

유산발효대두의 품질특성 및 생리활성

송효남* · 정경식¹

세명대학교 한방식품영양학부, ¹(주)아미올

Quality Characteristics and Physiological Activities of Fermented Soybean by Lactic Acid Bacteria

Hyo-Nam Song* and Kyung-Sik Jung¹

Division of Oriental Medical Food and Nutrition, Semyung University

¹Amioll Co., Ltd.

Abstract The quality characteristics and functional properties of fermented soybean by lactic acid bacteria (FSB) were investigated and compared with those of soybean (control) and commercial *cheonggukjang* powder (CGP). The crude protein, lipid, and fiber contents of FSB were similar to those in CGP. The vitamin B₂ content in FSB (1.4 mg%) was similar to the control (1.3 mg%) whereas it was remarkably low in the CGP (0.2 mg%). The bright yellow color of FSB determined by Hunter's colormeter was quite different from the dark reddish brown color of the CGP. The pH of FSB was the lowest and the amino-nitrogen was 517.2 mg%, which was higher than that in CGP (468.1 mg%). Glutamic acid, aspartic acid and leucine were the most abundant amino acids. In particular, the increase in the glutamic acid level was noticeable in FSB. The fatty acid compositions of FSB and CGP were similar to the control. However, the sucrose and fructose levels were lower after fermentation but the glucose level was higher. The results of isoflavone analysis by HPLC showed that the levels of daidzein and genistein in FSB were as much as 48.33 and 52.82 mg%, respectively, which is higher than that found in CGP. The DPPH free radical scavenging effects of FSB and CGP were 1.8 times higher than those of the control. The fibrinolytic activity determined by the diameter of the lysed area on the fibrin plate was the most effective in FSB. In conclusion, it is believed that FSB has a similar or higher quality than CGP. Therefore, FSB is expected to be good functional food material.

Key words: fermented soybean, *cheonggukjang* powder, isoflavone, DPPH radical scavenging effect, fibrinolytic effect

서 론

대두(*Glycine max* L.)는 영양적으로 우수한 glycinin 단백질이 풍부한 식품이며 겔 형성능력 등 식품 또는 비식품의 가공에 중요한 역할을 하며(1), 최근에는 항암작용, 항고혈압 활성, 혈중콜레스테롤 저하, 항산화작용 등 여러 생리활성을 갖는 성분들이 다양하게 함유되어 있어 기능성 식품의 훌륭한 소재로도 주목 받고 있다(2). 그러나, 대두에는 섬유질 및 펙틴질이 많아서 조직이 단단하기 때문에 그 자체로는 소화율이 낮은 단점이 있으며, 더욱이 생대두에는 단백질의 소화를 저해하는 antitrypsin, hemagglutinin 및 0.5% 정도의 saponin 등의 저해물질이 함유되어 있어 식용하기 위해서는 적당한 처리가 필요하다(3). 따라서 대부분 소화가 용이한 두부나 두유와 같이 단순 가공하여 섭취하며, 아울러 전통적으로 우리나라를 포함한 동북아시아권에서는 간장, 된장, 청국장, 낫도 및 템페 등과 같은 발효식품의 형태로 많이 이

용하고 있다. 이러한 장류식품은 공통적으로 대두를 고온 장시간 가열처리한 후 미생물을 접종하여 발효시킨 식품이기 때문에 조리 및 섭취시 발생하는 특유의 이취는 소비자의 선택에 중요한 제한적 요인으로 작용하기도 한다(4). 이러한 점을 개선하기 위하여 최근에는 청국장의 경우 무취청국장 개발과 함께 분말이나 환 등의 형태로 제조하여 향미를 잘 느끼지 못하면서 섭취할 수 있는 등 다양한 유형의 제품들이 개발되는 등의 노력이 이어지고 있다(5-6).

한편, 최근 본 연구진에서는 대두발효식품의 다양화에 노력을 기울인 결과 자체 보유중인 유산균을 이용하여 열처리 없이 생대두를 그대로 발효시키는 기술개발에 성공하였다. 대두를 유산균으로 발효한 연구는 Lee와 Ryu(7)의 유산균 발효 된장에 관한 보고가 있으나, 이는 생대두가 아닌 증자한 대두에 유산균을 접종하여 발효한 경우여서 많은 차이가 있다. 특히 본 유산발효대두는 일반 생공과는 달리 그대로 씹어먹을 수 있고, 일반 장류와는 전혀 다른 향미가 생성되는 등 몇 가지 독특한 특성들이 나타났으나, 이와 유사한 식품에 대한 영양학적 특성이나 생리활성 등에 대한 기존의 연구는 전무한 형편이다. 따라서, 본 연구에서는 차후 생선식을 비롯한 건강기능성 대두가공 식품소재로 활용할 수 있는 가능성을 검토하고자 유산발효대두의 기초적인 품질특성과 생리활성을 시판중인 청국장 분말과 비교하여 분석하였다.

*Corresponding author: Hyo-Nam Song, Division of Oriental Medical Food and Nutrition, Semyung University, 579 Sinweol-dong, Jecheon-si, Chungbuk 390-711, Korea

Tel: +82-43-649-1430

Fax: +82-43-649-1759

E-mail: hnsong@semyung.ac.kr

Received June 22, 2006; accepted August 11, 2006



Fig. 1. Pictures of common soybean (left) and fermented soybean by lactic acid bacteria (right).

재료 및 방법

실험재료

대두(soybean; 이하 control이라 함)와 유산발효대두(fermented soybean; 이하 FSB)는 전보(8)에서와 같이 아미노식품에서 제조한 것을 제공받았으며, FSB의 성상은 대두표면에 균열과 주름 등이 많이 생성된 상태이고(Fig. 1), 시큼한 맛의 독특한 풍미를 지니고 있었다. 비교군으로 선정된 청국장분말(*cheonggukjang powder*; 이하 CGP)은 2005년 9월에 충북 제천산을 대형수퍼에서 구입하였고, 모든 시료는 분말화 하여 실험재료로 사용하였다.

