J. Korean Soc. Food Nutr.
23(4), 604 ~ 613(1994)

재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구
3. 수용성 갈변물질의 항산화력

이종호† · 김미혜 · 임상선 · 김성희 · 김경업
경상대학교 식품영양학과

Antioxidative Materials in Domestic Meju and Doenjang
3. Separation of Hydrophilic Brown Pigment and Their Antioxidant Activity

Jong-Ho Lee†, Mi-Hye Kim, Sang-Sun Im, Sung-Hee Kim and Gyeong-Eup Kim
Dept. of Food Science and Nutrition, Gyengsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

Hydrophilic brown pigments (HBPs) produced during fermentation and aging of the domestic Meju and Doenjang were separated by dialysis and chromatography, and their antioxidant activity were measured. The chemical properties of HBP were determined by UV and IR spectrophotometry. HBPs contents were found to be 93.1mg/g and 183.2mg/g in Meju fermentated for 30 days and 80 days, respectively. The ratio of dialysate to diffusate of the HBPs were appeared to be 70 : 30 and 87 : 13 in the Meju fermented for 30 days and 80 days, respectively, and the ratio in the Doenjang aged for 60 days was 91 : 9, indicating that dialysate slowly increased by the fermentation. Both portion exhibited strong antioxidant activity, but more stronger antioxidant activity was found in the dialysate. DEAE-cellulose column chromatography showed that dialysate contained more materials eluted by 0.01~0.03M HCl solution than 0.01M acetate buffer, but diffusate showed opposite results. The degree of browning reaction and antioxidant activity found in the fraction eluted by HCl solution was stronger than that of the fraction eluted by acetate buffer. The fraction eluted from DEAE-cellulose column chromatography was further fractionated by TLC and found that strong antioxidant activity was present in the fractions which did not possess fluorescence and showed a negative ninhydrin reaction. TLC fractions of HCl eluant in Meju exhibited a strong absorbance at 260~280nm, but most of other fractions did not show any absorbance at UV region. TLC fractions from dialysate and diffusate showed fairy identical IR spectrum with absorbance at 3400cm^{-1}, 2800~3000cm^{-1}, 1600cm^{-1}, 1400cm^{-1} and 1100cm^{-1}, however, in addition to these absorbances, the spectrum from HCl eluant of Meju exhibited a strong absorbance at 1750cm^{-1}, indicating the carbonic acid or carbonate ester.

Key words : Meju, Doenjang, brown pigments, antioxidant activity

서 론

메주 및 된장 중에는 지질의 함량이 높을 뿐만 아니라 linoleic acid와 linolenic acid가 지방산 조성의 60% 이상을 차지하고 있음에도 불구하고 함유 지질이 자동산화에 대하여 높은 안정성을 보이는 것은 페놀 화합물과 갈변물질의 항산화작용에 의한 것으로 밝혀졌다[1]. 강한 항산화효력이 있는 것으로 밝혀진 메주 및 된장중의 갈변물질은 발효 및 숙성중에 여러 종류의 성분 물질들간의 반응에 의하여 생성될 것이므로 다수의 혼합물로써 존재할 것으로 예상된다. 더우기 장기간의 발효과정을 거치게 되는 재래식 메주의 경우에는 원료중의 성분의 분해 및 변화가 심하므로 갈변반응의 정도가 높고 생성물의 종류도 다양할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 재래식 방법으로 제조한 메주와 된장중에 생성된 갈변물질을 분리 정제하여 항산화효력을 측정하고 항산화 유효물질 구분의 이화학적 성상을 밝히고자 하였다. 연구결과의 일부로써 전보[2]에서는 메주와 된장중의 지용성 갈변물질에 대하여 검토하였고 이어서 본 보고서에서는 수용성 갈변물질 구분을 칼럼크

† To whom all correspondence should be addressed

로마토그래피와 박층크로마토그래피를 이용하여 분리하고 각 분획분의 항산화효력과 이화학적 성상을 조사한 결과를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

시료

전보[2]에서와 동일한 시료를 사용하였다. 즉 재래식 방법으로 80일간 발효시킨 메주와 발효 후의 메주를 18%의 소금물에 60일간 침지한 후 간장을 걸러내고 60일간 숙성시킨 된장을 발효 및 숙성기간별로 채취하여 동결 건조시키고 탈지 분쇄하여 시료로 하였다.

수용성 갈변물질의 추출 및 분획

클로로포름/메탄올(2 : 1) 혼액으로써 지용성 갈변물질 구분을 추출하고 남은 잔사에 메탄올/물(1 : 1) 혼액을 가하여 수용성 갈변물질 구분을 추출하고 sephadex G-50 칼럼을 통과시켜 정제한 후 10배량의 증류수에 투석(Sigma 250-7U 투석막)하여 투석 내액물질 구분과 투석 외액물질 구분으로 분리하였다. 분리된 양 구분은 진공 증발기로써 농축하고 각각 DEAE-cellulose 칼럼 크로마토그래피에 의하여 0.01M 초산완충액→0.01M 염산→0.02M 염산→0.03M 염산용액 순으로 용출시켜 분획하였다.

박층 크로마토그래피에 의한 분리

수용성 갈변물질의 칼럼 크로마토그래피 분획분을 cellulose (sigmacell type 100) 박층상에서 1-부탄올/초산/물(4 : 1 : 5) 혼액으로써 전개하여 분리하고 UV 조사(365nm)와 ninhydrin 시약에 의한 발색으로 형광성과 ninhydrin 반응성을 각각 확인하였다.

갈변도의 측정

DEAE-cellulose 칼럼에서 분획한 수용성 갈변물질의 각 분획분을 칼럼 분획시 사용한 각각의 용출용매로써 1%용액을 만들어 400nm와 440nm에서의 흡광도를 측정하였다.

항산화효력의 측정

Linoleic acid 1g에 동결 건조한 수용성 갈변물질의 각 분획분을 1% 농도가 되도록 첨가하고 카아보닐을 제거한 에탄올 20ml와 0.02M 인산 완충액 25ml를 가하여 용해 시킨 후 40°C에서 보존 중의 과산화물가(AOAC 공정법[10])와 카아보닐가(2,4-Dinitrophenylhydrazine법[11])의 변화를 측정하였다.

