

콩알 메주 간장 발효 중 이소플라본 함량

이 희 영 · † 차 용 준
창원대학교 식품영양학과

Isoflavone Content in Soy Sauce made with Whole Grain Soybean *Meju* during Fermentation

Hee-Young Lee and †Yong-Jun Cha

Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

Abstract

This study was conducted to investigate the isoflavone contents including daidzein and genistein in soy sauces made with whole grain soybean *Meju*(WGSM), comparing with defatted *Meju*(DM) during fermentation. Total isoflavone contents in 2 soy sauces made with DM, Control and product A, increased with period of fermentation and were 15 and 4.3 times higher after 180 days of fermentation than on the day before fermentation respectively. Meanwhile, 2 soy sauces made with WGSM, product B and C, had the highest amounts with 20.53 $\mu\text{g/g}$ and 19.52 $\mu\text{g/g}$ of isoflavones on the day before fermentation respectively, and then decreased with fermentation time. High amounts of isoflavones were detected in 20 days of fermentation of soy sauce which made with WGSM and wheat *Meju*(product D). Daidzein was the largest amounts in isoflavone contents, regardless of total or free isoflavone types. The level of daidzein increased with fermentation time in 2 soy sauces made with DM, Control and product A, whereas 2 soy sauces made with WGSM, product B and C decreased with fermentation time, instead of increasing of genistein contents.

Key words: soy sauce, whole grain soybean *Meju*, improved *Meju*, isoflavone, daidzein, genistein

서 론

전통 대두 발효 식품인 간장은 우리 식탁에서 빠질 수 없는 조미 식품으로 식품의 맛과 풍미를 부여하며 장류 중에서도 생산량이 가장 많다. 간장은 제조 공정에서 원료가 되는 메주의 발효가 가장 중요하게 평가되고 있으나 산업화, 도시화 및 서구화되면서 간장의 대부분은 산업적으로 대량 생산 체제를 갖춘 개량 메주를 이용한 일본식 간장의 제조 공정을 적용하여 공급되고 있다^{1,2)}.

최근 장류 업계에서는 기존의 개량식 메주 제조 시 많은 비용이 요구되는 제국 시설을 증설하지 않고 생산량을 늘리는 방안을 찾고 있으며, 또 소규모 창업코자 하는 영세 업체들은 처음부터 제국실을 갖추지 않고 장류를 생산하는 방안으로 일부 장류 업체에서는 제국 공정을 생략한 채로 종균이 접종된 콩알 메주 또는 밀짚 메주만을 구매한 후 여기에 식염을 첨가하여 발효 탱크에 사입, 발효·숙성시켜 장류 제품의 생산을 시도하고 있다³⁾.

한편 대두와 이를 이용한 많은 제품에서의 생리 기

† Corresponding author : Yong-Jun Cha, Dept. of Food & Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea.

Tel : +82-55-279-7485, Fax : +82-55-281-7480, E-mail : yjcha@changwon.ac.kr

능성 효과에 대한 연구가 많이 수행되어 폐경기 중후군, 골다공증, 심혈 관계 질환, 유방암, 전립선암, 대장암 등 호르몬 관련 질환에 대한 예방 효과가 있다는 것이 이미 밝혀졌다^{4~7)}.

특히 대두에는 이러한 예방 효과가 높은 isoflavone 계 phytoestrogen인 daidzein, genistein, formononetin 등이 많이 함유되어 있으며, 이중에서도 daidzein과 genistein이 에스트로젠보다 친화력은 낮지만 에스트로젠 수용체에 결합하여 에스트로젠의 대체 물질로 작용을 받고 있다^{8,9)}. 그리고 isoflavone은 β -1,4-glycoside 결합의 배당체 형태(daidzin, genistin)로 존재하지만 발효 과정에서 β -glycosidase에 의해 당이 제거된 daidzein과 genistein 등으로 전환되며, 이러한 aglycone 형태가 흡수율이 높다고 알려져 있다^{7,10)}.