일반성분, 비타민 및 칼슘 분석

일반성분: 수분함량은 식품공전의 105°C 상압가열건조법, 조단백은 Semimicro-Kjeldahl법, 조지방 함량은 Soxhlet 법, 조회분은 건식회화법으로 정량하였고, 조섬유 함량은 식품공전의 Henneberg-Stohmann 개량법에 의한 정량법으로, 탄수화물은 가감법으로 계산하였다.

비타민 B₂ 및 비타민 E: 식품공전의 HPLC에 의한 정량법(9)으로 다음과 같이 분석하였다. 비타민 B₂는 μ -Bondapak C₁₈ column을 사용하였고, 이동상은 methanol: 10 mM NaH₂PO₄ 용액(pH 5.5) = 35 : 65 용액이었으며, 유속 0.8 mL/min였고, 검출기는 fluorescence detector(λ_{ex} : 445 nm, λ_{em} : 530 nm)를 사용하였다. 비타민 E 함량분석을 위하여 토크페롤로서 약 0.2 mg을 함유하도록 시험용액을 준비하였고, 순상형 column에 hexane : isopropanol = 98 : 2 혼합 용매를 이동상으로 하여 유속 0.5 mL/min, fluorescence detector(λ_{ex} : 298 nm, λ_{em} : 325 nm)로 분석하였다.

칼슘: 칼슘 함량은 AOAC법(10)에 따라 각 시료를 500°C에서 4시간 건식회화 하여 얻은 회분을 염산 가수분해한 후 ICP(Inductively coupled plasma: Lactam 8440 Plasmalab, Victoria, Australia)로 정량하였다.

pH, total soluble solids 및 색도

pH는 각 시료 10 g을 증류수로 10배 희석한 후 pH meter (420A, Orion Research Inc., USA)로 측정하였고, total soluble solids는 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 굴절당도계(Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색도는 색차계(Col-

orQUEST II spectrophotometer, HunterLab., USA)로 측정하였고, Hunter system의 3자극치인 L(lightness), a(redness), b(yellowness) 값과 전체적인 색깔의 차이를 나타내주는 색차(ΔE , color difference)값을 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 색도측정에 사용한 표준백색판(calibration plate)은 각각 L = 92.67, a = -0.83, b = 0.87이었다.

아미노태질소(Amino nitrogen, AN)

아미노태질소 함량은 전통식품표준규격의 formol 적정법(11)에 준하여 실시하였다. 즉, 각 시료 10 g을 증류수로 10배 희석하여 30 분간 교반 추출 후 3,500×g에서 10 분간 원심분리 후 상정액을 취하였다. 시료액에 0.1 N NaOH를 가하여 pH를 8.4로 조정 한 후 formaldehyde 용액(pH 8.5) 30 mL를 가하고, 다시 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.4가 될 때까지 적정하였다. 동일한 조작으로 0.1 N NaOH 용액의 공시험을 실시하여 아미노태질소량을 구하였다.

아미노산 분석

아미노산은 Heinrikson과 Meredith의 방법(12)에 따라 Pico-Tag system(Waters Co., Milford, MA, USA)을 이용하여 분석하였다. 시료 약 10 g을 정확히 칭량하여 ampule에 넣은 후 6 N HCl 15 mL를 가한 다음 질소로 치환하여 밀봉한 후 110°C dry oven에서 24시간 동안 가수 분해시킨 뒤 분해액을 적당히 희석하고 0.45 μ m syringe filter(Millipore Co., MA, USA)로 여과한 후 AccQ·Fluor™ reagent kit(Waters Co., Milford, MA, USA)를 사용하여 형광성 유도체를 만들어 총 아미노산을 분석하였다. HPLC 분석 시 시료는 5 μ L를 주입하여 1 mL/min의 유속으로 gradient mode로 37°C에서 AccQ·Tag column(3.9×150 mm, Waters, USA)을 통과시켜, fluorescence detector(λ_{ex} : 250 nm, λ_{em} : 395 nm)로 검출하였다. 아미노산 표준물질은 amino acid standards(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA)를 사용하였다.

지방산 분석

지방산은 Folch 등(13)의 방법에 의하여 추출 및 정제하였고, AOAC방법(14)에 따라 14% BF₃-methanol로 methyl ester화시킨 후 gas chromatography(GC)로 분석하였다. GC 분석에는 HP-FFAP column(30 m×0.25 μ m)을 사용하였고, 검출기는 불꽃이온화검출기(FID), 온도는 주입기 250°C, 검출기 260°C, column oven 온도는 120°C(2 min)-4°C/min-230°C(20 min), detector 온도는 260°C였고, carrier gas는 He를 1.5 mL/min의 속도로 흘려보냈다.

유리당 분석

유리당은 Gancedo와 Luh의 방법(15)에 따라 분석하였다. 즉, 시료분말 80% MeOH 추출물을 0.45 μ m membrane filter(Millipore Co., MA, USA)로 여과한 후 HPLC(JASCO HPLC system, Japan)를 이용하여 분석하였다. Column은 carbohydrate column(3.9×300 mm, Waters Co., Milford, MA, USA), 검출기는 RI-930 detector, 이동상은 ACN/Water = 78/22(v/v), 유속 1.4 mL/min, injection volume 15 μ L, 및 column temperature 35°C와 같은 조건으로 분석하였고, 표준곡선은 glucose, sucrose, 및 maltose로 작성하였다.

Isoflavone 함량

Isoflavone은 HPLC로 분석하였다(16). 즉, 분쇄한 시료 1 g에 20 mL의 70% methanol 용액을 첨가하여 saponification 시키면서 20 분간 추출하였으며, 이 때 malonyl형 배당체의 탈탄산 반응을 방

지하기 위하여 추출 용매에 0.1% 아세트산을 첨가하였다. 2회 반복 추출한 용액을 합하여 50 mL로 정용한 후 3,000×g에서 원심 분리하여 얻은 상정액을 HPLC 분석 시료로 사용하였다. HPLC는 JASCO PU-980 system을 사용하였으며 column은 ODS 계열의 YMC AM303(4.6×250 mm), 이동상은 0.1% acetic acid를 함유한 water(용매 A)와 0.1% acetic acid를 함유한 acetonitrile(용매 B)이었다. 용매의 gradient는 용매 B의 농도를 50분간 15%에서 35%로 증가시켰고, 유속은 1.0 mL/min, injection volume은 20 µL, UV detector의 파장은 254 nm 및 감도는 0.32로 분석하였다. 12종의 isoflavone standards(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA)는 methanol에 용해시켜 0.5-50 µg 농도 범위로 HPLC 분석을 실시하고 peak area로부터 검량선을 작성하였다.