UV spectrum의 측정

수용성 갈변물질의 각 분획분을 각각의 용출 용매에 적당한 농도로 용해시켜 UV spectrophotometer (Gilford response)로써 흡수스펙트럼을 측정하였다.

IR spectrum의 측정

동결건조한 수용성 갈변물질의 각 분획분에 분광 분석용 KBr을 가하고 가압하여 정제를 만들어 IR spectrophotometer (Shimazu IR-400)로써 흡수스펙트럼을 측정하였다.

결과 및 고찰

수용성 갈변물질의 생성과 항산화성

재래식 메주와 된장중에 생성된 수용성 갈변물질의 함량을 측정해 본 결과, 메주의 발효중에는 30일 후의 93.1mg/g solid에서 80일 후에는 183.2mg/g solid로 수용성 갈변물질의 생성량이 크게 증가하였으나 된장의 숙성중에는 초기의 함량 141.1mg/g solid에서 60일 후에는 171.1mg/g solid로써 증가의 폭이 작았다. 메주와 된장중에 생성된 수용성 갈변물질의 항산화력을 조사하기 위하여 추출한 갈변물질 구분을 sephadex G-50 칼럼을 통과시켜 정제한 후 linoleic acid에 1% 농도로 첨가하여 40°C 보존중의 과산화물가와 카아보닐가의 변화를 측정하였다. Fig. 1과 2에서 과산화물가의 변화를 보면 대조구에서는 초기부터 지속적으로 증가하여 보존 9일째에 1916.7meq/kg의 값을 나타내었는데 80일간 발효된 메주로 부터 추출한 수용성 갈변물질 첨가구(80일 발효 메주구)에서는 24.1meq/kg, 60일간 숙성시킨 된장으로 부터 추출한 수용성 갈변물질 첨가구(60일 숙성 된장구)에서는 39.2meq/kg으로써 수용성 갈변물질의 첨가에 의하여 linoleic acid의 산화가 크게 억제되었음을 알 수 있었다. 카아보닐가의 측정 결과에서도 과산화물가와 동일한 결과를 나타내었고 발효기간에 따른 차이는 찾아볼 수 없었으므로 Maillard형 갈변물질중의 항산화성 유효물질은 반응초기에 형성된다는 보고[9]와는 부합되지 않고 오히려 발효 후기에 생성된 갈변물질의 항산화력이 더 강한 경향을 나타내었다.

수용성 갈변물질의 분리 및 항산화력

수용성 갈변물질 구분을 투석에 의하여 분리하였을

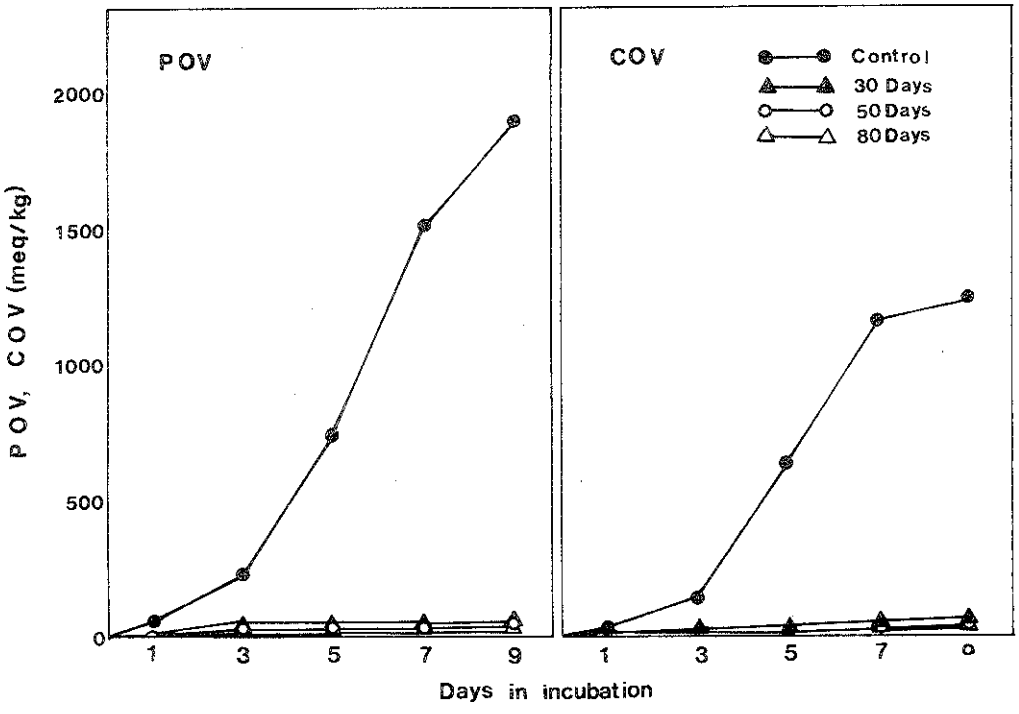

Fig. 1. Changes in peroxide value (POV) and carbonyl value (COV) of linoleic acid after addition of hydrophilic brown pigments extracted from Meju by different fermentation period at 1% level.