따라서 본 연구에서 기존의 개량식 메주와 이를 콩알 메주로 대체하여 제조한 한식 간장의 생리 기능성 효과를 구명하기 위하여 발효 과정에서의 이소플라본 함량을 분석 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

개량식 메주는 몽고식품(주)(창원, 한국)에서, 콩알 메주와 밀쌀 메주는 두다원식품(단동, 중국)에서 제공 받았으며, 식염은 한주소금(울산, 한국)을 사용하였다. 제조 recipe는 Table 1에서처럼 시판되는 제품에 적합하도록 모든 시료의 염 농도가 15~16%(w/v)의 범위가 되게 염수 농도를 조정한 다음 개량 메주 및 콩알 메주의 첨가량을 조정하여 실온에서 발효 숙성시켰

다. 숙성 기간에 따라 수거한 분석용 간장은 동결건조 후 분말화하여 냉동 보관(-26°C)하면서 실험하였다. 표준 물질인 daidzein, genistein은 Sigma Chem. Co. (USA)에서 구입하였고, HPLC 분석용 용매인 acetonitrile, water, methanol은 Baker Co.(USA) 것을, 그 외 시약은 Yakuri Chem. Co.(Japan)의 1급 시약을 사용하였다.

2. 간장에 함유된 Isoflavone의 정량 분석

간장에서의 daidzein과 genistein의 정량은 Wang 등¹¹⁾, 김 등¹²⁾의 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 즉, total isoflavone은 각각의 시료 1 g에 1 M HCl 5 mL를 첨가하여 2시간 동안 98~100°C에서 가열한 다음 냉각하여 methanol 10 mL를 첨가하여 교반하였다. 교반 후 1시간동안 정치한 다음 상층액을 취하여 0.45 μ m syringe filter(Sartorius, Germany)로 여과한 뒤 분석용 시료로 하였으며, free isoflavone의 경우는 가열하지 않고 위의 방법과 동일하게 처리하여 분석하였다.

정량 분석에 사용된 HPLC는 HP 1100 series(Hewlett Packard, USA)이며, column은 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(Agilent, USA)을 사용하였고, UV detector(Hewlett Packard, USA)로 254 nm에서 분석하였다. 이동상의 조건은 1% glacial acetic acid/acetonitrile과 1% glacial acetic acid/water를 사용하였으며, flow rate는 1 mL/min로, 주입량은 25 μ L로 하였다. 표준 물질인 daidzein과 genistein의 retention time과 비교하여 동정 및 정량하였으며 세 번 반복하여 평균값을 구하였다.

결과 및 고찰

Table 1. Recipes for processing of various soy sauce

Sample codes	Deffatted Meju ¹⁾ (kg)	Whole grain soybean Meju ²⁾ (kg)	Wheat Meju ³⁾ (kg)	Brine(% w/v)		Total weight (L, w/v)
				20%	23%	
Control	12.5	0.0	0.0	0.0	23.5	36.0
A	9.0	0.0	0.0	27.0	0.0	36.0
B	0.0	9.0	0.0	27.0	0.0	36.0
C	0.0	7.2	0.0	28.8	0.0	36.0
D	0.0	4.5	4.5	27.0	0.0	36.0

¹⁾ Coated with *Asp. oryzae* on surface of deffatted soybean.

²⁾ Coated with *Asp. oryzae* on surface of soybean.

³⁾ Coated with *Asp. oryzae* on surface of wheat.

Table 2. Changes of total and free isoflavone contents in various soy sauce fermentation

($\mu\text{g/g}$, dry and salt free basis)

Fermentation time(days)	Isoflavone	Sample codes ¹⁾				
		Control	A	B	C	D
0	Total	0.86	2.79	20.53	19.52	10.86
	Free	2.34	5.52	28.36	25.11	15.25
20	Total	4.44	5.83	9.86	10.31	19.94
	Free	5.03	6.65	13.79	13.63	26.07
60	Total	7.17	9.33	5.31	5.58	6.91
	Free	13.71	17.96	7.28	8.47	7.80
120	Total	12.34	11.29	10.61	11.13	4.38
	Free	19.60	22.38	11.46	12.66	5.61
180	Total	12.91	12.01	9.64	10.51	3.65
	Free	17.84	19.67	10.71	10.91	5.17

¹⁾ Sample codes refer to comment in Table 1.

