

재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구 2. 지용성 갈변물질의 분리와 항산화력

김미혜 · 임상선 · 김성희 · 김경업 · 이종호[†]

경상대학교 식품영양학과

Antioxidative Materials in Domestic Meju and Doenjang 2. Separation of Lipophilic Brown Pigment and Their Antioxidative Activity

Mi-Hye Kim, Sang-Sun Im, Sung-Hee Kim, Gyeong-Eup Kim and Jong-Ho Lee[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

Lipophilic brown pigments produced during the fermentation of domestic Meju and Doenjang were fractionated by column and thin-layer chromatography (TLC). Each of the fractions was tested for the antioxidant activity and then characterized by spectroscopic analysis. The lipophilic brown pigments were separated into chloroform-soluble and methanol-soluble parts in which Meju resulted the higher content of chloroform-soluble part than that of methanol-soluble part; however, Doenjang exhibited the opposite result to that of Meju. More strong antioxidant activity was found in the methanol-soluble part than the chloroform-soluble part. Four and five fractions were separated from chloroform-soluble and methanol-soluble parts respectively by silicagel TLC. The fraction that exhibited the high antioxidant activity showed a strong absorption at 260nm caused by amino compounds in UV spectrum. The other fractions which did not have antioxidant activity absorbed at 240nm by carbonic acid and its ester. IR spectrum of each fraction commonly showed absorption at 3400cm⁻¹, 2800cm⁻¹, 1700cm⁻¹, 1600cm⁻¹, 1400cm⁻¹, 1300cm⁻¹, and 1100cm⁻¹. Especially, the fraction which had a strong antioxidant activity showed absorption at 2800cm⁻¹, 1400cm⁻¹, and 1600cm⁻¹ suggesting that the fraction contain Schiff's base and primary amine structure.

Key words : Meju, Doenjang, brown pigments, antioxidation

서 론

된장은 원료인 대두중에 들어있는 토코페롤, isoflavone류 및 페놀산 등의 항산화성 물질¹⁻⁴⁾ 이외에 발효 및 숙성중에 생성되는 갈변물질이 강한 항산화효력을 나타내는 것으로 밝혀지고 있다⁵⁻⁹⁾. 저자 등은 전보¹⁰⁾에서 재래식 메주와 된장의 숙성중에 함유물질의 산화가 크게 억제되는 것은 갈변물질 및 페놀화합물구조의 강력한 항산화효력에 의한 것임을 확인하였다. 그러나 메주나 된장중의 갈변물질구조에는 크기나 성질이 다른 여러가지 화합물이 혼합되어 있으므로 발효 및 숙성중의 지질의 산화에 대한 억제효과를 밝히기 위해서는 항산화성이 강한 물질을 분리하여 화학적 성상을 조사

하고 항산화 효력과 상관관계를 검토하여야 될 것으로 생각된다. 된장이나 간장중에 생성되어 있는 갈변 물질구조의 항산화 효력을 구명하기 위하여 개량식 된장과 간장에서 추출한 갈변물질을 DEAE-cellulose나 Sephadex G-50, G-100 등을 이용한 칼럼크로마토그래피로써 분획하고 각 분획분의 갈색도, 환원력 및 분광학적 성질 등을 조사한 몇 편의 연구보고¹¹⁻¹²⁾가 있다. 그러나 이들 연구 결과를 살펴보면 항산화성 물질구조의 분획이 분명하게 되지 않았을뿐만 아니라 각 분획분들이 수종의 갈변물질의 혼합물로써 나타나고 있으므로 이들 분획분으로부터 항산화성 물질의 항산화 효력과 화학적 성상을 밝히기는 어려울 것으로 보여진다. 따라서 본 연구에서는 개량식에 비하여 낮은 온도에서 장기간의 발효과정을 거치며 갈변의 정도가 월등히 높은 재래식 메주와 된장으로부터 지용성 및 수용

[†]To whom all correspondence should be addressed

성 갈변물질을 추출하고 각종 칼럼크로마토그래피와 박층크로마토그래피 등의 방법으로 분리하여 각 분획분의 항산화 효력을 조사하고 화학적 성상을 비교 검토하였는데 이 보고서에서는 지용성 갈변물질에 대한 연구 결과를 고찰하였다.

재료 및 방법

시료

원료로서 경남 산청지방에서 생산된 1990년도산 콩교품종의 대두를 사용하였으며 메주는 대두를 10시간 동안 물에 불린 후 6시간 동안 증자한 것을 20cm×12cm×8cm의 직사각형으로 만들어 실온에서 2일간 건조시킨 후 빻짚으로 엮어서 발효실(비닐천막, 1350cm×650cm×250cm)내의 180cm 높이의 걸대에 매단채로 80일간 발효시켜 제조하였다. 발효기간 중 발효실내의 기온분포는 12월 중 최고기온 22°C, 최저기온 -6°C, 평균기온 12°C이었고, 1월 중 최고기온 14°C, 최저기온 -9°C, 평균기온 0°C이었다.

된장은 발효시켜 제조한 메주를 3배량의 18% 소금물에 60일간 침지한 후 전저내어 간장을 걸러내고 용기에 넣어 상온에서 숙성시키면서 된장시료로 하였다. 분석용 시료로 사용된 메주와 된장은 잘게 부수어 동결건조시키고 분쇄기로서 분쇄한 것을 n-hexane으로 탈지하는 과정을 3회 반복한 다음 60mesh체를 통과시켜 분말시료를 만들었다.

지용성 갈변물질의 추출 및 분획

분말시료로부터 클로로포름/메탄올(2:1)혼액으로써 추출하고 Sephadex LH-20칼럼을 통과시켜 정제한 지용성 갈변물질구분의 클로로포름용액을 4,000rpm에서 15분간 원심분리하고 여과지(Whatman #42)로 여과하여 여액중의 물질을 클로로포름 가용성물질구분으로 하고 잔사는 메탄올에 완전히 용해되므로 메탄올 가용성물질구분으로 하였다. 양 구분은 각각 silicic acid column(2.5cm×50cm)에서 분리하였는데 클로로포름 가용성구분은 클로로포름→클로로포름(C)/메탄올(M) 99:1→C/M 98:2→C/M 95:5→C/M 90:10→C/M 80:20→C/M 50:50→메탄올 순으로 용출 분획하였다.

