

청국장과 된장의 항산화 효능 및 아질산염 소거능 비교

오현주 · 김창순[†]

창원대학교 식품영양학과

Antioxidant and Nitrite Scavenging Ability of Fermented Soybean Foods (*Chungkukjang*, *Doenjang*)

Hyun Ju Oh and Chang Soon Kim[†]

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

Abstract

This study was carried out to investigate antioxidant substances (phenolic compounds and brown pigment), antioxidative effect and nitrite scavenging ability (NSA) of solvent extracts (hexane: HE, methanol; ME, water: WE) from fermented soybean foods, *Chungkukjang* and *Doenjang*. The antioxidant activities were determined by the measurements of peroxide value (POV) on the linoleic acid system, electron donating ability (EDA) and superoxide dismutase (SOD)-like activity. The contents of phenolic compounds and total brown pigments in *Doenjang* were 28.5 ± 0.3 mg/100 g and optical density (OD) 1.98 ± 0.03 , respectively, whereas their contents in *Chungkukjang* were significantly lower with 5.8 ± 0.3 mg/100 g and OD 0.95 ± 0.02 . The brown pigment contents of hydrophilic extracts increased more than that of lipophilic extracts through the fermentation and ripening processes. The ME of *Doenjang* exhibited higher inhibitory effects against the peroxidation of a linoleic acid system than that of *Chungkukjang*. The EDA and NSA of MEs were higher than those of WEs. Among the MEs, *Doenjang* showed the highest levels of EDA and NSA. On the other hand, the SOD-like activities of WE were higher than those of ME at the same concentrations and their activities of *Doenjang* were significantly higher than that of *Chungkukjang*. In conclusion, the antioxidative effects and NSA of *Doenjang* was significantly higher than those of *Chungkukjang*. It seemed that phenolic compounds and brown pigments formed during fermentation and ripening partly affect the antioxidative activities of fermented soybean foods.

Key words: fermented soybean foods, *Chungkukjang*, *Doenjang*, antioxidant substances, antioxidative effect, nitrite scavenging ability

서 론

신체의 노화나 암, 심장병 등의 질환은 생체내에서 산화적 스트레스에 의해 생성되는 자유라디칼(free radical)에 기인하는데 자유라디칼은 세포 구성성분과 강하게 반응하여 세포와 조직에 손상을 가하고 지속적인 DNA 손상은 돌연변이를 일으켜 암, 노화 등을 유발하게 된다(1,2). 산화적 스트레스는 반응성의 활성 산소종과 항산화제간의 불균형 상태로써 항산화 성분 결핍식이나 흡연과 같은 환경적 독성분 증가에 기인한다(2). 이러한 측면에서 항산화식품 섭취가 중요시되면서 이에 대한 많은 연구들이 진행되고 있다. 그 중에서 대두 섭취는 혈중 저밀도 콜레스테롤의 산화를 억제함으로써 동맥경화 예방 및 심장병 발병률을 낮추는 것으로 알려져 있다(3). 대두가 주성분인 된장과 청국장은 오랫동안 즐겨 섭취해오고 있는 우리나라 고유의 전통발효식품으로서 대

두에 본래 함유되어 있는 항산화물질 뿐만 아니라 발효 및 숙성과정 중에 새로이 생성된 항산화물질인 이소플라본의 aglycones, 유리아미노산, 펩타이드, 갈변물질 등을 함유하고 있다(4,5). 이러한 물질들에 의해 혈전용해능(6)과 항돌연변이, 항암작용(7), 혈압강화작용(8) 및 면역증강 효과(9) 등 대두에서 발견되지 않은 생리활성이 밝혀지면서 현대사회의 웰빙 식품으로 떠오르고 있다. 대두발효식품은 발효균종(10), 발효 및 숙성기간(7,11), 갈변물질의 생성 정도(12-14)와 페놀물질 분획(15,16)에 따라 항산화력이 다르다. 일반적으로 대두나 증자대두에 비해 대두발효식품은 토코페롤 함량은 낮으나, 발효미생물이 생성하는 β -glucosidase의 작용에 의한 isoflavone aglycones(genistein, daidzein) 증가로 항산화효과가 증가한다(4,17). 대두발효식품의 항산화효과를 TBARS(thiobarbituric acid reactive substance)로 측정 한 Yang(18)의 연구에서 된장과 청국장의 메탄올추출물의

[†]Corresponding author. E-mail: cskim@changwon.ac.kr
Phone: 82-55-213-3512, Fax: 82-55-281-7480