1. 간장 발효 중 이소플라본 함량 변화

탈지 대두 메주(개량 메주)와 이를 콩알 메주로 대체한 한식 간장(Table 1)의 발효 과정에서의 이소플라본 함량의 변화는 Table 2와 같다. 기존의 개량 메주를 이용한 시료인 Control과 제품 A의 발효 0일차에서 총 이소플라본 함량은 각각 0.86 및 2.79 $\mu\text{g/g}$, 유리 이소플라본 함량은 각각 2.34, 5.55 $\mu\text{g/g}$ 로서, 유리형 aglycone의 함량이 2배 이상 높았다. 발효 초기에 Control이 제품 A에 비해 8% 가량 높은 메주 함량과 상이한 이소플라본의 함량 차이는 본 메주에 접종된 균의 활성과 발효 과정 중의 균체량에 기인된 것으로 사료된다(자료 미제시). 발효가 진행됨에 따라 개량 메주 간장 제품(Control 및 제품 A)에서의 총 이소플라본 함량은 발효 120일까지 계속해서 증가하였다가 그 후로는 아주 완만하게 증가하였는데, 발효 180일 경에는 Control 및 제품 A에서 각각 12.91 및 12.01 $\mu\text{g/g}$ 으로 발효 초기에 비해 15배 및 4.3배씩 증가하였다. Control과 제품 A간의 차이는 간장 제조시 첨가된 개량 메주의 함량 비에 기인된 것으로 보인다. 유리형의 이소플라본 함량도 동일한 경향으로 증가하였는데, Control 및 제품 A에서 유리형/총 이소플라본의 비율은 각각 1.32~2.72, 1.14~1.98배의 범위에 있었다. 이러한 결과는 콩의 glycosides가 효소적 분해에 의해 일부 daidzein과 genistein으로 전환되었을 것으로 생각되며¹³⁾, 발효가 진행되면서 미생물에 의해 생성된 β -glucosidase에 의

해 glycosides에서 glucose가 분리된 aglycone 형태로 전환되면서 유리형 이소플라본 함량이 증가한 것으로 추정되었다^{14,15)}.

한편 콩알 메주 제품 B 및 C에서는 발효 0일차에 총 이소플라본 함량이 최대값(각각 20.53 $\mu\text{g/g}$ 및 19.52 $\mu\text{g/g}$)을 나타내었고, 유리형도 마찬가지로 각각 28.36 $\mu\text{g/g}$ 및 25.11 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 발효 20일경에 급격히 감소한 다음 그 후로는 매우 완만하게 감소하였다. 제품 B의 경우, 제품 C에 비해 첨가된 콩알 메주 함량이 5%(w/v) 높았으나 발효 기간 동안 다소 이소플라본의 함량이 적게 검출되었다. 이는 첨가된 염의 함량이 높은 제품 C의 경우, 제염된 수치(salt free basis)로 인해 상대적으로 증가된 것으로 판단되었다. 그러나 콩알 메주에 밀쌀 메주를 혼합한 제품 D에서는 발효 20일차에 총 이소플라본 및 유리형이 19.94 $\mu\text{g/g}$ 및 26.07 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 높은 함량이었고, 그 후로 콩알 메주에서와 비슷하게 서서히 감소하였다. 그리고 유리형/총 이소플라본의 비율도 1.13~1.42배의 범위였다. 이와같이 콩알 메주 간장(제품 B와 C) 및 혼합 콩알밀쌀 메주 간장(제품 D)에서 숙성 초기에 isoflavone 함량이 최대값을 나타낸 이유는, 콩알 메주와 밀쌀 메주 구입 당시 메주에 균이 접종된 상태라 메주에 식염수를 첨가하여 숙성을 시키기 전 이미 발효가 일부 진행된 것으로 보였으며, 일정시간 발효가 진행됨에 따라 가수분해에 의한 isoflavone의 파괴가 이루어지는

것으로 생각되며¹⁶⁾, Control 및 제품 A에서는 그러한 경향이 180일까지는 나타나지 않았다.