박층크로마토그래피에 의한 분리

지용성갈변물질의 칼럼크로마토그래피 분획분은 silica gel plate상에서 클로로포름 가용성구분의 분획

분은 클로로포름/메탄올/초산/물(85:10:1:2, v/v)혼액으로써, 메탄올 가용성구분은 클로로포름/메탄올/초산/물(75:20:1:2, v/v)혼액으로써 전개하여 분리하고 UV조사(365nm)와 ninhydrin 시약에 의한 발색으로 형광성물질과 ninhydrin 반응성 물질을 확인하였다.

갈변도의 측정

칼럼상에서 분획한 지용성 갈변물질의 각 분획분을 각각의 용출용매로써 1%의 용액으로 만들어 400nm와 440nm에서 흡광도를 측정하였다.

항산화효력의 측정

지용성 갈변물질의 각 분획분을 에테르에 녹여 linoleic acid에 1% 농도가 되도록 첨가하고 에테르를 제거한 후 보존종의 과산화물가(AOAC 공정법¹⁴⁾와 카아보닐가(2,4-dinitrophenylhydrazine법¹⁵⁾의 변화를 측정하였다.

UV spectrum의 측정

지용성갈변물질의 각 분획분을 각각의 용출용매에 적당한 농도로 용해시켜 UV spectrophotometer(Gilford 사제)로써 측정하였다.

IR spectrum의 측정

지용성 갈변물질의 각 분획분을 NaCl 결정에 0.2mm의 두께로 도포한 후 IR spectrophotometer(Shimadzu사제 IR-400)로써 측정하였다.

결과 및 고찰

지용성 갈변물질의 항산화성

재래식 메주와 된장의 발효 및 숙성중에 생성되는 갈변물질의 함량과 항산화성을 조사하기 위하여 탈지 건조한 메주와 된장으로부터 지용성 갈변물질과 수용성 갈변물질을 구분하여 추출하였다.

메주 발효중의 지용성 갈변물질의 함량은 30일째의 40.1mg/g solid에서 80일째에는 61.5mg/g solid로 증가하였고 된장의 숙성초기에 85.5mg/g solid이었으나 60일 후에는 163.3mg/g solid로 크게 증가하였다. 메주와 된장으로부터 추출한 지용성 갈변물질의 항산화력을 알아보기 위하여 Sephadex LH-20칼럼에 통과시켜 정제한 지용성 갈변물질 구분을 linoleic acid에 1% 농도로 첨가하고 40°C 보존종의 과산화물가와 카아보닐

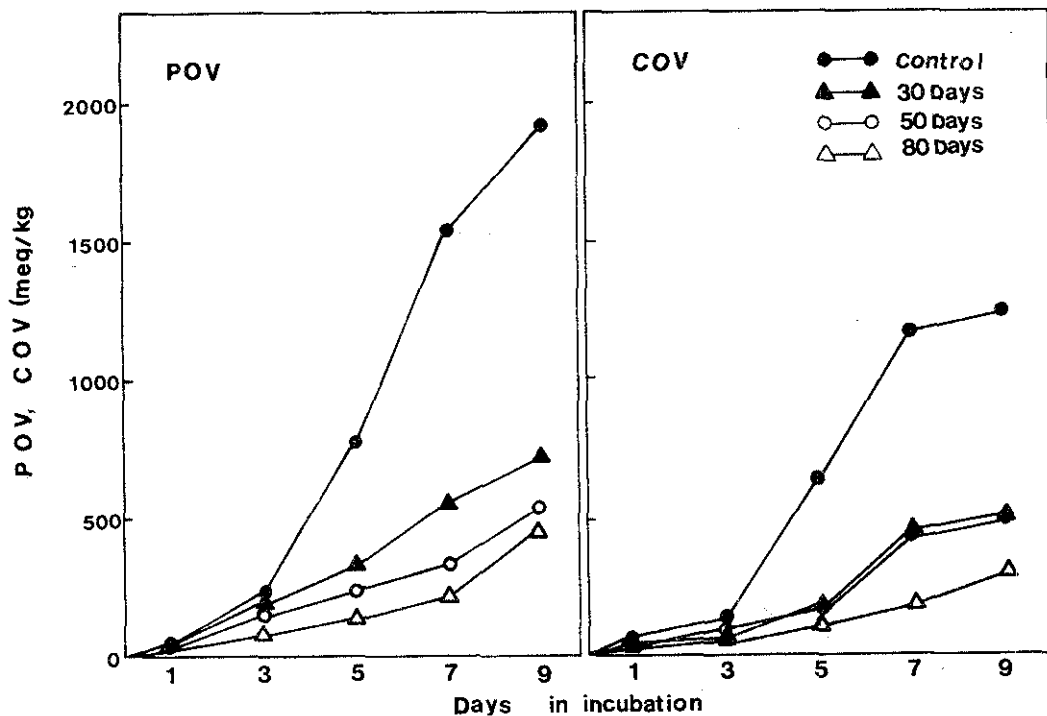


Fig. 1. Changes in peroxide value(POV) and carbonyl value(COV) of linoleic acid after addition of lipophilic brown pigments extracted from Meju by different fermentation period at 1% level.