DPPH radical 소거능

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 유리라디칼 소거법(17)으로 분석하였다. 즉, 시료추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH 용액 2 mL를 가하여 vortex mixer로 10초간 혼합한 후 실온에서 20분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였고, 다음과 같은 식에 의해 전자공여능(electron donating abilities, EDA)을 계산하였으며, 초기 DPPH 농도가 50% 감소 될 때까지 필요한 sample의 농도를 EC₅₀(efficient concentration)으로 산출하였다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}} \right) \times 100$$

혈전용해활성 측정

혈전용해활성은 fibrin plate법(18)에 따라 측정하였다. 즉, 0.01 M sodium phosphate buffer(pH 7.0) 100 µL에 thrombin 10 unit을 용해시키고, fibrinogen 0.06 g을 0.01 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 10 mL에 현탁하여 37°C water bath에서 10분간 반응시키고 petri dish plate에 10 unit의 thrombin을 골고루 점적한 후 그 위에 10 mL의 fibrinogen용액을 부어 천천히 흔들어 놓아 fibrin 막을 만들어 10분간 방치하였다. 활성측정은 제조한 fibrin plate에 paper disc(Φ8 mm, Advantec, Toyo roshi Co., Tokyo, Japan)를 올려놓고 시료 50 µL를 점적하여 37°C에서 반응(incubation)시키면서 2, 4 및 6시간 동안 생성된 투명환의 직경을 측정하였다.

결과 및 고찰

일반성분, 비타민 및 칼슘

수분함량은 발효생대두(FSB)와 청국장분말(CGP) 모두 원료대두(control)보다 적었고, 식품성분표(19)에 나타난 대두(9.70%)와 청국장분말(7.70%) 및 Park 등(20)이 분석한 대두(14.0%)보다 적은 편이었다(Table 1). 조지방 함량은 18.79%에서 FSB 24.22%로 증가하였으며, CGP도 22.75%로 많았다. 이는 대두 17.8% 및 청국장분말 24.3%인 보고와 유사하였으나, 된장의 4.7%와는 큰 차

Table 1. Proximate composition, vitamin, calcium, and amino nitrogen contents of soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP)

Components	Control	FSB	CGP
Moisture (%)	8.67	6.37	6.14
Crude Protein (%)	36.11	42.90	43.61
Crude Lipid (%)	18.79	24.22	22.75
Crude Ash (%)	4.63	3.79	5.48
Crude fiber (%)	5.83	6.45	7.21
Carbohydrate (%)	25.97	16.27	14.81
Vitamin B ₂ (mg%)	1.3	1.4	0.2
Vitamin E (mg%)	3.8	2.8	6.1
Calcium (mg%)	135.2	141.8	301.5
Amino nitrogen (mg%)	194.3	517.2	468.1

이가 있었다(19). 조단백 함량은 FSB와 CGP가 각각 42.9 및 43.61%로 control의 36.11%보다 모두 높았다. 대두의 단백질량은 26.2%(19), 35-41%(1,21) 등으로 보고되어 있고 CGP도 43.6%(19)로 나타나 FSB 시료도 청국장과 비슷한 수준의 단백질을 함유하고 있음을 알 수 있었다. 이밖에도 FSB는 대부분의 성분이 CGP와 비슷한 수준의 함량으로 존재하는 것으로 나타났고, 이는 식품성분표(19)에 나타난 CGP의 성분함량과도 매우 유사한 반면, 된장의 영양성분 함량과는 큰 차이가 있어 청국장과 유사한 품질을 지니는 것으로 사료된다.

한편, 일반적으로 된장, 청국장등의 대두발효식품에서 감소하는 비타민 B₂는 CGP가 0.2 mg%(식품성분표 0.29 mg%)로 control의 1.3 mg% 보다 현저히 낮은 반면, FSB에서는 1.4 mg%로 발효 전과 별 차이없이 그대로 존재하는 특징을 보였다. 비타민 E 함량은 식품성분표에서는 두류에 0.0-0.4 mg/100 g으로 나타나 있고, Lee 등(22)은 대두와 된장 각각 8.25와 4.1 mg/100 g으로 보고하여 control, FSB, CGP 각각 3.8, 2.8, 및 6.1 mg%로 분석된 본 결과와는 차이가 있었다. 칼슘함량은 대두와 FSB가 비슷하나 CGP에서는 보다 많이 함유된 것으로 나타났다.

pH, total soluble solids 및 색도

pH는 유산균에 의해 발효된 FSB가 가장 낮았고, CGP는 7.3으로 가장 높았으며, 총가용성고형분 함량은 원료대두에 비해 발효된 두 시료에서 모두 적은 것으로 나타났다(Table 2). 시판된장의 pH 4.1-4.9(23) 및 pH 5.1-5.4(24)와 청국장의 pH 8.5(23)와 비교하면 FSB의 pH는 된장보다는 높고 청국장 보다는 낮았다.

색도를 측정한 결과(Table 2), 명도를 나타내는 L값은 control이 83.21인데 비해 FSB와 CGP이 각각 79.70과 58.90을 나타내 CGP이 가장 어두운 색이었고, 적색도를 나타내는 a값 역시 CGP가 가장 높아 붉은색에 가까운 갈색을 나타내었으며, 황색도를 나타내는 b값은 control이 가장 높아 가장 노란색을 많이 띠는 것

Table 2. pH, total soluble solids, and Hunter's color values of soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP)

Sample	pH	Total soluble solids (°Bx)	L	a	b	ΔE
Control	6.62 ± 0.00	5.5 ± 0.0	83.21 ± 0.01	0.13 ± 0.01	18.79 ± 0.02	21.46 ± 0.00
FSB	6.25 ± 0.02	4.3 ± 0.1	79.70 ± 0.03	1.09 ± 0.02	15.98 ± 0.01	17.49 ± 0.01
CGP	7.28 ± 0.00	3.1 ± 0.0	58.90 ± 0.01	6.24 ± 0.02	16.91 ± 0.01	23.10 ± 0.01

Values are mean ± SD of triplicate measurements.