항산화력은 유사하였으나 물추출물에서 청국장이 된장보다 우수하였다. 이때 사용된 청국장과 된장은 각각 제조사가 다른 시중 제품으로 동일한 대두 원료를 사용한 것은 아니었다. 또한 Lee 등(19)은 수입산 대두를 원료로 제조한 시판 청국장과 된장의 메탄올추출물의 수소공여능과 TBARS 측정을 통한 항산화력이 된장보다 청국장이 약간 높았다고 보고하여 대두발효식품의 발효숙성기간이 길수록 항산화력이 증가한다는 다른 연구자들의 결과(7,11)와는 다른 경향을 나타내었다. 이러한 대두발효식품의 선행 연구결과는 대두 자체의 품종에 따라 항산화성이나 항변이원성 등 여러 기능적 특성이 다르다(20)는 점을 감안할 때 연구자들 간의 일치하지 않는 청국장과 된장의 항산화 효능의 차이를 대두의 서로 다른 가공공정에 의한 효과만으로 보기엔 다소 어려움이 따른다. 따라서 본 연구에서는 동일 품종의 국내산 원료 대두로부터 제조된 증자대두와 청국장과 된장을 동결건조한 후 항산화관련 물질을 측정하고 용매 추출물의 항산화력 및 아질산염소거능 조사를 통해 된장과 청국장의 기능적 우수성을 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 원료로 사용한 대두 품종은 국내산 태광콩으로 알알이식품(주)로부터 직접 제공받아 사용하였다. Fig. 1과 같이 증자대두는 선별된 원료 대두를 3배의 물에 침지(25°C, 24 hr)시킨 후 10분간 물을 뺀 다음 가압멸균기(121°C, 1.2 kg/cm², 30 min)를 사용하여 가압·증자하였으며, 청국장은 증자대두를 50°C로 냉각시킨 후 채반에 담아 공기가 들어갈 수 있도록 저어준 후 청국장제조기(NY-3200S, 엔유씨전자, 한국)에 넣고 발효(38±1°C, 24 hr)시켜 제조하였다. 재래식 된장은 공장으로부터 제공받았으며 그 제조방법은 청국장에 사용된 동일한 품종의 대두를 증자하여 40°C로 냉각시킨 후 분쇄하여 벽돌형의 메주를 성형하여 건조시킨 후 벗짚으로 엮어 매달아 1개월 자연 발효시킨 재래식 메주와 냉각시킨 증자대두에 *Aspergillus oryzae*를 접종하여 발효(30±1°C, 72 hr, 건조(40°C, 14 hr)시켜 제조한 콩알 메주를 함께 혼합하였다. 혼합 메주를 염수에 담근 후 약 2개월의 숙성기간을 거쳐 액체부분을 제외한 건더기를 항아리에 눌러 놓고 5개월 숙성시켜 제조하였다. 대두는 건조상태에서 분쇄하여 체(80 mesh)로 친 후 분말화하였고 증자대두, 청국장, 된장은 동결 건조(Freeze dryer, Bondiro, Ilshin Lab Co., Ltd., Korea)후 대두와 동일한 방법으로 분말화하여 시료로 사용하였다. 비교군으로 녹차(지리산 화개 녹차엽 100%)와 합성항산화제인 BHT(butylated hydroxy toluene)를 사용하였다.

시약

본 실험에 사용한 Folin Ciocalteu's phenolic reagent,

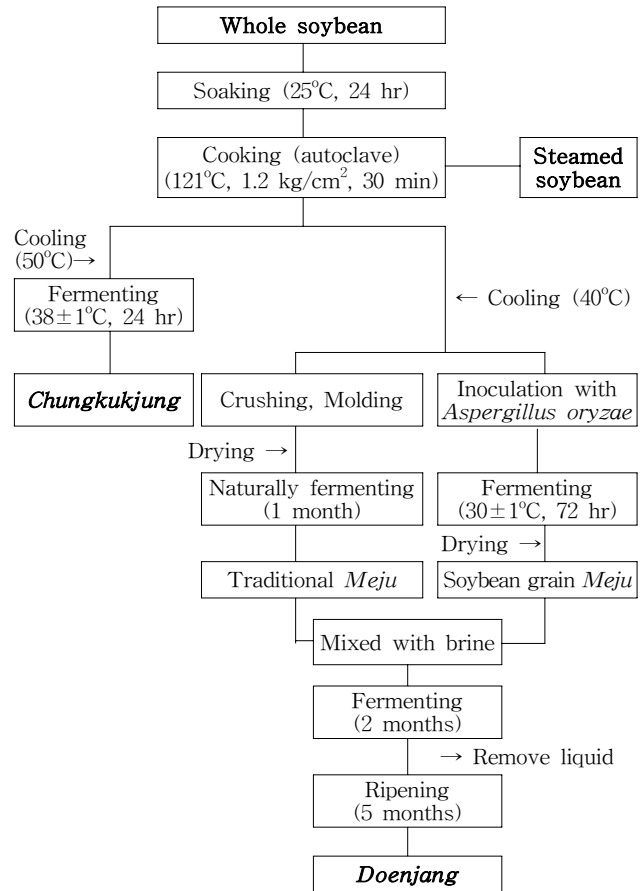


Fig. 1. The manufacturing processes for steamed soybean, Chungkukjung and Doenjang.

gallic acid, linoleic acid (99%), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), tris(hydroxymethyl) amino-methane, EDTA, pyrogallol, sulfanilic acid, naphthylamine과 butylated hydroxy toluene(BHT)는 Sigma(Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 분석에 사용된 추출용매인 헥산, 메탄올, 클로로포름 등과 다른 성분 분석을 위해 사용된 시약은 덕산(Korea)으로부터 구입한 1급 시약을 사용하였다.

