NMR(22.5 MHz, pyridine-d₅) δ: 64.6(C-6'), 74.7(C-5'), 102.6(C-1'), 78.8(C-3').

계속하여 화합물 5(50 mg)를 9% HCl-dry MeOH(10 ml)에 녹이고 1시간 가열 환류하여 methanolysis한 후, 반응물을 Ag₂CO₃로 중화하고 여과한 후 감압 농축하여 반응물 45 mg을 얻었다. 이 반응물을 silica gel column chromatography(eluent: benzene-acetone=5:1)로 분리하여 sterol 혼합물, 지방산 및 당(methyl 2,3,4-tri-O-methyl glucopyranoside)을 얻었다. 얻어진 당은 D-glucose를 출발 원료로 하여 6번 위치를 monomethoxytrityl화하여 보호한 다음 남은 수산기를 완전 methyl화 한후 monomethoxytrityl기를 산으로 제거하여 제조한 표준품(Fig. 2)과 TLC 및 GLC로 확인 동정하였다.

결과 및 고찰

Sterol, lipo-daucosterin 및 daucosterin의 구조는 물리화학적 자료와 문헌치 및 표준품과의 비교에 의하여 그 구조를 동정할 수 있었다. 먼저 sterol은 TLC상에서 단일 spot이고 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내고, 1% Ce(SO₄)₂/10% H₂SO₄의 발색제에 의해 sterol의 특징적 정색을 나타내었고, IR, ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR에 의해 혼합물임을 확인한 수 있었다. 최종적으로 표준품과 직접 GLC로 비교한 결과 대두는 campesterol, stigmasterol, β-sitosterol이 30:17:53의 비율로, 된장은 16:20:64의 비율로 조성되어 있음이 확인되어졌다. Daucosterin은 ¹³C-NMR에 있어서 sterol의 3위치의 signal이 6.74 ppm 고자장 shift한 78.5 ppm에서 관측됨에 따라 sterol의 3위치에 D-glucose가 β결합한 sterol 배당체임을 확인하였고, 계속하여 methanolysis하여 얻어진 sterol은 GLC에 의해

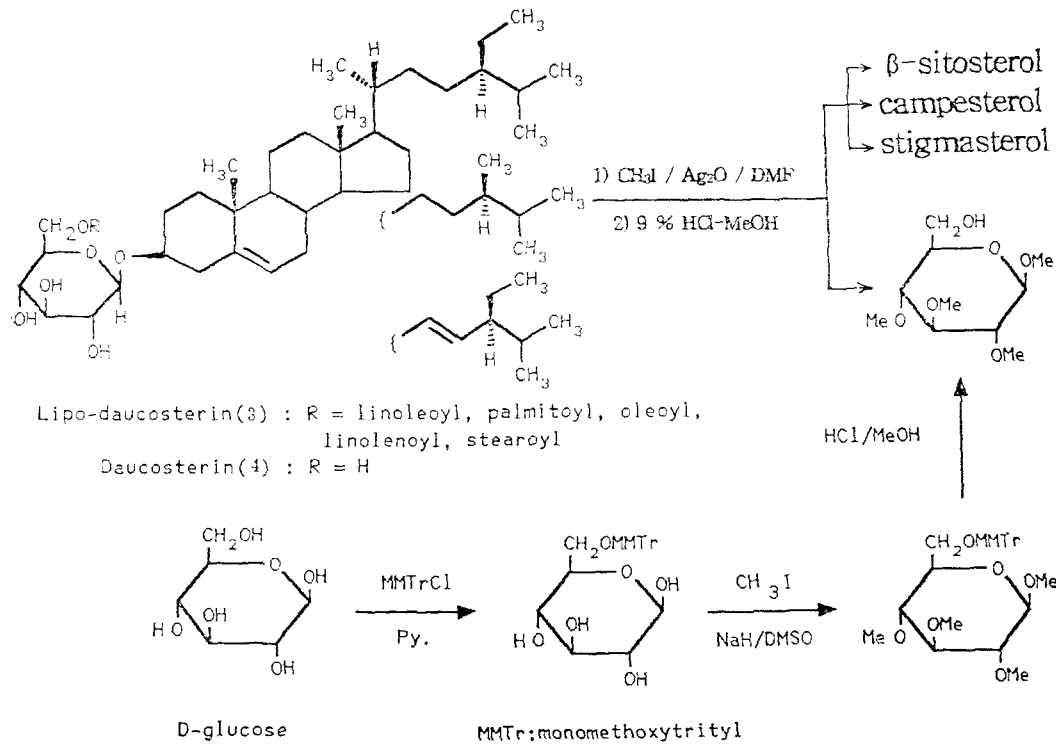


Fig. 2. Structure of lipo-daucosterin(3) and daucosterin(4)

campesterol, stigmasterol 및 β -sitosterol이 5 : 4 : 16으로 구성되어진 혼합물임이, methyl화 당은 TLC 및 GLC로 확인됨에 의해 daucosterin의 구조를 확인 동정하였다. 계속하여 lipo-daucosterin의 구조는 물리화학적 자료 및 alkali 분해, methanolysis 등의 화학적 처리 등을 통해 daucosterin의 D-glucose의 6 위치에 linoleic acid, palmitic acid, oleic acid, linolenic acid, stearic acid가 ester결합된 지방산 sterol 배당체임이 확인되었다. 한편 lipo-daucosterin에 있어서의 지방산의 결합위치는 다음과 같은 방법(Fig. 2)으로 확인한 결과 ^{13}C -NMR에 있어서 당의 6번 위치의 signal이 daucosterin의 signal과 비교하여 11.9 ppm 저자장 shift하는 사실로 부터 지방산이 당의 6 위치에 결합하고 있음을 추정할 수 있었으며, 이를 합성한 methyl 2,3,4-tri-O-methylglucopyranoside와 TLC 및 GLC분석에 의하여 명확히 하였다.