2. 간장 발효 중 daidzein과 genistein 함량 변화
간장 제품의 발효 과정에서 총 이소플라본과 유리형 이소플라본에서의 daidzein과 genistein 함량을 분석

한 결과는 각각 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내었다. 발효 과정 중 daidzein과 genistein 함량의 변화는 총 이소플라본과 유리형의 함량(Table 2)과 유사한 패턴을 나타내었는데, 총 이소플라본 또는 유리형에 관계없이 이소플라본의 함량의 대부분을 daidzein이 차지하였음을 알 수 있었다. 개량 메주 간장(Control 및 제품 A)의 총

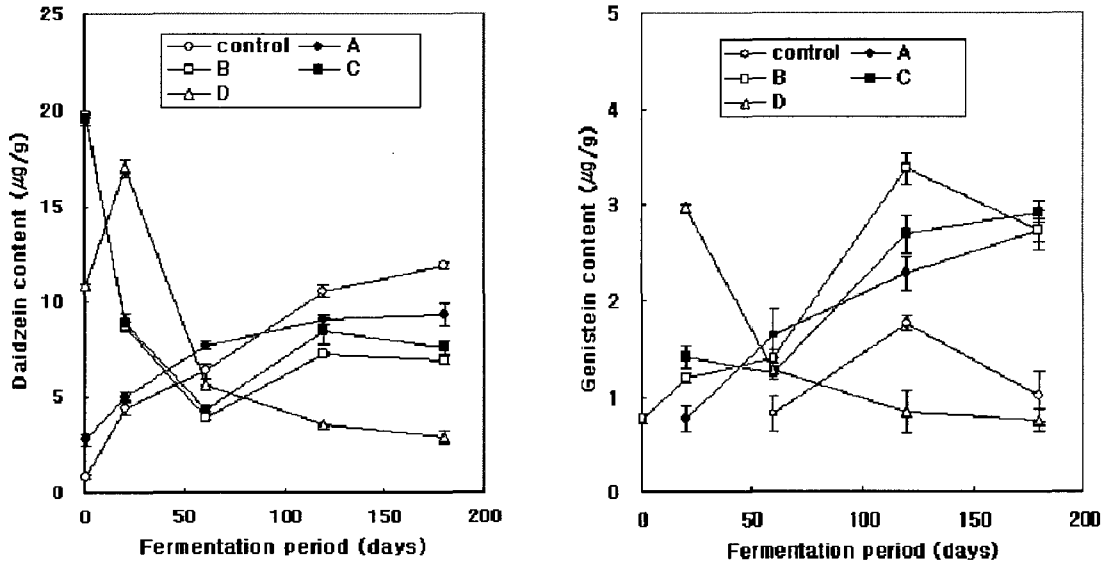


Fig. 1. Changes of daidzein and genistein contents(dry and salt free basis) in total isoflavone in various soy sauce fermentation.