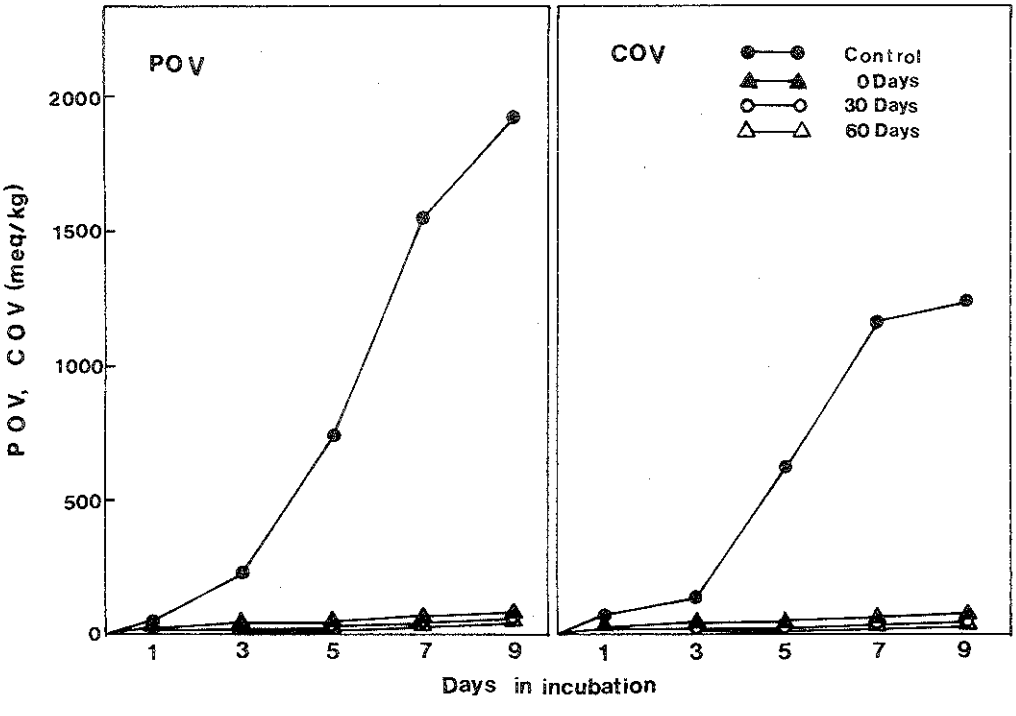

Fig. 2. Changes in peroxide value (POV) and carbonyl value (COV) of linoleic acid after addition of hydrophilic brown pigments extracted from Doenjang by different aging period at 1% level.

때 투석 외액물질 구분과 투석 내액물질 구분의 함량비는 30일 발효 메주구에서는 70 : 30이었으나 80일 발효 메주구에서는 87 : 13이었고 60일 숙성 된장구에서는 91 : 9로써 투석 내액물질 구분의 비율은 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향을 보였다. 투석 외액물질 구분과 내액물질 구분의 항산화효력을 측정한 결과(Table 1)를 보면 보존 7일째의 대조구의 과산화물가가 1533.5meq/kg인데 비하여 80일 발효 메주구에서는 각각 22.8meq/kg과 28.1meq/kg이었고 60일 숙성 된장구에서는 각각 38.9meq/kg과 35.6meq/kg으로 측정되어 양 구분이 모두 강한 항산화력을 나타내었다.

투석 외액물질 구분을 DEAE-cellulose 칼럼으로 분획하였을 때의 용출량을 보면 메주구에서는 0.01M 초산 완충용액의 용출분이 85~90%이었고 0.01~0.03M 염산용액의 용출분이 10~15%이었으나, 된장구에서는 0.01M 초산 완충용액의 용출분은 65~83%로 메주구에 비하여 감소한 반면에 0.01M 염산용액에서 17~35%의 많은 양이 용출되었고 0.02M 및 0.03M 염산용액의 용출분이 없었으므로 침장기간 중에 갈변물질의 극성이 변화되고 있음을 시사하였다. 투석 외액물질 구분의 칼럼 분획분의 갈변도(Table 2)를 보면 80일 발효 메주구의 0.01M 초산 완충용액 분획분은 400nm 및 440nm의 흡광도가 각 각 0.324와 0.126이었으나 0.01M 염산용액의 분획분은 각각 1.245와 0.500으로 높은 값을 나타내었다. 60일 숙성 된장구의 경우에는 0.01M 초산 완충용액 분획분에서 1.219와 0.909, 0.01M 염산용액 분획분에서는 각각 2.837과 2.612의 높은 흡광도를 나타내어 갈변도가 계속하여 증가되고 있음을 알 수 있었다. Table 3은 투석 외액물질 구분의 칼럼 분획분의 항산화력을 나타낸 것으로써 각 분획분들은 갈변도 및 화학적 성질 등이 상이한데도 불구하고 모든 분획분이 강한 항산화력을 나타내었다. 특히 다른 분획분들에 비하여 갈변도가 아주 낮았던 메주의 0.01M 초산 완충용액 분획분도 대등한 항산화효력을 나타내었으므로 수용성 갈변물질의 투석 외액물질 구분 중에는 갈변물질 이외에 갈변 중간생성물이나 질소화합물 등이 항산화작용을 하고 있는 것으로 생각되었다.

투석 내액물질 구분을 DEAE-cellulose 칼럼으로 분획하였을 때에는 0.01M 초산 완충용액의 용출분이 메주구에서 54~78%, 된장구에서 54~71%가 용출되어 투석 외액물질 구분의 용출량에 비하여 적었으며 0.01~0.03M 염산용액의 용출분은 각각 22~46%와 29~46%로써 증가하여 극성이 높은 물질이 투석 내액물질 구분중에 많이 존재하고 있음을 알 수 있었다. 특히 된장에서는

Table 1. Peroxide values of linoleic acid after addition of dialized fractions of hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang (meq/kg)

Sample	Days of storage			
	5		7	
	Diffusate	Dialysate	Diffusate	Dialysate
Control	770.1		1532.5	
Meju				
30days	27.9	33.2	30.1	36.6
50days	30.5	33.8	32.9	35.4
80days	20.7	25.6	22.8	28.1
Doenjang				
0days	30.4	21.7	47.6	35.1
30days	36.7	28.0	52.7	36.8
60days	29.2	25.6	38.9	35.6

Table 2. Color intensity of DEAE-cellulose column fractions of diffusate from hydrophlic brown pigments in Meju and Doenjang

Fraction	Absorbance					
	400nm			440nm		
Meju	30d[3]	50d	80d	30d	50d	80d
0.01M AcOH[1]	0.225	0.276	0.324	0.100	0.111	0.126
0.01M HCl[2]	0.713	0.545	1.245	0.290	0.225	0.500
0.02M HCl	1.123	0.915	0.777	0.477	0.347	0.296
0.03M HCl	0.970	1.249	1.442	0.389	0.517	0.611
Doenjang	0d	30d	60d	0d	30d	60d
0.01M AcOH	0.563	0.637	1.219	0.391	0.429	0.909
0.01M HCl	1.274	1.538	2.837	1.210	1.455	2.612