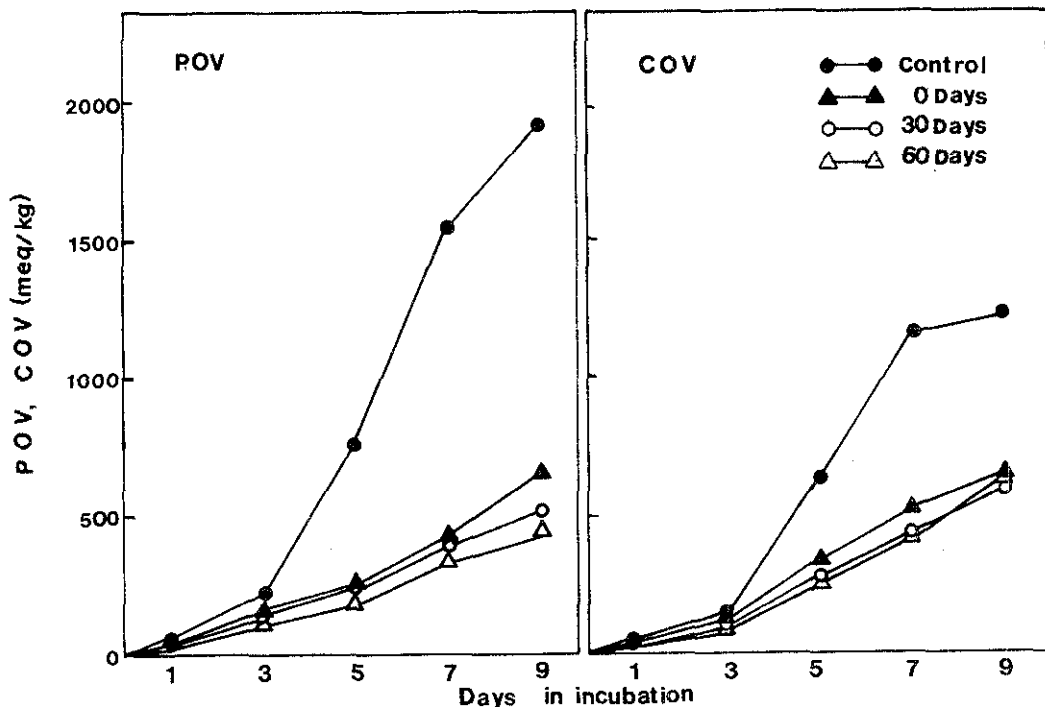


Fig. 2. Changes in peroxide value(POV) and carbonyl value(COV) of linoleic acid after addition of lipophilic brown pigments extracted from Doenjang by different aging period at 1% level.

가의 변화를 측정하였다. Fig. 1과 2에 나타난 결과를 보면 보존 9일째의 대조구의 과산화물가는 1916.7 meq/kg이었는데 갈변물질 첨가구에서는 30일간 발효 후의 메주에서 715.0meq/kg이었고 80일간 발효된 메주와 60일간 숙성시킨 된장에서는 각각 450.8meq/kg 과 470.0meq/kg으로써 linoleic acid에 대한 산화억제 효과를 나타내었으며 카아보닐가의 측정 결과에서도 이와 비슷한 결과를 분수 있었다.

지용성 갈변물질의 분리 및 항산화력

지용성 갈변물질중의 항산화유효 물질구분을 분리하기 위하여 용매의 극성을 이용한 분리를 시도하였다. 먼저 지용성 갈변물질을 클로로포름 가용성물질구분과 메탄올 가용성물질구분으로 분리한 결과, 발효중의 메주에서는 클로로포름 가용성물질구분이 430.0~529.3mg/g solid이었고 메탄올 가용성물질구분은 132.3~231.6mg/g solid이었는데 침장기간을 거친 후의 된장 숙성중에는 각각 90.0~125.7mg/g solid와 536.0~571.7mg/g solid로써 메탄올 가용성물질구분이 크게 증가되었으므로 침장중에 지용성 갈변물질의 화학적 변화가 크게 일어나고 있음을 알 수 있다. 양 구분을 각각 linoleic acid에 1%로 첨가하여 항산화력을 측정한 결과는 Table 1과 같은데 보존 7일째에 대조구의 과산화물가가 1532.2meq/kg인데 비하여 클로로포름 가용성물질의 첨가구는 메주에서 741.6meq/kg, 된장에서 685.4meq/kg의 값을 보였고 메탄올 가용성물질구분의 첨가구는 메주에서 84.0meq/kg, 된장에서 62.6meq

/kg의 값을 나타내어 메탄올 가용성물질구분중에 항산화효력이 큰 물질이 있는 것으로 판단되었다. 클로로포름 가용성물질구분을 silicic acid 칼럼크로마토그래피로써 분리하였을 때 각 분획분의 함량비를 보면 80일간 발효된 메주와 60일간 숙성시킨 된장에서 각각 클로로포름 용출분이 40.2%와 64.6%, 클로로포름/메탄올 혼합 용출분이 49.1%와 20.8%, 메탄올 용출분이 10.7%와 14.6%를 나타내었다.

Table 2는 클로로포름 가용성물질구분의 칼럼 분획분들의 갈변도를 측정한 결과로서 메탄올의 혼합비율이 높은 구분일수록 갈변도가 높은 경향을 나타내었는데 80일간 발효된 메주의 경우를 보면 클로로포름 분

Table 1. Changes in peroxide values of linoleic acid after addition of chloroform and methanol extract from lipophilic brown pigments at 40°C

Sample	Chloroform extract			Methanol extract		
	Days of storage			Days of storage		
	3	5	7	3	5	7
Control	230.4	770.1	1532.5	230.4	770.1	1532.5
Meju						
30 days	231.6	519.1	1025.4	78.0	93.1	122.6
50 days	197.7	471.7	856.1	81.0	100.3	137.7
80 days	134.7	387.3	741.6	45.9	68.7	84.0
Doenjang						
0 days	202.0	431.3	704.5	35.8	53.5	76.0
30 days	129.7	369.3	645.7	26.8	32.7	70.6
60 days	125.7	371.0	685.4	26.0	42.7	62.6

Table 2. Color intensity of silicic acid column fractions of chloroform extract from lipophilic brown pigments

Fraction	Absorbance					
	400nm			440nm		
Meju	30 days	50 days	80 days	30 days	50 days	80 days
CHCl ₃ (C)	0.040	0.048	0.053	0.027	0.036	0.041
C/M 99 : 1	0.283	0.253	0.435	0.157	0.199	0.334
C/M 98 : 2	0.278	0.330	0.593	0.117	0.322	0.326
C/M 95 : 5	0.761	0.720	1.082	0.381	0.352	0.522
C/M 90 : 10	0.565	0.606	0.647	0.298	0.353	0.380
C/M 80 : 20	0.546	0.464	0.648	0.397	0.246	0.351
MeOH (M)	0.479	0.412	0.431	0.273	0.255	0.277
Doenjang	0 days	30 days	60 days	0 days	30 days	60 days
CHCl ₃ (C)	0.105	0.107	0.213	0.057	0.067	.092
C/M 99 : 1	0.416	0.659	0.867	0.173	0.349	0.388
C/M 98 : 2	0.439	0.572	-	0.160	0.211	-
C/M 95 : 5	-	-	-	-	-	-
C/M 90 : 10	1.203	1.335	1.693	0.579	0.650	0.672
C/M 80 : 20	1.825	0.943	1.361	0.669	0.533	0.772
MeOH (M)	1.143	0.753	1.472	0.565	0.492	0.747

획분은 400nm와 440nm에서 각각 0.053과 0.041로서 가장 낮은 값을 나타내었고 클로로포름(C)/메탄올(M) 95 : 5분획분은 1.082와 0.522로서 가장 높은 값을 나타내었다.