Table 3. Amino acid compositions of soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP) (unit: $\mu\text{g}/\text{mg}$)

Components	Control	FSB	CGP
Glutamic acid	6,353.4 (19.0) ¹⁾	7,500.3 (19.3)	7,219.3 (18.7)
Aspartic acid	3,793.3 (11.3)	4,454.0 (11.5)	4,411.9 (11.4)
Leucine	2,957.5 (8.8)	3,335.4 (8.6)	3,375.6 (8.8)
Arginine	2,666.6 (8.0)	2,896.4 (7.4)	2,632.9 (6.8)
Lysine	2,312.1 (6.9)	2,592.3 (6.7)	2,616.3 (6.8)
Isoleucine	1,929.0 (5.8)	2,347.5 (6.0)	2,221.4 (5.8)
Valine	1,927.4 (5.8)	2,248.9 (5.8)	2,319.5 (6.0)
Phenylalanine	1,935.4 (5.8)	2,194.6 (5.6)	2,333.2 (6.0)
Proline	1,869.4 (5.6)	2,145.2 (5.5)	2,174.1 (5.6)
Glycine	1,672.5 (5.0)	1,980.3 (5.1)	1,889.4 (4.9)
Alanine	1,643.5 (4.9)	1,918.4 (4.9)	2,004.7 (5.2)
Threonine	1,009.4 (3.0)	1,258.1 (3.3)	1,201.4 (3.1)
Histidine	982.7 (2.9)	1,114.3 (2.9)	1,112.2 (2.9)
Serine	850.4 (2.5)	1,081.6 (2.8)	1,005.2 (2.6)
Tyrosine	747.2 (2.2)	925.8 (2.4)	1,034.2 (2.7)
Methionine	507.1 (1.5)	506.0 (1.2)	609.6 (1.5)
Cystein	338.3 (1.0)	414.7 (1.0)	490.3 (1.2)
Essential amino acid	12,577.9 (37.6)	14,482.8 (37.3)	14,677.0 (38.1)
Total	33,495.3 (100.0%)	38,913.7 (100.0%)	38,651.2 (100.0%)

¹⁾All values in parenthesis are % to total amino acids.

로 나타났다. 다른 연구에서 보고된 청국장 L, a, b값은 각각 65.7, 7.1, 22.2(4) 및 38.7, 8.1, 14.0(23) 으로 본 결과와 차이가 있었고, 시판된장의 34.3-47.7, 5.6-8.8, 11.5-18.1값과 비교할 때도 L값에서 큰 차이가 있었다(23). CGP의 경우 갈색이 짙은 이유는 일반적인 장류와 같이 Maillard reaction 또는 enzymatic browning reaction 등에 의해 갈변이 많이 일어났기 때문이며(23), 이에 비해 FSB는 발효과정에서 색의 변화에는 큰 영향을 미치지 않아 원료 대두분말과 거의 유사한 밝은 황색을 나타내는 것으로 사료된다.

아미노태 질소 함량

원료대두의 아미노태질소함량은 194.3 mg%에서 유산발효 후 FSB에서 517.2 mg%로 크게 증가하였고, 청국장가루에서도 468.1 mg%로 높게 나타났다(Table 1). 식품공전(23)에서 규정하고 있는 장류의 성분규격 중 아미노태질소는 160 mg%으로 이보다 훨씬 높았고, 대두와 된장의 아미노태질소 함량을 각각 132.2와 474.1 mg%으로 보고한 Kim(25)의 결과보다도 약간 높은 것으로 나타났다.

아미노태질소는 대두발효 식품의 숙성도를 판정하는 중요한 성분으로 제조와 숙성과정 중에 대두단백질이 효소작용으로 가수분해되어 peptide성 질소나 아미노산성질소로 변화되고, 맛을 내는 아미노산을 생성하게 되며 일반적으로 장류의 경우 아미노태질소 함량이 높을수록 좋은 것으로 평가된다(25).

아미노산 함량 변화

세 시료의 아미노산 조성을 측정된 결과(Table 3) 아미노산 총량은 33,495.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 에 비해 FSB와 CGP 각각 38,913.7 및 38,651.2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 높았다. 총량으로 비교할 때 Jeong 등(23)이 보고한 시판 청국장의 301 mg% 보다 다소 많았고, FSB도 청국장과 비슷한 수준의 아미노산을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 세 시료 모두 glutamic acid, aspartic acid, leucine, arginine의 순서로 함량이 많았고, glutamic acid와 aspartic acid 2종이 전체아

미노산 함량의 30.1-30.8%를 차지하였으며, 된장에서도 이와 유사한 보고가 있었다(23). FSB는 맛성분에 영향을 주는 glutamic acid와 aspartic acid의 증가율이 CGP보다도 높았으며, FSB에서 가장 많이 증가된 아미노산은 serine, CGP에서는 cystein인 것으로 나타났다. 이와 같은 경향은 대부분의 많은 연구결과와 유사하여 대두, 청국장 및 된장 등에서 공통적으로 지미성분인 glutamic acid는 가장 많이 존재하는 아미노산으로 보고되어 있으며(1,25-27), 각 아미노산의 함량이나 분포의 차이는 대두의 종류, 발효방법, 사용균주의 종류, 장류의 제조방법 등에 따른 것으로 이해되고 있다.

전체 아미노산에 대한 필수아미노산 함량의 비율은 FSB와 CGP 각각 37.3와 38.1%로 FAO가 제시한 기준인 32.3%보다 높게 나타나 이들의 아미노산 조성은 영양학적으로도 우수한 것으로 보인다(28). 이와 같은 결과는 일반적으로 유산균이 비타민이나 lactic acid를 생성시키는 외에 유리아미노산 함량을 증가시키는 등 영양학적 가치를 증진시킨다는 보고(29)로 미루어 볼 때 FSB에서도 유사한 효과를 나타내었기 때문인 것으로 사료된다.