[1] Column fraction eluted with 0.01M acetate buffer solution
[2] Column fraction eluted with 0.01M hydrochloric acid solution
[3] d : days

Table 3. Changes in peroxide values of linoleic acid after addition of DEAE-cellulose column fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang (meq/kg)

Fraction	Days of storage					
	3			5		
Control	230.4			770.1		
Meju	30d[1]	50d	80d	30d	50d	80d
0.01M AcOH	46.3	34.4	38.5	56.6	49.1	46.1
0.01M HCl	40.3	40.5	41.7	42.5	44.3	47.1
0.02M HCl	39.0	32.2	42.8	41.7	39.6	59.0
0.03M HCl	38.5	35.9	22.2	42.7	48.2	35.4
Doenjang	0d	30d	60d	0d	30d	60d
0.01M AcOH	36.3	33.6	31.6	47.3	48.5	41.4
0.01M HCl	42.4	40.1	41.6	46.7	50.2	49.8

[1] d : days

숙성기간이 경과함에 따라 염산용액의 용출분이 크게 증가하였으므로 극성이 높은 중합물이 다량으로 생성되는 것으로 판단되었다. 투석 내액물질 구분의 칼럼 분획분의 갈변도(Table 4)를 보면 메주구의 각 분획분은 투석 외액물질 구분에서 보다 더 낮은 값을 보인 반면에 된장구의 염산용액의 분획분은 대단히 높은 값을 나타내고 있으므로 염산용액의 용출량에서도 예상되었던 바와 같이 된장의 수용성 갈변물질 구분중에는 갈색도가 높은 다량의 갈변 중합물이 존재하고 있는 것으로 분석되었다.

Table 5는 투석 내액물질 구분의 칼럼 분획분의 항산화력을 측정한 결과로써 전반적으로 투석 외액물질 구분의 분획분 보다 강한 항산화력을 나타내었는데 염산용액 분획분은 초산 완충용액 분획분에 비하여 항산화 효력이 높은 것으로 나타났다. Yamaguchi와 Fujimaki[6]의 D-xylose-glycine 반응생성물에 대한 연구 결과에서 분자량이 큰 분획분일수록 착색도가 높고 환원력이 강하게 나타난 것은 본 실험 결과와도 무관하지 않을 것으로 생각된다.

Table 4. Color intensity of DEAE-cellulose column fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang

Fraction	Absorbance					
	400nm			440nm		
Meju	30d[1]	50d	80d	30d	50d	80d
0.01M AcOH	0.139	0.106	0.087	0.076	0.057	0.035
0.01M HCl	0.273	0.327	0.605	0.161	0.200	0.356
0.02M HCl	0.547	0.389	0.557	0.317	0.216	0.303
0.03M HCl	-	0.749	1.04	-	0.399	0.486
Doenjang	0d	30d	60d	0d	30d	60d
0.01M AcOH	0.175	0.376	0.299	0.087	0.199	0.137
0.01M HCl	1.028	1.143	1.157	0.943	0.915	1.103
0.02M HCl	2.275	2.448	2.669	2.003	2.129	2.403

[1] d : days

Table 5. Changes in peroxide values of linoleic acid after addition of DEAE-cellulose column fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang (meq/kg)

Fraction	Days of storage					
	3			5		
Control	230.4			770.1		
Meju	30d[1]	50d	80d	30d	50d	80d
0.01M AcOH	30.7	32.6	34.6	38.4	41.7	42.2
0.01M HCl	21.2	20.6	22.6	44.6	43.4	49.1
0.02M HCl	19.7	20.1	20.6	25.8	26.0	26.5
0.03M HCl	-	29.2	24.9	-	36.2	34.9
Doenjang	0d	30d	60d	0d	30d	60d
0.01M AcOH	45.1	43.0	47.6	49.9	50.2	55.7
0.01M HCl	29.2	30.6	24.1	34.1	35.5	37.3
0.02M HCl	32.6	29.2	25.1	42.7	36.9	32.7

[1] d : days

박층크로마토 그래피에 의한 항산화성 물질의 분리

수용성 갈변물질 구분의 투석 외액물질 구분과 투석 내액물질 구분을 DEAE-cellulose 칼럼으로 분획하고 각 분획분의 박층 크로마토그래피를 실시하여 분리 패턴상으로 특징을 보인 대표적인 분획분들의 크로마토그람을 Fig. 3과 4에 나타내었다. 투석 외액물질 구분의 분리(Fig. 3)에서는 메주의 초산 완충용액 분획분으로부터 Fr. 1(Rf치 0.24), 메주의 염산용액 분획분으로 부터 Fr. 2(Rf치 0.31)와 Fr. 3(Rf치 0.65), 된장의 염산용액 분획분으로 부터 Fr. 4(Rf치0.41), Fr. 5(Rf치 0.54) 및 Fr. 6(Rf치 0.77)의 6개 구분이 분리되었다. Ninhydrin 반응성과 형광성을 조사한 결과에서 Fr. 2와 Fr. 4에서는 갈변물질과 ninhydrin 반응성물질이 이탈되고 있으며 Fr. 6은 형광성이 없는 것으로 나타났다. 박층상에 분리된