한편 대두와 한국산 된장의 지용성 성분의 함량 변화를 연구한 결과, 대두로부터 채래식 방법인 발효에 의해 된장을 제조하는 과정에서 지용성 성분의 함량 변화가 있음이 분석 결과 확인되었다. 즉 된장에 있어서는 triglyceride의 함량이 감소하는 반면 sterol의 함량이 증가되었고, 또한 sterol계 지방산 배당체인 lipo-daucosterin이 대두에 있어서는 sterol 배당체인 daucosterin에 비해 상당히 고함량으로 존재하고 있음에 반해 된장에서는 발효과정에서 발생한 것으로 추정되는 지방산의 탈리에 의해 daucosterin의 함량이 lipo-daucosterin의 함량보다 증가된 것이 특이하다. 이들의 함량분석 결과를 Table I에 종합하였다.

한편 sterol의 조성 비율도 구조 결정에서 확인한 것처럼 GLC에 의한 분석 결과, 대두와 된장에 있어서 구성 비율이 변화되었음을 확인할

Table I. Quantity of constituents in the soybean and beanpaste(%)

Name	Lipo-daucosterin	Daucosterin	Sterol	Triglyceride
Soybean	0.04	0.01	0.16	16.1
Beanpaste	0.04	0.06	0.23	12.5

Table II. Ratio of sterols in the soybean and beanpaste

Name	Campesterol	Stigmasterol	β -Sitosterol
Soybean	30	17	53
Beanpaste	16	20	64

Condition of GLC analysis; column: 1.5% SE-30, carrier gas: N_2 , 30ml/min, column temp.: 250°C, injection temp.: 280°C.

수 있었다. Table II에 대두와 된장의 sterol의 조성 비율을 나타내었다.

결 론

대두와 한국산 된장의 지용성 성분을 조직적으로 분석 검토한 결과, 된장의 1차 원료인 대두로부터 한국 특유의 채래식 된장 제조 과정에서 발생될 수 있는 발효에 의한 성분의 2차적 대사 변환은 발견할 수 없었으나 지용성 성분의 주성분인 triglyceride 및 sterol, lipo-daucosterin, daucosterin을 대두로부터 확인 동정함과 동시에 이들 지용성 주성분들의 함량 조성 비율에는 커다란 변화가 있음을 알 수 있었다. 특히 대두에서는 지방산 sterol 배당체인 lipo-daucosterin이 sterol 배당체인 daucosterin에 비하여 고함량으로 존재함에 반하여, 된장에 있어서는 lipo-daucosterin의 지방산이 탈리된 daucosterin의 함량이 상대적으로 증가하였으며, 또한 sterol의 조성 비율에도 많은 변화가 있어 발효과정에서의 효소에 의한 성분의 1차적 변화라고 사료된다.

본 연구는 아직 미량 성분들에 대해서는 연구가 수행되지 않은 상황이므로 금후 미량 성분 및 된장외의 대두 가공 식품에 대해서도 발효나 공정과정에 있어서 성분의 흥미로운 변화가 있으리라 추정되므로 이들에 대하여 지속적으로 연구를 수행하고자 한다.

(1994년 9월 26일 접수 : 10월 10일 수리)

참 고 문 헌

1. Sherpherd, D.A.: *J. Am. Chem. Soc.* 77, 1212

- (1955).
2. Cavill, G.W.K., Dean, F.M., Marshall, B.M. and Robertson, A.: *J. Chem. Soc.* 1954, 4753.
 3. Burden, R.S. and Biley, J.A.: *Phytochem.* 14, 1389 (1975).
 4. 北川 勲, 吉川雅之: *化學と生物* 21, 224 (1983).
 5. Kitagawa, I., Yoshikawa, M. and Yoshioka, I.: *Chem. Pharm. Bull.* 24, 121 (1976).
 6. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Wang, H.K., Saito, M., Toshirisuk, V., Fujiwara, T. and Tomita, K.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 2294 (1982).
 7. Smith, H.M., Smith, J.M. and Spring, F.S.: *Tetrahedron* 4, 111 (1958).
 8. Cainell, G., Britt, J.J., Arigoni, D. and Jeger, O.: *Helv. Chim. Acta* 41, 2053 (1958).
 9. Willner, D., Gestetner, B., Lavie, D., Biris, Y. and Bondi, A.: *J. Chem. Soc.* 1964, 5885.
 10. 장경규, 김종규: *産業微生物學會誌* 12, 153 (1984).
 11. 이숙희, 최홍식: *韓國營養學會誌* 14, 67 (1985).
 12. Tomita, I., Kinai, N., Nakamura, Y., Takanaka, H., Kanamoti, H., Hashizume, H. and Tokoyama, T.: *TARC Sci., Pub.* 57 (1984).
 13. 임광식: *藥學研究誌* 20, 35 (1986).
 14. 北川 勲, 吉川雅之, 林 輝明, 谷山登志男: *藥學雜誌* 104, 275 (1984).
 15. Kuhn, R., Tischmann, H. and Low, I.: *Angew. Chem.* 67, 32 (1955).