지방산 함량

발효 전후 지방산 조성의 분석결과는 Table 4에 나타내었다. 확인된 주요지방산 11종 중에서 세 시료 모두 linoleic acid가 52.51-53.50%의 범위로 다른 지방산에 비해 월등히 높았고, 포화지방산 함량(15.15-16.51%)에 비해 불포화지방산의 함량(83.49-84.85%)이 매우 높은 것으로 나타났으며, 이는 다른 연구결과와도 유사하였다(30-31). 청국장의 지방산 조성은 원료대두의 품종, 증자 및 발효조건에 따라 상당한 차이를 보이며 일반적으로 linoleic acid와 oleic acid의 함량이 높고 stearic acid 함량이 낮은 것으로 알려져 있어(32) 본 실험과 유사하였다. 그러나, Park 등(20)의 보고에서처럼 본 연구에서도 원료대두와 비교할 때 발효에 따른 지방산 조성은 큰 변화가 없어 FSB나 CGP의 발효과정은 지질의 분해나 지방산 조성변화에 큰 영향을 미치지 않는

Table 4. Fatty acids compositions of soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP) (unit: %)

Fatty acid	Control	FSB	CGP
Myristic acid (C14:0)	0.07	0.07	0.07
Palmitic acid (C16:0)	11.35	11.01	10.65
Palmitoleic acid (C16:1)	0.07	0.11	0.08
Stearic acid (C18:0)	4.47	4.57	3.57
Oleic acid (C18:1)	21.98	20.86	22.59
Linoleic acid (C18:2)	52.51	52.90	53.50
Linolenic acid (C18:3)	8.82	9.45	8.49
Arachidic acid (C20:0)	0.31	0.37	0.32
Gadoleic acid (C20:1)	0.16	0.17	0.19
Behenic acid (C22:0)	0.22	0.38	0.41
Lignoceric acid (C24:0)	0.04	0.11	0.13
Total	100.00	100.00	100.00
SFA ¹⁾	16.46	16.51	15.15
USFA ²⁾	83.54	83.49	84.85
MUFA ³⁾	22.21	21.14	22.86
PUFA ⁴⁾	61.33	62.35	61.99

¹⁾SFA: saturated fatty acid.
²⁾USFA: unsaturated fatty acid.
³⁾MUFA: monounsaturated fatty acid.
⁴⁾PUFA: polyunsaturated fatty acid.

Table 5. Content of free sugar in soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP) (unit: mg/100g)

Sugar	Control	FSB	CGP
Glucose	173.95 ± 2.49	251.91 ± 54.12	194.90 ± 28.54
Fructose	147.45 ± 7.00	37.69 ± 28.16	ND ¹⁾
Sucrose	1,148.49 ± 12.84	104.51 ± 13.91	114.68 ± 3.70
Total	1,469.89 ± 8.33	394.11 ± 100.43	309.58 ± 32.25

Values are mean ± SD of triplicate measurements.
¹⁾ND: not detected.

것으로 사료되며, 이는 낫도의 경우 낫도균에 의한 lipase의 분비가 적어 지질의 성분변화가 적은 것과 유사한 이유 때문인 것으로 추측된다(33).

유리당

HPLC로 정량한 유리당의 함량은 Table 5에 나타내었다. 발효 전 대두에는 sucrose가, 발효후에는 glucose가 가장 많이 존재하는 당이었다. 즉, 발효전에는 fructose나 glucose보다 sucrose의 함량이 8배 가량 많이 함유되어 있었으나, 발효에 따라 sucrose의 함량은 1/10 정도로 감소하고 fructose도 감소한 반면, glucose가 다소 증가하였다. 된장의 경우 glucose가 332.9 mg%까지 함유되어 주요 구성당으로 보고된 바 있으며(20), 청국장장의 경우 대두 발효시 생성되는 점질성 다당류인 fractan의 형성에 fructose가 소비됨으로써 발효에 따라 감소하는 것으로 알려져 있다(34). Sucrose나 전체적인 유리당의 총량이 현저히 감소하는 것은 발효과정 중 미생물에 의해 당류가 영양원으로 이용되었기 때문인 것으로 사료되며(20,35), 시판된장이나 일본 미소된장에서는 원료의 종류, 배합비율, 숙성조건 등에 따라 galactose, arabinose, mannose, xylose, maltose, rhamnose 등의 다양한 당류가 존재하는 것으로 보고된 바 있다(20,34).

Table 6. Isoflavone contents in soybean (control), fermented soybean (FSB), and cheonggukjang powder (CGP) (unit: mg/100g)

Isoflavone	Control	FSB	CGP
Daidzein	0.52 ± 0.02	48.33 ± 0.19	38.04 ± 0.93
Daidzin	13.08 ± 0.14	5.11 ± 0.05	13.85 ± 0.55
Malonyl daidzin	233.28 ± 2.24	25.59 ± 0.06	ND ¹⁾
Genistein	ND	52.82 ± 0.23	27.37 ± 0.75
Genistin	17.37 ± 0.20	11.22 ± 0.12	26.61 ± 0.57
Malonyl genistin	314.11 ± 3.34	51.88 ± 0.13	ND
Glycitein	ND	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00
Glycitin	12.29 ± 0.15	ND	11.79 ± 0.28
Malonyl glycitin	27.96 ± 0.24	ND	ND
Total	618.61 ± 5.27	223.02 ± 3.74	121.27 ± 2.81

Values are mean ± SD of triplicate measurements.
¹⁾ND: not detected.