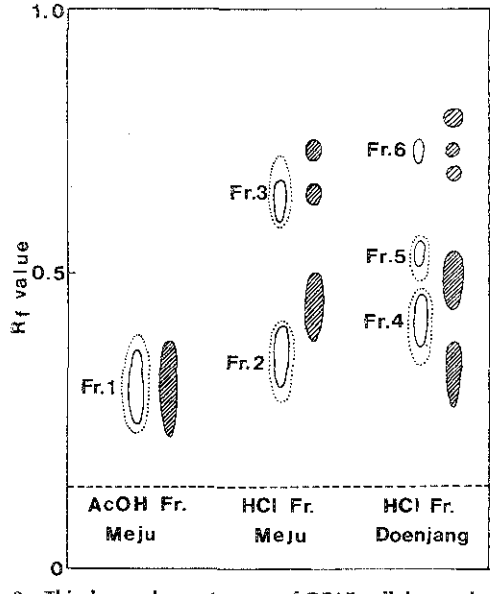

Fig. 3. Thin-layer chromatogram of DEAE-cellulose column fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang.
Plate ; sigmacell type 100
Development system ; n-butanol/AcOH/H_2O (4 : 1 : 5 v/v)
○ Visible brown ◌ UV fluorescence
◍ Ninhydrin positive

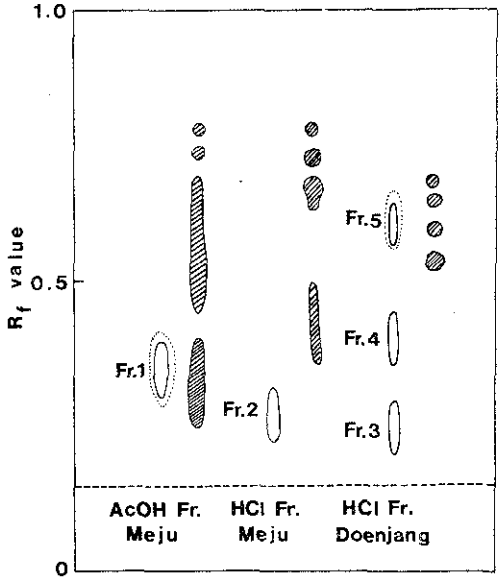

Fig. 4. Thin-layer chromatogram of DEAE-cellulose column **fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang.**
Plate ; sigmacell type 100
Development system ; n-butanol/AcOH/H_2O (4 : 1 : 5 v/v)
○ Visible brown ⋯ UV fluorescence
▨ Ninhydrin positive

Table 6. Changes in peroxide values of linoleic acid of after **addition of cellulose thin-layer fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang** (meq/kg)

Fraction	Days of storage	
	3	5
Control	230.4	770.1
Fr. 1	40.0	52.6
Fr. 2	21.1	27.8
Fr. 3	81.8	110.6
Fr. 4	32.1	44.1
Fr. 5	24.1	30.2
Fr. 6	38.3	47.6

Table 7. Changes of peroxide values of linoleic acid after addition of cellulose thin-layer fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Meju and Doenjang (meq/kg)

Fraction	Days of storage	
	3	5
Control	230.4	770.1
Fr. 1	38.0	44.9
Fr. 2	24.0	32.2
Fr. 3	16.2	24.4
Fr. 4	22.5	31.2
Fr. 5	29.1	33.0

각 구분을 분취하여 항산화력을 측정한 결과(Table 6)를 보면 Fr. 3을 제외한 모든 분획분이 강한 항산화효력을 보였는데 특히 박층상에서 ninhydrin 반응성물질이 이탈되어 있는 것으로 보이는 Fr. 2와 Fr. 5의 효력이 큰 것으로 나타났다.

투석 내액물질 구분의 분리(Fig. 4)에서는 메주의 초산 완충용액 분획분으로 부터 Fr. 1(Rf치 0.29), 메주의 염산용액 분획분으로 부터 Fr. 2(Rf치 0.18), 된장의 염산용액 분획분으로 부터 Fr. 3(Rf치 0.15), Fr. 4(Rf치 0.27) 및 Fr. 5(Rf치 0.62)의 5개 구분으로 분리되었는데 Fr. 2, Fr. 3 및 Fr. 4는 투석 외액물질 구분의 염산용액 분획분에 비하여 극성이 높고 ninhydrin 반응성과 형광성이 모두 없는 것으로 나타났다. 박층상의 각 구분을 분취하여 항산화력을 측정한 결과(Table 7)에서 모든 구분이 강한 항산화효력을 보였으나 Fr. 2, Fr. 3 및 Fr. 4가 더 강한 효력을 보이고 있으므로 수용성 갈변물질의 ninhydrin 반응성이나 형광성은 항산화력과 직접적인 상관관계가 없는 것으로 생각되었다.

박층 크로마토그래피 분획분의 분광학적 특성

수용성 갈변물질의 각 분획분들의 항산화성에 관계되는 구조적 특징을 알아보기 위하여 UV와 IR spectrum을 측정하였다. 투석 외액물질 구분의 박층 분획분들의 자외선 흡수 spectrum(Fig. 5)을 보면 메주의 염산용액 분획분으로 부터 분리된 Fr. 2와 Fr. 3은 260nm에서 280nm에 걸치는 폭 넓은 흡수대를 형성하였으나 된장의 각 분획분으로 부터 분리된 Fr. 4, Fr. 5 및 Fr. 6에서는 특징적인 흡수를 나타내지 않았다. 한편 전 분획분이 고르게 강한 항산화력을 나타낸 투석 내액 구분의 경우에도 메주의 염산용액 분획분의 Fr. 2만 275nm부근에 폭 넓은 흡수를 나타내었고 항산화력이 가장 높

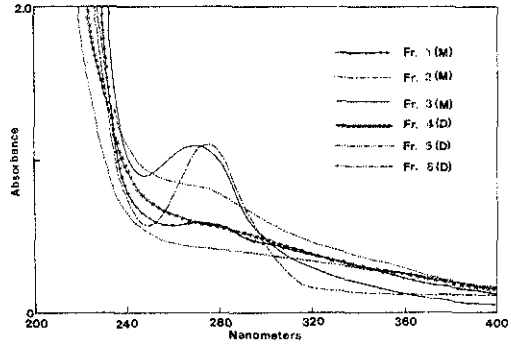

Fig. 5. UV-spectra of cellulose thin-layer fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju (M) and Doenjang (D).