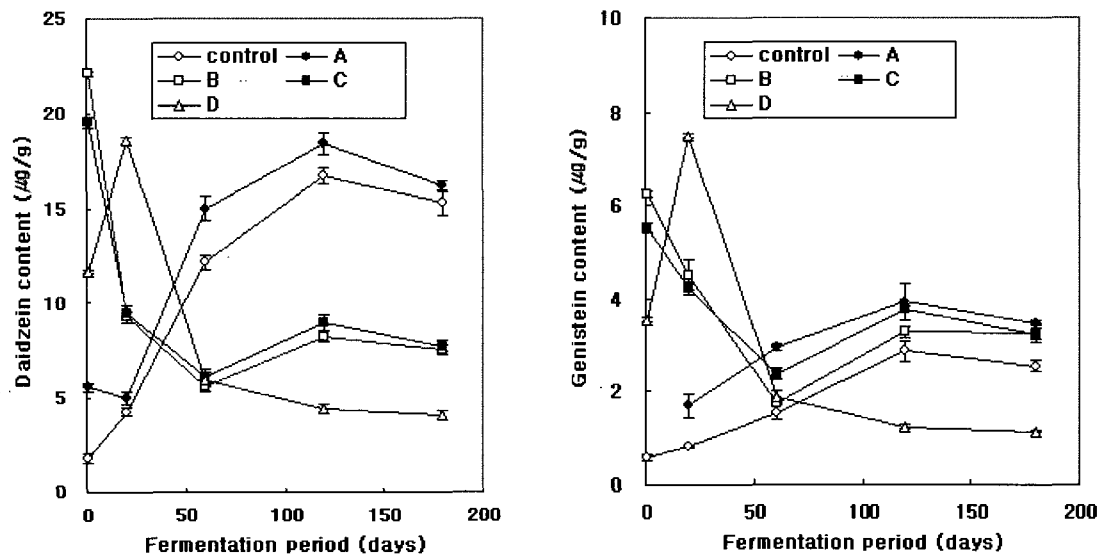


Fig. 2. Changes of daidzein and genistein contents(dry and salt free basis) in free isoflavone in various soy sauce fermentation.

이소플라본 함량에서 daidzein은 숙성과 함께 증가한 반면에, 유리형에서는 발효 120일까지 증가하였다가 그 후로는 오히려 감소하였다. 한편 콩알 메주 간장(제품 B와 C)에서는 발효 0일 차에 daidzein의 함량이 최고 많았으며, 숙성과 함께 서서히 감소하였고, 대신 genistein 함량은 서서히 증가하였다. 그리고 콩알 메주와 밀쌀 메주를 혼합한 제품(D)에서는 발효 20일경에 최대의 함량이었고, 그 후로는 서서히 감소하였다. 이러한 경향은 모든 간장 제품의 총 이소플라본 함량이나 유리형에서의 함량에서 동일한 경향으로, 앞서 설명한 바와 같이 미리 균이 접종된 콩알 메주와 밀쌀 메주는 식염수가 첨가가 되기 전 발효가 일부 진행됨에 따라 isoflavone의 파괴가 이루어지는 것으로 사료된다¹⁶⁾. Wang 등¹¹⁾은 시판 콩간장의 유리형 daidzein은 건물량 기준으로 23.5 $\mu\text{g/g}$, 유리형 genistein은 17.9 $\mu\text{g/g}$ 이었다고 보고하였고, Choi 등¹⁰⁾은 간장에서 유리형 daidzein은 3~21 $\mu\text{g/g}$, 유리형 genistein은 9 $\mu\text{g/g}$ 이하로, Kim 등¹⁷⁾은 유리형 daidzein이 0.91 $\mu\text{g/g}$, 유리형 genistein이 2.80 $\mu\text{g/g}$ 로 본 실험의 결과 값(유리형 daidzein: 1.22~13.76 $\mu\text{g/g}$, 유리형 genistein: 4.68 $\mu\text{g/g}$ 이하)과 다소 차이가 있었다. 이는 생산 업체에 따른 원료 및 제조 공정의 차이, 간장 제조 방법(양조 간장, 혼합 간장 또는 산 분해 간장 등)이나 숙성 정도의 차이에서 기인한 것이라 생각되었다¹⁰⁾.

한편 Kim 등¹²⁾이 보고한 메주(daidzein: 269 $\mu\text{g/g}$, genistein: 137 $\mu\text{g/g}$)와 된장(daidzein: 578 $\mu\text{g/g}$, genistein: 455 $\mu\text{g/g}$)과 비교하여 볼 때 간장은 낮은 함량을 보였다. 이는 숙성이 끝난 발효물의 압착공정을 통하여 중간층의 간장액만을 분리, 살균 및 포장하는 간장 제조 공정에서 일부가 소실될 것으로 사료되었다³⁾.

본 실험을 통하여 콩알 메주 간장 제품은 개량 메주 간장 제품과 비교하여 볼 때 숙성중의 이소플라본 함량은 숙성 기간에 따라 감소하는 경향을 보였으나 전체적인 함량에서 볼 때 숙성 기간을 조절함으로써 기존의 개량 메주 간장을 콩알 메주 간장으로 대체하여도 손색이 없을 것으로 보였다.