Isoflavone의 함량 변화

세 시료의 isoflavone 함량과 HPLC 분석 chromatogram을 Table 6과 Fig. 2에 각각 나타내었다. 대두의 주요 isoflavone인 daidzein과 genistein을 합한 함량은 FSB와 CGP 각각 101.15와 65.41 mg%로 FSB가 훨씬 많았다. 일반적으로 대두의 isoflavones은 glycosilated conjugates(malonylglycosides, β-glycosides 및 acetylglycosides 형태)의 isoflavone isomer와 aglycone 형태로 존재하는데, 대두의 수침이나 가열 등의 가공처리를 하면 용출된 β-glycosidase의 작용에 의해 aglycones 형태로 전환되는 것으로 알려져 있다(26,36). 따라서 glycosides 형태인 daidzin과 genistin 함량은 열처리, 산 가수분해, 발아, 발효 등에 의해 감소하고 aglycone 형태인 daidzein과 genistein은 높아지며(36-37), 본 실험에서도 FSB의 경우 daidzin이 control의 13.08 mg%에 비해 5.11 mg%로 많이 감소하였고, 반대로 aglycone 형태인 daidzein은 0.52 mg%에서 48.33 mg%로 큰 폭으로 증가하였으며, genistin과 genistein도 유사한 경향을 나타내었다. CGP의 경우는 daidzin 함량이 13.85 mg%로 control과 차이가 없었으나, daidzein 함량은 38.04 mg%로 많았고, genistein은 27.37 mg%로 훨씬 높았다. 이러한 경향은 glycitein과 glycitin의 결과에서도 유사하였으며, malonyl isoflavone의 경우에도 역시 발효시료에서 모두 크게 감소한 것으로 나타났다. 대두의 isoflavone 함량은 308.1-1,134.2 μg/g으로 다양하고(21), genistein과 daidzein의 존재비율도 연구자에 따라 다양하며 본 결과와도 차이가 있는데(3,36), 이는 품종에 따라서 그 함량이 다르고, 같은 품종이라도 재배환경에 따라 다를 수 있기 때문인 것으로 이해되고 있다(38). 따라서 그 존재량에 대한 단순비교는 바람직하지 않을 수 있으나 특히 된장과 같은 발효식품의 경우 1,168 μg/g(37) 및 515 μg/g(38) 등과 같이 제조방법이나 재료혼합 비율에 따라 isoflavone의 함량에 미치는 영향이 크기 때문에 단백질원으로서 대두 이외의 옥수수나 밀의 글루텐을 혼합할 가능성이 있어 대두사용량의 품질지표에 참고가 될 수 있는 것으로 알려져 있다(23).

DPPH에 의한 항산화활성

항산화 활성은 각 시료의 80% methanol 추출물을 농도별로 조제한 다음 DPPH radical 소거능으로써 비교하였다. 그 결과 Fig. 5에서와 같이 추출물의 농도 증가에 따라 소거능도 증가함을 알 수 있었다. 특히, control에 비해 FSB와 CGP은 현저한 차이로 효과가 높게 나타났다. 또한, 각 추출물에 대해 회귀식을 통해 산

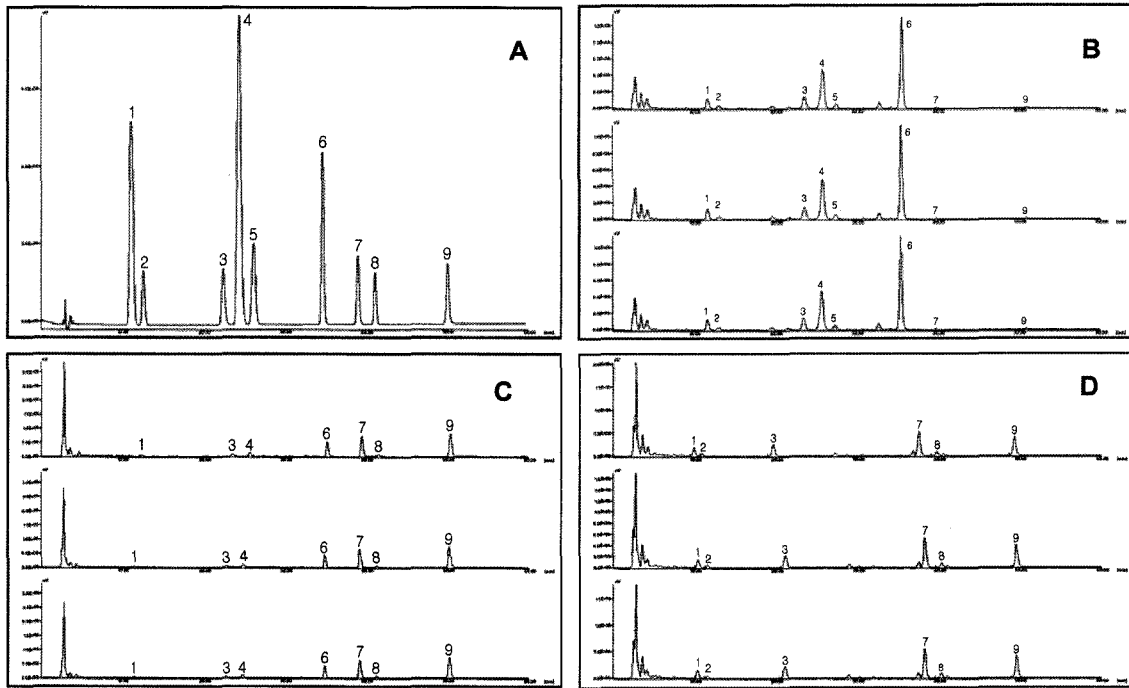


Fig. 2. HPLC profile of isoflavone. A: isoflavone standards, B: soybean (control), C: fermented soybean (FSB), D: *cheonggukjang* powder (CGP). Peak identification: 1. daidzin 2. glycitin 3. genistin 4. malonyl daidzin 5. malonyl glycitin 6. malonyl genistin 7. daidzein 8. glycitein 9. genistein.

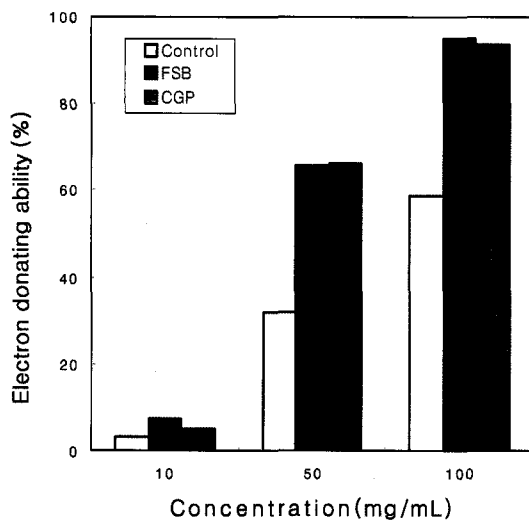


Fig. 3. DPPH radical scavenging ability of soybean (control), fermented soybean (FSB), and *cheonggukjang* powder (CGP).