은 Fr. 3을 비롯하여 Fr. 4와 Fr. 5 등의 된장의 분획분은 뚜렷한 흡수곡선을 나타내지 않았다. 따라서 된장에서 분리된 수용성 갈변물질의 각 분획분에는 니트로 화합물이나 공역 이중결합을 가진 알데하이드의 구조를 가진 화합물이 없거나 적은 것으로 밝혀졌다. IR spectrum을 측정한 결과(Fig. 7~10)에서는 투석외액과 내액 구분의 분획분들이 거의 유사한 spectrum을 보였으나 메주의 염산용액 분획분에서는 1750cm^{-1} 부근의 흡수를 나타내어 카아본산 및 ester의 구조를 확인할 수 있었다. 한편 각 spectrum상에 나타난 3400cm^{-1} 부근의 폭넓은 흡수는 1300cm^{-1}와 900cm^{-1} 부근의 탄소간 이중결합에 의한 흡수가 없고 1600cm^{-1}와 1100cm^{-1} 부근에 지방족 아민의 흡수를 나타내고 있으므로 제 1급 amide의 흡수가 강하게 나타나고 있는 것으로 추정되었다. Motai와 Nishzawa[7]은 장유의 갈변물질을 분리하여 IR spectrum을 측정한 결과에서 3300cm^{-1} 부근의 OH 또는 NH의 흡수와 1630cm^{-1} 부근의 C-OH에 의한 흡수가 특징적이라고 하였고 유 등[8]은 당과 아미노산의 반응에 의하여 생성된 갈변물질의 항산화성에는 화합물중의 OH기, 지방족 제 1급 아민, 카아본산 ester 등이 관계되는 것으로 보고 한 바 있는데 본 실험의 IR 측정 결과에서도 지방족 아민과 카아본산 ester 등이 항산화작용에 주도적 역활을 하고 있는 것으로 보였다. 한편 Maruyama 등[9]에 의하면 카아보닐 화합물과 휘발성 아미노질소의 반응으로 생성된 갈변물질의 항산화성은 질소함량과는 큰 관계가 없고 질소원자가 결합되어 있는 부분의 구조와 관계가 있다고 하였다. 이와 관련하여 메주 및 된장중에 생성된 수용성 갈변물질의 항산화력과 질소함량과의 상관성을 알아보기 위하여 Fig. 4에서 분리된 각 분획분들의 원소조성을 측정한 결과(Table 8)를 보면 항산화력과 질소함량과는 큰 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 따라서 메주 및 된장중의 수용성 갈변물질의 항산화성은 각 분

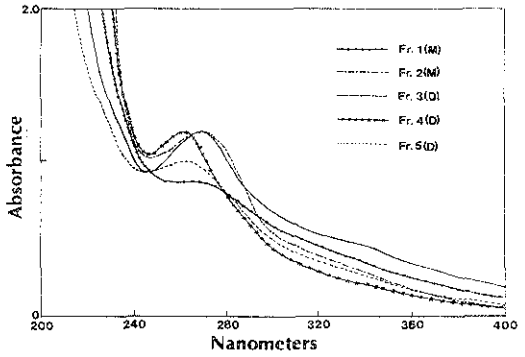

Fig. 6. UV-spectra of cellulose thin-layer fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Meju(M) and Doenjang(D).

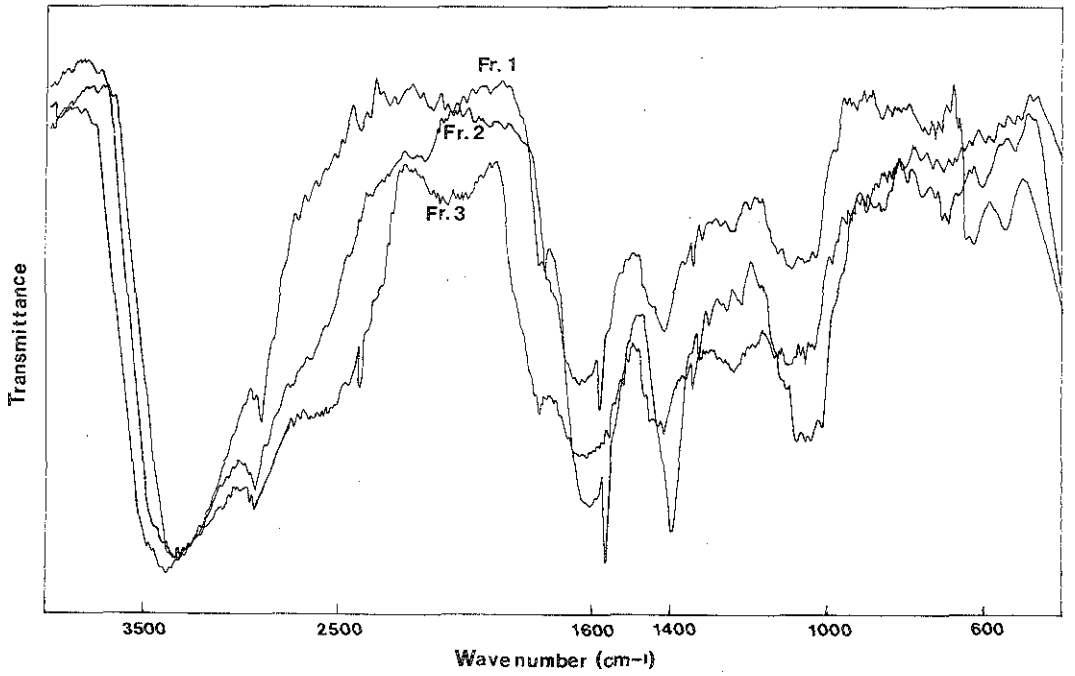

Fig. 7. IR spectra of cellulose thin-layer fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Meju.