각 분획분을 linoleic acid에 1% 농도로 첨가하여 40°C에서 5일간 보존한 후의 과산화물가를 측정할 결과 (Table 3)를 보면 메주에서는 발효기간이 긴것일수록 항산화력이 증가하는 경향을 보였는데 그 중에서도 C/M 95 : 5와 C/M 90 : 10 분획분의 과산화물가가 각각 111.2meq/kg과 102.8meq/kg으로 높은 항산화력을 나타내었고 된장의 경우는 메주에 비하여 전반적으로 항산화력이 약간 떨어지나 메탄올 분획분만은 더 강한 효력을 나타내었다. 각 분획분의 항산화력은 갈변도와 좋은 상관관계를 보였는데 특히 황색대(400nm)의 흡광도가 높은 분획분일수록 항산화력은 높은 것으로 나타났다.

메탄올 가용성물질구분을 silicic acid 칼럼크로마토그래피로써 분리한 결과를 보면 C/M 80 : 20, C/M 50 : 50 및 메탄올의 분획비가 80일간 발효된 메주에

서는 31.4 : 63.5 : 5.1이었으나 60일간 숙성시킨 된장에서는 25.9 : 49.8 : 24.3의 비율로써 메주에 비해 C/M 80 : 20 분획분과 C/M 50 : 50 분획분의 함량이 적어지고 메탄올 분획분의 함량이 크게 증가하였다.

Table 4는 메탄올 가용성물질구분의 칼럼 분획분들의 갈변도를 나타낸 것으로 메주에서는 C/M 80 : 20 분획분과 C/M 50 : 50 분획분에 비하여 메탄올 분획분의 흡광도가 높게 나타난 반면, 된장에서는 C/M 80 : 20 분획분의 흡광도가 더 높게 나타나 메주의 발효 중에 생성된 갈변물질의 성상이 침장기간 중에 크게 변화되고 있음을 짐작할 수 있었다.

각 분획분의 항산화력을 측정할 결과 (Table 5)를 보면 모든 구분에서 항산화효력이 인정되었는데 각 분획분의 효력의 크기는 메주와 된장에서 거의 같은 수준이었고 메탄올 분획분은 강한 항산화효력을 나타내었다.

박충크로마토그래피에 의한 항산화성물질의 분리 클로로포름가용성물질구분의 silicic acid 칼럼 분획분 중에서 항산화효력이 강하게 나타났던 메주의 C/M

Table 3. Peroxide values of linoleic acid after addition of silicic acid column fractions of chloroform extract incubated for 5 days 40°C (meq/kg)

Sample	Chloroform	Chloroform/Methanol					Methanol
		99 : 1	98 : 2	95 : 5	90 : 10	80 : 20	
Control	770.1						
Meju							
0 days	282.8	155.7	167.0	121.9	123.9	160.4	161.3
50 days	263.1	168.3	178.6	130.2	134.7	170.3	170.6
80 days	268.4	174.3	165.9	111.2	102.8	144.4	146.2
Doenjang							
0 days	669.4	280.1	279.9	-	223.4	193.4	97.5
30 days	667.9	324.2	288.8	-	238.9	201.3	102.5
60 days	582.9	271.5	-	-	216.0	194.8	78.1

Table 4. Color intensity of silicic acid column fractions of methanol extract from lipophilic brown pigments

Fraction	Absorbance					
	400nm			440nm		
Meju	30 days	50 days	80 days	30 days	50 days	80 days
C/M 80 : 20	0.464	0.562	0.607	0.216	0.288	0.335
C/M 50 : 50	0.522	0.653	0.712	0.244	0.271	0.326
MeOH (M)	1.475	1.392	1.658	0.392	0.559	0.774
Doenjang	0 days	30 days	60 days	0 days	30 days	60 days
C/M 80 : 20	0.892	0.885	1.056	0.466	0.475	0.435
C/M 50 : 50	0.309	0.538	0.542	0.236	0.209	0.206
MeOH (M)	0.665	0.509	0.530	0.269	0.243	0.206

95 : 5 분획분과 C/M 90 : 10 분획분을 합하고 된장의 C/M 80 : 20 분획분과 메탄올 분획분을 합하여 2개의 구분을 만들어 박층크로마토그래피를 실시한 결과 각각 R_f치 0.08, 0.22, 0.35 및 0.48 부근의 4개 구분으로 분리되었다 (Fig. 3). 박층상에서 분리된 각 분획분은 된장의 분획분 4를 제외하고 모두 ninhydrin 반응 양성의 형광성물질로서 검출되었는데 특히 분획분 1과 2에서 강하게 나타났다. 박층분획분들의 항산화력을 측

정한 결과 (Table 6)를 보면 메주의 분획분 2와 된장의 분획분 1, 2 및 3에서 항산화효력이 인정되었다.