출한 EC_{50} 은 control이 83.76 mg/mL 인데 비하여 FSB와 CGP는 47.04와 48.27 mg/mL의 거의 동일한 수준으로 약 1.8배 높은 항산화력을 지닌 것으로 나타났다. Choe 등(39)의 연구에서도 대두, 메주, 된장의 발효를 거치는 동안 methanol 추출물의 radical 소거효과가 각각 14.4%, 15% 및 40.5%로 나타나 발효에 의한 항산화 효과의 증가는 뚜렷한 것으로 보여진다. 미소된장의 경우에도 대두속에 함유된 tocopherol, isoflavones, saponin 등과 같은 항산화 물질에 의해 DPPH, hydroxyl superoxide 등과 같은 유리라디칼의 소거작용이 뛰어난 것으로 알려져 있다(40).

Table 7. Diameter of hydrolyzed clear zone on fibrin plate of soybean (control), fermented soybean (FSB), and *cheonggukjang* powder (CGP)

Sample	Diameter of clear zone (mm)		
	2 hr	4 hr	6 hr
Methanol	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.13 ± 0.06
Control	0.33 ± 0.06	0.33 ± 0.06	0.37 ± 0.06
FSB	0.33 ± 0.06	0.47 ± 0.12	0.80 ± 0.20
CGP	0.43 ± 0.12	0.60 ± 0.26	0.70 ± 0.44

Values are mean ± SD of triplicate measurements.

혈전용해활성

Fibrin plate상에서 paper disc 주위로 clear zone이 형성되는 직경으로 비교한 FSB의 혈전용해활성은 control인 대두에 비해서 월등히 우수한 것으로 나타났다(Table 7). 즉, 배양 2시간 후까지는 clear zone의 직경이 세 시료 모두 0.33-0.43 mm로 큰 차이가 없었으나 배양시간이 4시간 및 6시간으로 증가할수록 FSB와 CGP 시료는 점점 그 직경이 증가하는 현상이 뚜렷하게 나타났으며 FSB시료의 용해환이 가장 선명하게 나타났다.

혈전은 여러 가지 원인에 의해 혈류중의 fibrinogen이 활성화된 thrombin에 의해서 fibrin으로 전환되어 불용성의 중합체를 형성한 후 혈관벽에 쌓여 동맥경화나 심근경색을 유발하며, 혈관을 따라 이동하여 뇌출혈, 뇌혈전증, 심장마비 등 심혈관계 질환의 원인이 될 수 있다(41). 일단 형성된 혈전은 쉽게 용해되지 않지만, 혈전용해제를 사용함으로써 이들 질병의 예방과 치료가 가능하므로 청국장, 된장, 젓갈, 낫드와 같은 발효식품으로부터 혈전용해효소를 얻기 위한 연구들이 꾸준히 이루어지고 있다(3). 따라서 본 연구에서 혈전용해능이 CGP과 큰 차이가 없는 것으로

나타난 FSB 역시 심혈관계 질환의 예방에 우수한 식품으로 활용가능성이 높을 것으로 사료된다.

요 약

유산균으로 발효시킨 대두의 품질특성과 생리활성을 원료대두 및 시판 청국장분말과 비교분석하였다. 조단백, 조지방 및 조섬유 함량은 청국장분말과 유사한 수준으로 증가하였고, 청국장분말의 비타민 B₂ 함량이 0.2 mg%인데 비해 유산발효대두는 발효후에도 1.4 mg%로 원료대두의 1.3 mg%과 거의 동일하게 유지되는 특징을 보였다. 색도 측정결과 발효생대두 분말은 붉은 갈색에 가까운 청국장분말과 달리 원료대두분말과 유사한 미황색으로 나타나 발효에 따른 색의 변화가 거의 없었으며, pH는 가장 낮았다. 대두 발효식품의 품질평가 지표가 될 수 있는 아미노태질소량도 원료대두의 194.3 m% 보다 높은 517.2 mg%로 468.1 mg%의 청국장분말보다도 높았다. 아미노산은 모두 glutamic acid, aspartic acid, leucine의 순으로 많이 존재하였고, 특히 유산발효대두의 glutamic acid 증가량이 두드러졌으며, 발효에 의한 지방산 조성은 큰 차이가 없어 발효에 따른 지질의 변화는 영향이 없는 것으로 판단되었다. 유리당은 발효에 따라 sucrose와 fructose가 현저히 감소하고 glucose가 증가하였으며, isoflavone 함량 분석결과 daidzein과 genistein이 원료대두보다 크게 증가하였을 뿐만 아니라 각각 38.04 및 27.37 mg%인 청국장분말에 비해 48.33 및 52.82 mg%로서 더 많이 생성된 것으로 나타났다. DPPH free radical 소거능으로 측정된 항산화활성은 청국장과 유사하게 원료대두의 1.8배에 달했고, fibrin plate법으로 측정된 항혈전 활성은 혈전용해환의 직경이 시간경과에 따라 차이가 커져 6시간 후에는 유산발효대두가 0.80 mm로 원료대두의 0.37 mm 및 청국장분말의 0.70 mm과 차이가 있었다. 이상에서 유산발효대두는 영양 성분이나 생리활성에 있어 청국장과 유사한 또는 그 이상의 품질을 지닌 것으로 나타나 향후 생선식을 비롯한 다양한 기능성 식품의 소재로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 충북지방중소기업청에서 시행한 산학연컨소시업사업의 연구비지원(2005년도)에 의해 수행된 과제의 일부로 이에 감사사를 드립니다.