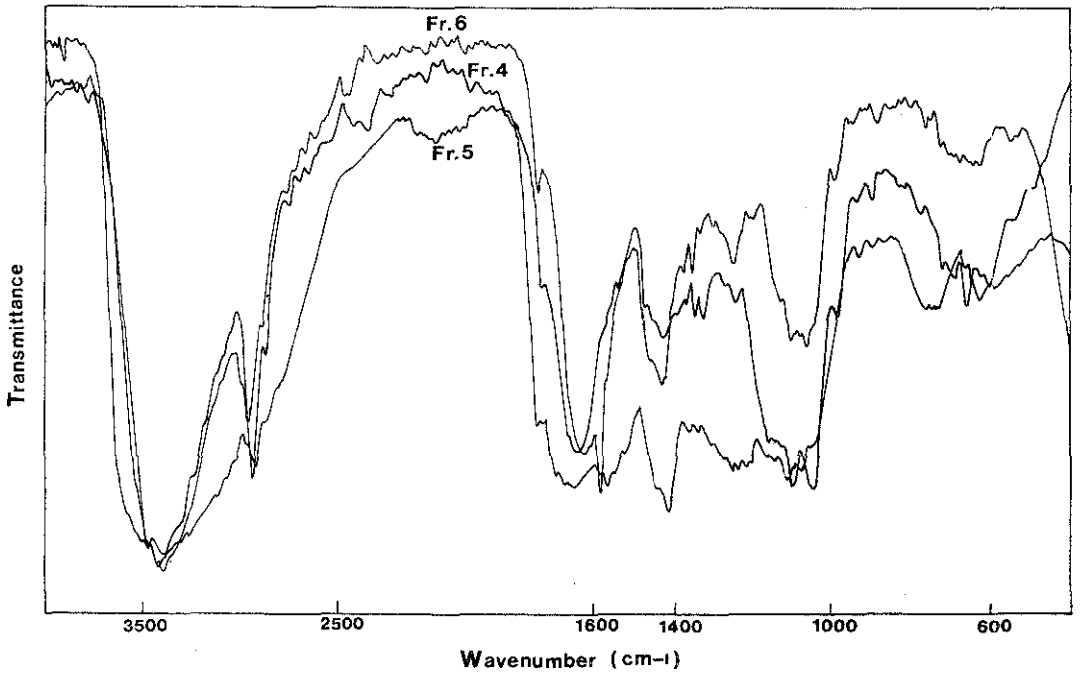

Fig. 8. IR spectra of cellulose thin-layer fractions of diffusate from hydrophilic brown pigments in Doenjang.

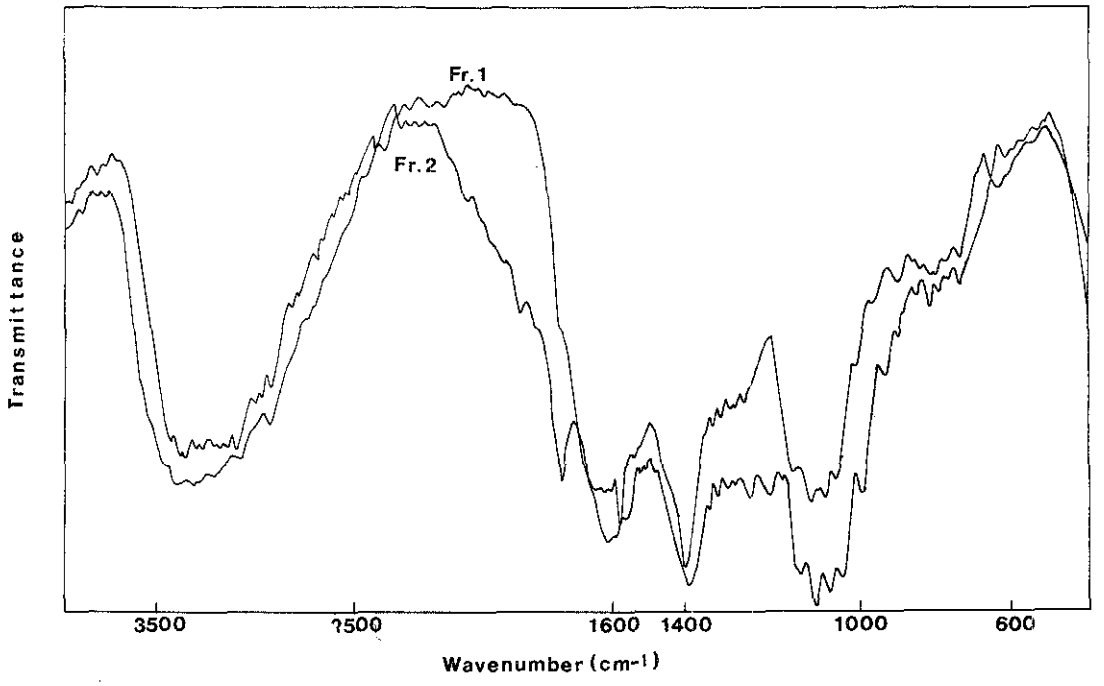

Fig. 9. IR spectra of cellulose thin-layer fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Meju.