메탄올 가용성물질구분의 silicic acid 칼럼 분획분 중에서 C/M 50 : 50 분획분과 메탄올 분획분을 합한 구분의 박층크로마토그래피에서는 메주에서 R_f치 0.1,

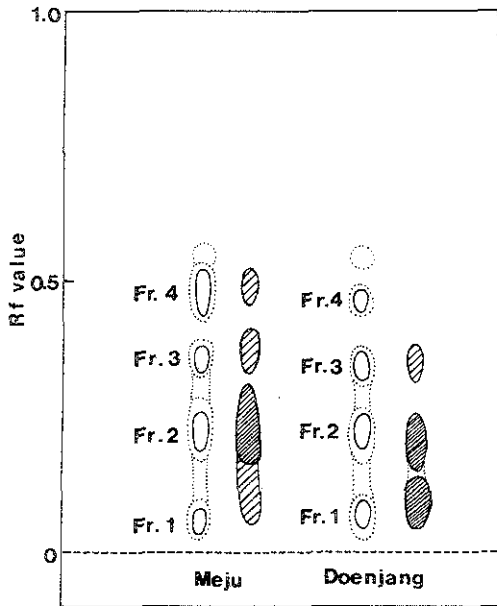


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of chloroform extract from lipophilic brown pigment in Meju and Doenjang. Plate : precoated silica gel 60(Merck), development system : chloroform/methanol/acetic acid/water (85 : 10 : 1 : 2, v/v) ○ Visible brown ○ UV fluorescence ● Ninhydrin positive

Table 5. Peroxide values of linoleic acid after addition of silicic acid column fractions of methanol extract incubated for 5 days at 40° C (meq/kg)

Sample	Days of storage		
	80 : 20	50 : 50	MeOH
Control	770.1		
Meju			
30 days	112.5	73.6	37.5
50 days	102.6	80.7	42.0
80 days	99.7	66.1	32.9
Doenjang			
0 days	95.2	70.9	35.5
30 days	86.7	66.9	40.0
60 days	79.7	52.6	34.9

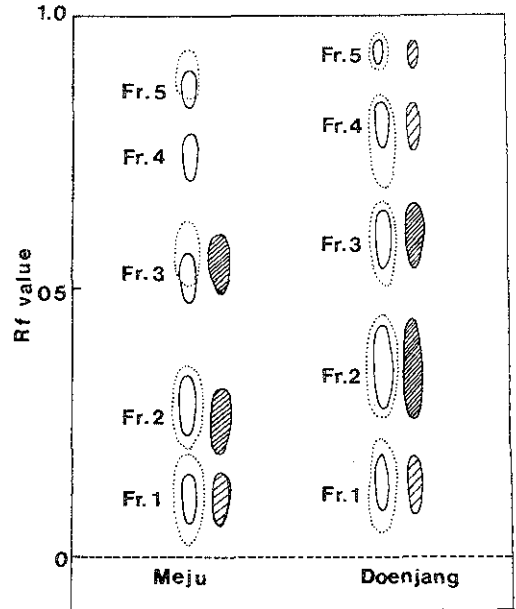


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of methanol extract from lipophilic brown pigment in Meju and Doenjang. Plate : precoated silica gel 60(Merck), development system : chloroform/methanol/acetic acid/water (75 : 20 : 1 : 2, v/v) ○ Visible brown ○ UV fluorescence ● Ninhydrin positive

Table 6. Changes in peroxide values of linoleic acid after addition of silica gel thin-layer fractions of chloroform extract from lipophilic brown pigments (meq/kg)

Fraction	Days of storage	
	3	5
Control	230.4	770.1
Meju		
Fr. 1	205.7	420.6
Fr. 2	146.8	190.6
Fr. 3	318.1	528.2
Fr. 4	277.6	448.6
Doenjang		
Fr. 1	200.2	252.7
Fr. 2	136.6	199.1
Fr. 3	277.8	292.6
Fr. 4	430.6	610.2

0.58, 0.51, 0.75 및 0.87부근의 5개 구분과 된장에서 R_f치 0.12, 0.32, 0.58, 0.80 및 0.94부근의 5개 구분으로 분리되었다(Fig. 4). 박층상의 10개의 분획분중 메주의 분획분 4와 분획분 5를 제외한 모든 분획분이 ninh-

hydrin반응 양성의 형광성물질로서 검출되었는데 특히 분획분 2와 3에서 강하게 나타났다. 이들 분획분의 항산화력 측정 결과(Table 7), 모든 분획분에서 항산화효력이 인정되었으나 특히 메주와 된장의 분획분 2가 강한 항산화효력을 나타내어 ninhydrin 반응성과 형광성이 강하게 나타난 구분일수록 항산화효력이 큰 것으로 드러났다.

Table 7. Changes in peroxide values of linoleic acid after addition of silica gel thin-layer fractions of methanol extract from lipophilic brown pigments

Fraction	Days of storage	
	3	5
Control	230.4	770.1
Meju		
Fr. 1	125.3	140.6
Fr. 2	31.9	44.7
Fr. 3	101.8	132.1
Fr. 4	215.1	277.6
Fr. 5	130.1	178.6
Doenjang		
Fr. 1	140.6	166.2
Fr. 2	30.6	40.2
Fr. 3	120.6	166.1
Fr. 4	316.1	362.1
Fr. 5	142.1	196.7

박층크로마토그래피 분획분의 분광학적 특성

지용성 갈변물질구분의 silicic acid 칼럼 분획분의 UV spectrum을 검토한 바에 따르면 항산화력이 약했던 분획분은 카아본산과 그 ester의 흡수대인 242nm의 흡수가 크고 아미노 화합물의 흡수대인 262nm의 흡수는 작았으며 항산화력이 강했던 분획분은 242nm의 흡수는 없고 262nm의 흡수만 크게 나타났다. 박층 분획분의 UV spectrum (Fig. 3과 4)을 보면 클로로포름 가용성 물질구분의 각 분획분은 240nm에서 280nm에 걸친 폭 넓은 흡수를 나타내었고 (Fig. 5) 메탄올 가용성물질구분의 각 분획분은 260nm부근에 특징적인 흡수를 나타내었는데 (Fig. 6) 항산화효력이 강했던 분획분은 260nm 부근의 흡수가 270nm 부근으로 벗어나고 있으므로 공