문 헌

1. Wei CH, Sok DE, Yang YH, Oh SH, Kim HC, Yoon WK, Kim HM, Kim MR. Protein composition of domestic and glyphosate-tolerant soybean. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 470-475 (2006)
2. Ahn SK, Hong KW. Hyaluronidase inhibitory activity of extracts from doenjang, chungkookjang and miso. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 1119-1123 (2005)
3. Oh HS, Park YH, Kim JH. Isoflavone contents, antioxidative and fibrinolytic activities of some commercial cooking-with-rice soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 498-504 (2002)
4. Kim JH, Kim SI, Kim JG, Kim DK, Park JG, Lee JW, Byun MW. Effect of green tea powder on the improvement of sensorial quality of Chungkookjang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 482-486 (2006)
5. Jo JI, Na KC. Functional beverage using non-flavoring chungkookjang. Korea patent 10-0416180-0000 (2004)
6. Sung MH, Choi YH, Park C. Stinkless and disposable raw chungkookjang. Korea patent 10-0463071-0000 (2004)

7. Lee JO, Ryu CH. Preparation of low salt doenjang using by nisin-producing lactic acid bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 75-80 (2002)
8. Song HN. Research on the functionalities of raw soybean fermented by lactic acid bacteria. In: Educational-Industrial Consortium Report. Small and Medium Business Administration. Chungbuk, Korea (2006)
9. The Ministry of Health and Welfare, Food Code (2000)
10. AOAC. Official Methods of Analysis Int. 15th ed. Method 985.01. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1990)
11. Ministry of Agriculture and Forestry. Standard Collection of Traditional Food Standard number T014-1993. Korea Food Research Institute, Seoul, Korea. pp. 90-97 (1999)
12. Heinrikson RL, Meredith SC. Amino acid analysis by reverse phase high performance liquid chromatography precolumn derivatization with phenylisocyanate. *Anal. Chem.* 36: 65-69 (1984)
13. Folch J, Less M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509 (1957)
14. AOAC. Official Methods of Analysis Int. 15th ed. Method 985.01. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1990)
15. Gancedo M, Luh BS. HPLC analysis of organic acids and sugars on tomato juice. *J. Food Sci.* 51: 571-573 (1986)
16. Kim WJ, Lee HY, Won MH, Yoo SH. Germination effect of soybean on its contents of isoflavones and oligosaccharides. *Food Sci. Biotechnol.* 14: 498-502 (2005)
17. Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. *Nutr. Res.* 22: 519-526 (2002)
18. Haverkate F, Traas DW. Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of protease. *Thromb. Haemost.* 32: 356-365 (1974)
19. Korean Nutrition Society. Food composition table. pp.288-289, pp. 394-395. In : Recommended Dietary Allowances for Koreans. 7th Revision. Seoul, Korea (2000)
20. Park JS, Lee MY, Lee TS. Compositions of sugars and fatty acids in soybean paste (*Doenjang*) prepared with different microbial sources. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24: 917-924 (1995)
21. Moon BK, Jeon KS, Hwang IK. Isoflavone contents in some varieties of soybean and on processing conditions. *Korean J. Soc. Food Sci.* 12: 527-534 (1996)
22. Lee SM, Lee HB, Lee J. Analysis of vitamin E in some commonly consumed foods in Korea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 1064-1070 (2005)
23. Jeong JH, Kim JS, Lee SD, Choi SH, Oh MJ. Studies on the contents of free amino acids, organic acids and isoflavones in commercial soybean paste. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 10-15 (1998)
24. Ryu BH. Development of functional doenjang for antioxidative and fibrinolytic activity. *Korean J. Life Sci.* 13: 559-568 (2003)
25. Kim JG. Changes of componetns affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste-amino nitrogen, amino acids, and color. *J. Food Hyg. Safety* 1: 31-37 (2004)
26. Shon MY, Seo KI, Park SK, Cho YS, Sung NJ. Some biological activities and isoflavone content of chungkookjang prepared with black beans and *Bacillus* strains. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 662-667 (2001)
27. Lee HJ, Suh JS. Effect of *Bacillus* strains on the chungkookjang processing. (1) Changes of the components and enzyme activities during chungkookjang-koji preparation. *Korean J. Nutr.* 14: 97-104 (1981)
28. FAO. Amino acid content of food and biological data on protein. Rome, Italy (1970)
29. Cha SK. Probiotic microorganisms and lactic acid bacterial foods. *Microorg. Ind.* 26(2): 13-21 (2000)
30. Shon MY, Kim MH, Park SK, Park JR, Sung NJ. Taste components and palatability of black bean chungkookjang added with kiwi and radish. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 39-44 (2002)

31. Lee SH, Kim SK, Choi HS. Studies on the lipids in Korean soybean fermented foods. I. Changes of the lipids composition during chungkookjang fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 15: 123-131 (1983)
32. Jung YK, Lee YK, No HK, Kim SD. Effect of chitosan on quality characteristics of chungkukjang. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 476-481 (2006)
33. Kiuchi K, Ohta T, Itoh H, Takabayashi T, Ebine H. Studies on lipids of *natto*. *J. Agric. Food Chem.* 24: 404-407 (1976)
34. Lee SG, Hur YH, Suh JS. Studies on the change of sugars during fermentation of chungkuk-jang koji. *Annual Bulletin Seoul College Health.* 4: 33-40 (1984)
35. Kim CH, Shin YK, Baick SC, Kim SK. Changes of oligosaccharide and free amino acid in soy yogurt fermented with different mixed culture. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 739-745 (1999)
36. Kim JS, Yoon S. Isoflavone contents and β -glucosidase activities of soybeans, meju, and doenjang. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1405-1409 (1999)
37. Coward L, Barnes S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1961-1967 (1993)
38. Wang H, Murphy PA. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1666-1673 (1994)
39. Choe GS, Lim SY, Choi JS. Antioxidant and nitrite scavenging effect of soybean, meju and doenjang. *Korean J. Life Sci.* 8: 473-478 (1998)
40. Santiago LA, Hiramatsu M, Mori A. Japanese soybean paste miso scavenges free radicals and inhibits lipid peroxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 38: 297-304 (1992)
41. Kim SH, Yang JL, Song YS. Physiological functions of chongkukjang. *Food Ind. Nutr.* 4: 40-46 (1999)