요 약

기존의 개량식 메주와 이를 콩알 메주로 대체하여 제국 공정을 생략함으로써 생산비 절감 효과 및 생리 기능성을 가진 한식 간장의 개발을 위한 일련의 연구

로, 본 연구에서는 간장 발효 중의 이소플라본의 함량 변화와 동시에 aglycone 형태의 daidzein과 genistein 함량의 변화를 분석 비교하였다. 개량 메주 간장인 Control 및 제품 A의 총 이소플라본 함량은 발효 120일까지 증가하였다가 그 후로는 아주 완만하게 증가하였고, 발효 180일경에는 발효 초기에 비해 각각 15배 및 4.3배씩 증가하였다. 반면 콩알 메주 간장 B 및 C에서는 발효 0일차에 총 이소플라본 함량이 최대값(각각 20.53 $\mu\text{g/g}$ 및 19.52 $\mu\text{g/g}$)을 나타낸 다음 그 후부터는 감소하였다. 콩알 메주 및 밀쌀 메주 혼합 간장 D에서는 발효 20일차에 가장 높은 함량이었고, 그 후로 서서히 감소하였다. 총 이소플라본 또는 유리형에 관계없이 이소플라본의 함량의 대부분을 daidzein이 차지하고, 개량 메주 간장(Control 및 제품 A)에서는 숙성과 함께 증가한 반면에, 콩알 메주 간장(제품 B와 C)에서는 발효 0일차에 daidzein의 함량이 최고 많았고, 숙성과 함께 서서히 감소하였고, 대신 genistein 함량은 서서히 증가하였다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 창원대학교 연구비에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

1. Kim, DH and Kim, SH. Biochemical characteristics of whole soybean cereals fermented with *Mucor* and *Rhizopus* strains. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 176-182. 1999.
2. Kim, DH, Kang, SW and Kim, SH. Production of korean traditional soy sauce from *Rhizopus stolonifer* inoculated grain type *Meju*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31:757-763. 1999.
3. Kim, HJ. Studies on the manufacturing and characterization of soy sauce with whole grain soybean *Meju*. Ph.D. Thesis, Changwon National Uni., Changwon. 2003
4. Knight, DC and Eden, JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet. Gynecol.* 87:897-904. 1996
5. Cassidy, A. Physiological effects of phyto-estrogens

- in relation cancer and other human health risk. *Proc. Nutr. Soc.* 55:399-417. 1996
6. Barrett, J. Phytoestrogens. Friends or foes? *Environ. Health Perspect.* 104:478-482. 1996
 7. Wei, H, Wei, L, Frenkel, K and Bowen, R. Inhibition of tumor-promoter induced hydrogen peroxide formation by genistein *in vitro* and *in vivo*. *Nutr. Cancer* 20:1-12. 1993
 8. Pelissero, C, Bennetau, B, Babin, P, Le Mann, F and Dunogue, J. The estrogenic activity of certain phytoestrogen in the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 38:293-299. 1991
 9. Miksicek, RJ. Interaction of naturally occurring non-steroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *J. Steroid Biochem. Mol. Bio.* 49:153-160. 1994
 10. Choi, YB and Sohn, HS. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30:745-750. 1998
 11. Wang, G, Kuan, SS, Francis, OJ, Ware, GM and Carman, AS. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.* 38:185-190. 1990
 12. Kim, JS and Yoon, S. Isoflavone contents and β -glucosidase activities of soybeans, *Meju* and *Doenjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31:1405-1409. 1999
 13. Wang, HJ and Murphy, PA. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. *J. Agric. Food Chem.* 44:2377-2383. 1996
 14. Wang, HJ and Murphy, PA. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem.* 42:1666-1673. 1994
 15. Murakami, H, Asakawa, T, Terao, J and Matsushita, S. Antioxidative stability of tempeh and liberation of isoflavones by fermentation. *Agric. Biol. Chem.* 48: 2971-2975. 1984
 16. Choi, JS, Kwon, TW and Kim, JS. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Food Sci. Biotechnol.* 5:167-169. 1996
 17. Kim, CS, Lee, YS, Kim, JS and Hahn, YH. High performance liquid chromatographic analysis of isoflavone in soybean food. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32:25-30. 2000
-
- (2006년 11월 6일 접수; 2006년 12월 15일 채택)