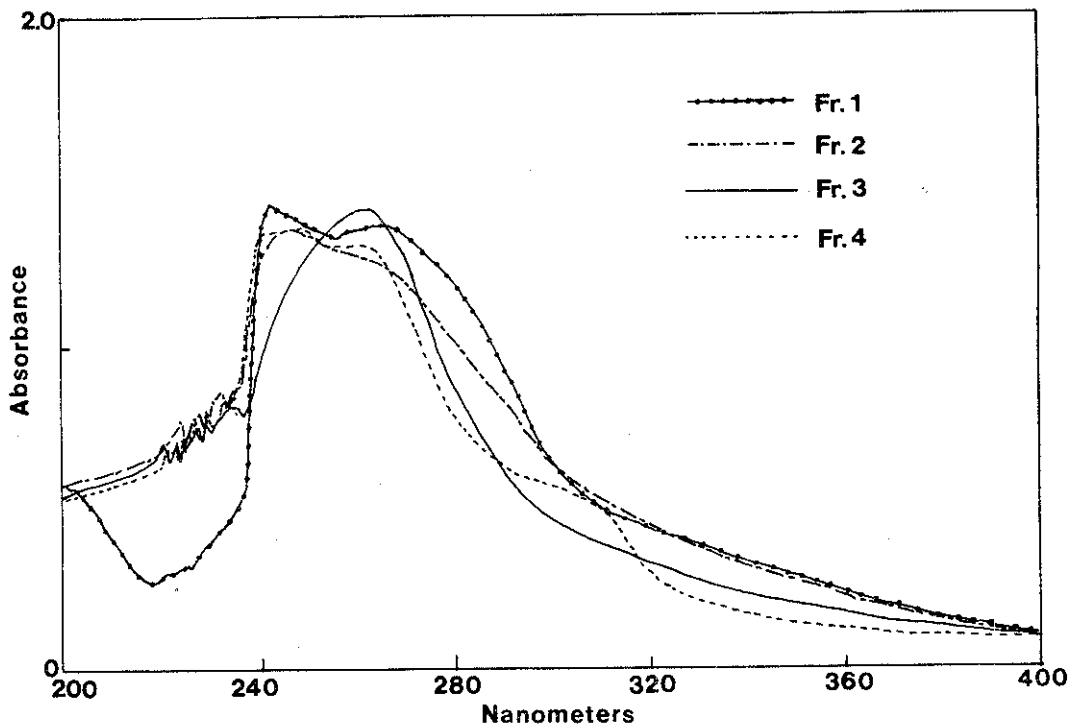


Fig. 5. UV spectra of silica gel thin-layer fractions of chloroform extract from lipophilic brown pigments in Meju.

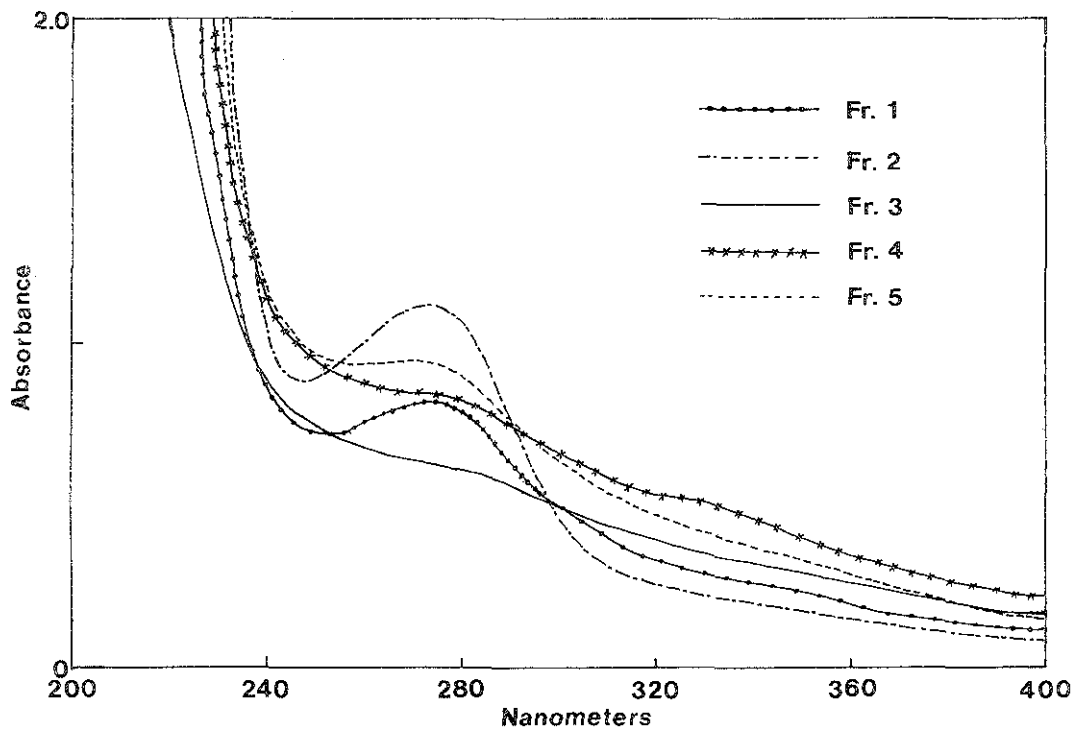


Fig. 6. UV spectra of silica gel thin-layer fractions of methanol extract from lipophilic brown pigments in Meju.