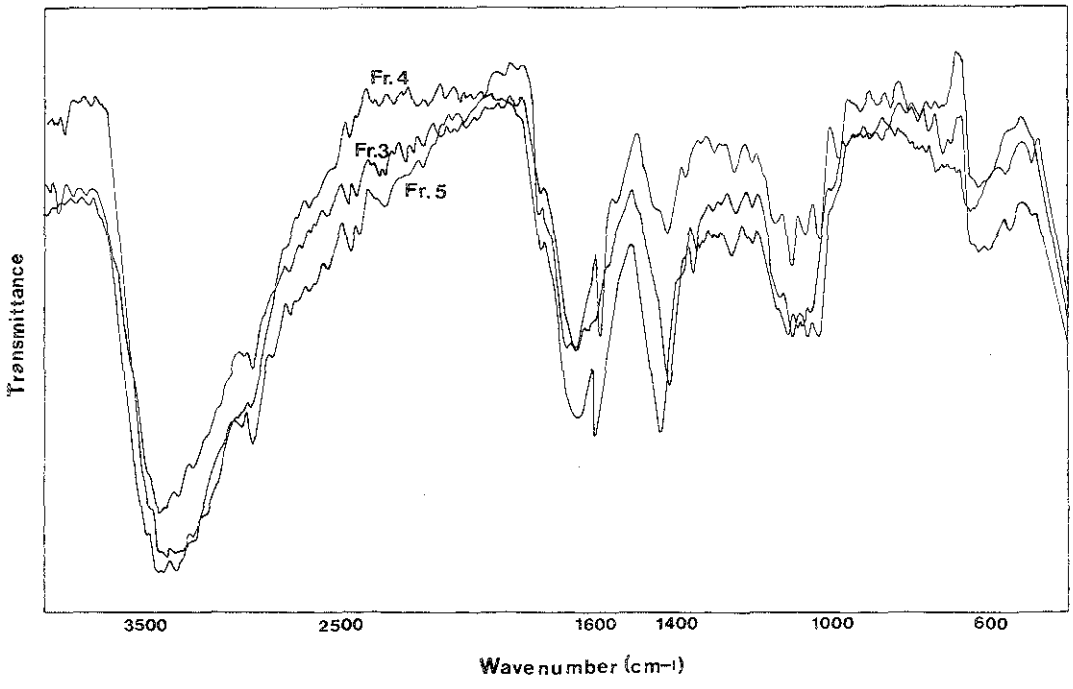

Fig. 10. IR spectra of cellulose thin-layer fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments in Doenjang.

Table 8. Composition of the elements of cellulose thin-layer fractions of dialysate from hydrophilic brown pigments

Fraction	Elements (%)			
	C	H	N	O
Fr. 1	40.99	7.08	12.14	37.79
Fr. 2	33.70	6.83	8.39	51.08
Fr. 3	40.60	6.42	9.52	43.50
Fr. 4	39.46	6.15	10.89	43.50
Fr. 5	38.64	6.47	8.80	46.09

획분에 대한 박층상의 실험결과 및 분광학적 분석결과에 의거하여 화합물중의 극성기의 종류와 함량 및 질소원자의 결합형태 등과 관련하여 발현되는 것으로 추정되었다.

요 약

재래식 메주와 된장의 발효 및 숙성중에 생성되는 수용성 갈변물질을 분리하여 항산화력을 측정하고 박층크로마토그래피 및 분광학적 분석에 의하여 화학적 성상을 조사하였다. 메주의 수용성 갈변물질의 함량은 발효기간중에 크게 증가하여 30일간 발효 후에는 93.1 mg/g solid이였고 80일간 발효 후에는 183.2mg/g solid이었다. 수용성 갈변물질 구분을 투석에 의하여 분리하였을 때 투석 외액물질 구분과 투석 내액물질 구분의 함량비에는 30일간 발효시킨 메주에서는 70 : 30 이었으나 80일간 발효시킨 메주에서는 87 : 13이었고 60일간 숙성시킨 된장에서는 91 : 9로써 투석 내액물질 구분의 비율은 발효가 진행됨에 따라 감소하는 경향을 보였다. 투석에 의하여 분리된 양 구분은 모두 강한 항산화력을 나타내었으나 투석 내액물질 구분이 더 강하였다. 양 구분은 모두 DEAE-cellulose 칼럼 크로마토그래피에 의하여 분획하였을 때 투석 내액물질 구분에서는 투석 외액물질 구분에 비하여 0.01M 초산 완충용액 용출분은 적고 0.01~0.03M 염산용액 용출분이 많았으며 갈변도 및 항산화력은 초산 완충용액 용출분 보다 염산용액 용출분에서 더 높게 나타났다. 칼럼 분획분을 박층크로마토그래피에 의하여 분리하고 각 분획분의 항산화력을 측정한 결과에서는 형광성과 ninhydrin 반응성을 보이지 않았던 분획분이 더 강한 효력을 나타내었다. 박층 분획분의 UV 측정에서는 메주의 염산용액 용출분의 분획분이 269~280nm 부근의 흡수를 보였고 대부분의 다른 분획분들은 뚜렷한 흡수곡선을 나타내지 않았다. 박층 분획분의 IR spectrum을 보면 투석외액과 투석내액물질의 각 분획분이 3400

cm^{-1}, 2800~3000cm^{-1}, 1600cm^{-1}, 1400cm^{-1} 및 1100 cm^{-1}의 흡수로써 유사한 spectrum을 보였으나 메주의 염산용액 분획분에서는 1750cm^{-1} 부근의 흡수를 보여 카아본산 및 카아본산 ester의 구조를 확인할 수 있었다.

감사의 글

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

문 헌

1. 이종호, 김미혜, 임상선 : 재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구. 제1보. 메주 발효 및 된장중의 지질산화와 갈변. 한국영양식량학회지, **20**, 148 (1991)
2. 김미혜, 임상선, 김성희, 김경업, 이종호 : 재래식 메주 및 된장중의 항산화성 물질에 관한 연구. 제 2 보. 지용성 갈변물질의 분리와 항산화력. 한국영양식량학회지, **23**, 251 (1994)
3. A.O.A.C. : *Official method of analysis*. 14th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D. C., p.223 (1980)
4. Hernic, A. S., Benca, M. F. and Mitcell, Jr. : Estimating carbonyl compounds in rancid fats and food. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 38 (1954)
5. Hwang, C. I. and Kim, D. H. : The antioxidant oxidations. *Korean J. Food Sci. Tech.*, **5**, 84 (1973)
6. Yamaguchi, N. and Fujimaki, M. : Studies on browning reaction products from reducing sugars and amino acid. Part Ⅲ. Fractionation and antioxidative activities of browning reaction products between D-xylose and glycine. *J. Food Sci. Technol.*, **20**, 507 (1973)
7. Motai, H. I. and Nishzawa, Y. : Characteristics of shoyu color and separation of color components. *J. Agric. Chem. Soc.*, **12**, 631 (1972)
8. 유병진, 이강호, 김장량, 이종호 : Amino산-xylose 갈변반응 물질의 항산화성. 1. 아미노산과 갈변반응물질의 항산화성. 한국수산학회지, **19**, 1 (1986)
9. Maruyama, M., Fujimoto, K. and Kaneda, T. : Antioxidative activity of browning products derived from autoxidized oil. *J. Food Sci Tech.*, **17**, 281 (1970)

(1994년 4월 4일 접수)