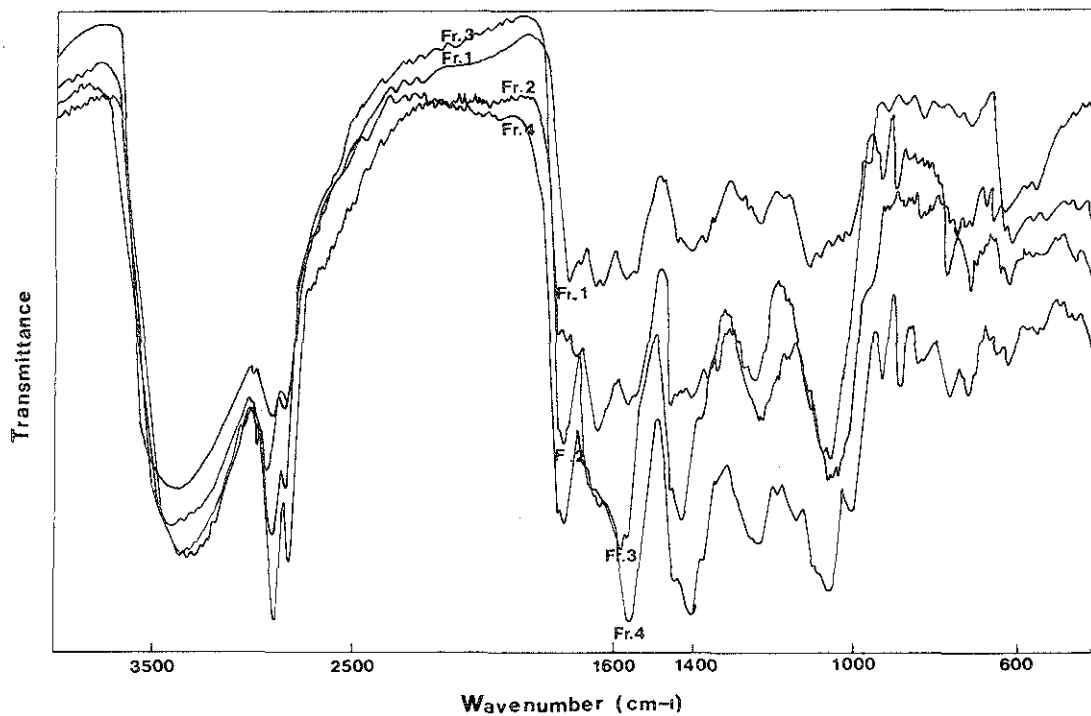


Fig. 7. IR spectra of silica gel thin-layer fractions of chloroform extract from lipophilic brown pigments in Meju.

역 이중결합을 가진 알데하이드 화합물이나 아미노 화합물의 함량이 높기 때문이 아닌가 생각될 뿐이고 그 이외의 특징은 찾아볼 수 없었다.

박층 분획분의 IR 측정 결과에서는 클로로포름 가용성물질구분 (Fig. 7)이나 메탄올 가용성물질구분 (Fig. 8)의 분획분이 유사한 spectrum을 보였는데 3400cm⁻¹ 부근의 OH, 2800cm⁻¹ 부근의 CH, 1700cm⁻¹ 부근의 C=O, 1600cm⁻¹와 1100cm⁻¹ 부근의 CH-NH₂, 1400cm⁻¹ 부근의 -CH₂-CH₂, 1300cm⁻¹ 부근의 -CH=CH⁻의 흡수 및 900cm⁻¹에서 700cm⁻¹에 걸치는 작은 흡수 등이 대부분의 분획분에서 공통적으로 나타났다. 특히 강한 항산화력을 보였던 분획분 2 (Fr.2)의 경우에는 1700cm⁻¹ 부근의 흡수는 없고 1600cm⁻¹, 1100cm⁻¹ 부근에서 강한 흡수를 보였는데 이러한 현상은 메주와 된장에서 동일하게 나타났다. Maruyama 등¹³⁾은 당과 아미노산의 Maillard 반응생성물은 3320cm⁻¹와 1100~1000cm⁻¹에서의 OH 흡수와 1635cm⁻¹의 -C=C⁻ 흡수가 특징적이고, 1710cm⁻¹에서는 산화유에서 유래하는 것으로 생각되는 카아보닐의 흡수를 나타낸다고 하였고 유 등¹⁴⁾은 아미노산 xylose 갈변반응물질의 항산화성에 관한 연구에서 항산화 유효구분의 IR spectrum을 검토하여 3320 cm⁻¹, 1800cm⁻¹, 1700cm⁻¹, 1630~1620cm⁻¹ 및 1130~

1045cm⁻¹에서 특징적인 흡수를 나타낸다고 보고한 바 있다. 본 실험 결과에서도 유 등이 지적한 항산화성물질의 특징적인 흡수가 모두 나타났으므로 지용성 갈변물질의 항산화효력을 해명하는 기초자료가 되었으며 화학구조상으로는 2800cm⁻¹와 1400cm⁻¹ 부근의 공통적인 흡수로서 Schiff's base의 형태와 1600cm⁻¹와 1100 cm⁻¹ 부근의 공통적인 흡수로서 지방족 제 1 아민의 구조를 확인할 수 있었으며 1700cm⁻¹ 부근의 강한 흡수를 나타낸 분획분에서는 카아본산과 카아본산 ester의 구조를 확인할 수 있었다.

요 약

재래식 메주와 된장의 발효 및 숙성중에 생성되는 지용성 갈변물질을 칼럼크로마토그래피 및 박층크로마토그래피에 의하여 분리하고 각 분획분의 항산화력과 화학적 성상을 비교 검토하였다. 지용성 갈변물질 중에는 클로로포름 가용성물질과 메탄올 가용성물질의 함량이 메주에서는 각각 529.3mg/g solid와 231.6 mg/g solid, 된장에서는 125.7mg/g solid와 571.7mg/g solid로서 메주에서는 클로로포름 가용성물질이 많았고 된장에서는 메탄올 가용성물질이 많았는데 메탄

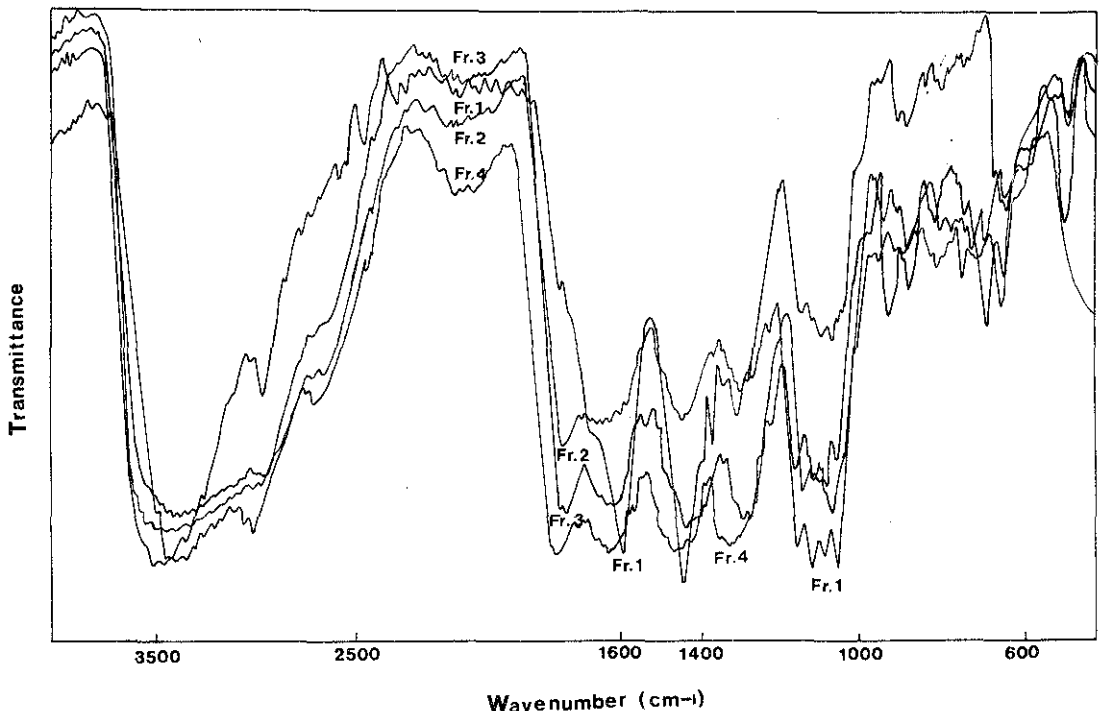


Fig. 8. IR spectra of silica gel thin-layer fractions of methanol extract from lipophilic brown pigments in Meju.

을 가용성물질구분은 강한 항산화력을 나타내었다. 메탄올 가용성물질구분은 silicic acid 칼럼크로마토그래피로 분획하여 항산화 효력을 측정한 결과 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 80 : 20 < $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 50 : 50 < CH_3OH 분획분의 순으로 높은 항산화력을 나타내었다. 클로로포름 가용성물질구분과 메탄올 가용성물질구분은 silica gel 박층상에서 각각 4개 구분과 5개 구분으로 분리되었다. 박층 분획분의 UV spectrum을 보면 항산화력이 약했던 분획분은 카야본산과 그 ester의 흡수대인 240nm 부근의 흡수가 크고 항산화력이 강했던 분획분은 아미노화합물의 흡수대인 260nm 부근에 특징적인 흡수를 나타내었다. 박층분획분의 IR spectrum에서는 3400cm^{-1} 부근의 OH, 2800cm^{-1} 부근의 CH, 1700부근의 C=O, 1600cm^{-1} 와 1100cm^{-1} 부근의 CH-NH₂, 1400cm^{-1} 부근의 -CH₂-CH₂, 1300cm^{-1} 부근의 -CH=CH-의 흡수 및 900cm^{-1} 에서 700cm^{-1} 에 걸치는 작은 흡수등이 대부분의 분획분에서 공통적으로 나타났다. 특히 강한 항산화력을 보였던 분획분에서는 2800cm^{-1} 와 1400cm^{-1} 부근의 공통적인 흡수로써 Schiff's base의 형태와 1600cm^{-1} 와 1100cm^{-1} 부근의 공통적인 흡수로서 제 1아민의 구조가 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 연구비지원 (과제번호 : KOSEF 901-1508-011-2)에 의하여 수행된 연구의 일부이며 이에 감사드립니다.

문헌

- Ebata, J., Fukuda, Y., Hirai, K. and Murata, K. : β -Glucosidase involved in the antioxidant formation in tempeh, fermented soybean. *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, **46**, 323 (1972)
- Hammerschmidt, P. and Pratt, D. : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food. Sci.*, **43**, 556 (1978)
- Rhee, K. S., Ziprin, Y. A. and Rhee, K. C. : Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients. *J. Food. Sci.*, **46**, 75 (1981)
- Pratt, D., Pietro, C. D., Porter, W. L. and Giffey, J. W. : Phenolic antioxidants of soy protein in hydrolysates. *J. Food. Sci.*, **47**, 24 (1982)
- 이종호, 김미혜, 임상선 : 재래식 메주 및 된장증의 항산화성 물질에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, **20**, 148 (1991)
- Yamaguchi, N., Yokoo, Y. and Fujimaki, M. : Antioxidative activities of miso and soybean sauce on linoleic acid. *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, **26**, 71 (1979)
- Yamaguchi, N., Naito, S., Yokoo Y. and Fujimaki, M. : Changes in antioxidative activity of nonsalted soybean miso during maturation. *J. Food Sci. Technol.*, **29**, 407 (1982)
- Yamaguchi, N. and Akatsuka, S. : Antioxidant preparations from non-salted soybean miso. *J. Food Sci. Technol.*, **31**, 278 (1984)
- 문갑순, 최홍식 : 양조간장의 항산화작용 및 항산화성 물질에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **19**, 537 (1987)
- 최홍식, 박경숙, 문갑순, 박건영 : 지방질의 산화에 대한 된장 및 그 추출물의 항산화 특성. *한국영양식량학회지*, **19**, 163 (1990)
- Motai, H. and Inoue, S. : Oxidative browning in color of shoyu. *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, **48**, 579 (1974)
- 문갑순, 최홍식 : 양조간장으로 부터 항산화성물질의 분리 및 그 특성. *한국식품과학회지*, **22**, 461 (1990)
- A.O.A.C. : *Official Method of Analysis*. 14th ed., Association of Official analytical chemists. Washington, D. C., p.223 (1980)
- Hernick, A. S., Benca, M. F. and Michell, Jr. : Estimating carbonyl compounds in rancid fats and food. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 38 (1954)
- Maruyama, M., Fujimoto, K. and Kaneda, T. : Antioxidative activity of browning products derived from autoxidized oil. *J. Food Sci. Technol.*, **17**, 281 (1970)
- 유병진, 이강호, 김장량, 이종호 : Amino산-xylose 갈변물질의 항산화성. 1. 아미노산과 갈변반응물질의 항산화성. *한국수산학회지*, **19**, 1 (1986)

(1994년 1월 7일 접수)