색도 측정

대두, 증자대두, 청국장 및 된장 분말 시료의 색도 측정은 colormeter(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도), ΔE(color difference)값으로 표현하였으며 각 시료당 10회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다. 이 때 사용된 표준 백색판의 L, a, b값은 각각 96.88, -0.16, -0.29이었다.

시료의 용매별 추출물 제조

시료의 용매별 추출물 제조는 각 시료 종류별 100 g에 중량비 10배의 헥산을 첨가하여 균질기(Ultra-Turax, T-25, Ika Werke, Staufen, Germany)로 균질화(9500 rpm, 3 min)

한 후 실온에서 15시간 교반 추출하였다. 추출 후 원심분리(10,000×g, 30 min)하여 여과(Whatman No. 2)한 것과 잔사 중량비 5배의 헥산을 넣고 4시간 추가 추출하여 합한 용액을 35°C로 감압농축(rotary evaporator, EYELA N-N series, Tokyo Rikakikai, Japan)하여 헥산추출물로 하였다. 헥산으로 추출한 잔사 중량비 10배의 메탄올로 헥산추출물 제조와 동일한 방법으로 메탄올추출물을 제조하였다. 물추출물은 메탄올로 추출한 잔사(100 g) 중량비 10배의 물로 위의 추출물 제조시와 동일한 방법에 의해 추출한 용액을 동결건조하였다. 녹차물추출물은 분쇄한 녹차잎 20 g에 중량비 10배의 물로 위의 물추출물과 동일한 방법으로 제조하였다.

페놀화합물 측정

Benvenuti 등의 Folin Ciocalteu법(21)에 따라 동결건조분말 시료 20 g에 메탄올/HCl 2%(95:5 v/v)용액 20 mL을 넣고 균질화한 후 원심분리(3000 rpm, 15 min)하여 여과한 여과액(①)과 잔사에 다시 메탄올/HCl 2%용액 20 mL을 첨가하여 동일한 방법으로 여과한 여과액(②)을 합하여 메탄올/HCl 2%용액으로 50 mL 정용하였다. 50 mL 용액 중 1 mL를 취하여 Folin Ciocalteu 시약 5 mL와 7.5% Na₂CO₃ 용액 10 mL를 가하여 혼합한 후 물로 100 mL 정용한 것을 실온에서 2시간 방치한 뒤 분광광도계(UV-VIS spectrophotometer, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하여 작성된 표준검량곡선으로부터 페놀화합물 함량을 정량하였으며 100 g 건식중량에 대한 mg gallic acid(GAE)로 나타내었다.

지용성·수용성 추출물의 갈색도 측정

갈색도는 Chung과 Toyomizu의 방법(22)에 따라 지용성 갈변물질(lipophilic brown pigment; LBP)은 동결건조분말 시료 5 g에 헥산 50 mL를 가하여 3회 탈지시킨 후 여과하고 잔사를 클로로포름/메탄올(2:1, v/v) 혼합액 50 mL로서 3회 추출한 것을 시료로 사용하였으며, 또한 수용성 갈변물질(hydrophilic brown pigment; HBP)은 추출 잔사에 메탄올-증류수(1:1, v/v) 50 mL를 가하여 5°C에서 48시간 동안 교반 추출한 것을 시료로 하여 분광광도계를 사용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

Linoleic acid 상에서의 지방질 산화 측정

Hayase와 Kato의 방법(23)에 따라 linoleic acid 1 g에 에탄올 20 mL를 가해 용해하고 인산완충용액(0.2 M, pH 7.0) 25 mL를 혼합하였다. 이 때 첨가하는 항산화제는 그 용해성에 따라 에탄올 또는 인산완충용액에 용해시켜 해당농도 200 ppm으로 만든 다음, 그 1 mL를 삼각플라스크에 첨가하였다. 그 다음 50°C에서 72시간 동안 산화시킨 후 이들 반응용액을 분액여두에 옮긴 후 물 5 mL와 식염 2 g을 가하고 클로로포름 25 mL를 사용해 2회 추출하여 하층을 삼각 플라

스크에 모으고 초산 25 mL와 포화 KI 용액 1 mL를 가해 1분간 진탕한 후 암소에 5분간 방치하였다. 여기에 증류수 50 mL를 가하고 1% 전분용액을 지시약으로 하여 0.01 N-Na₂S₂O₃ 용액으로 적정하여 과산화물가를 측정하였다.

전자공여능(Electron donating ability; EDA) 측정

전자공여능 측정은 Blois(24)의 방법에 준하여 추출액 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 vortex mixer로 10초간 강하게 진탕하여 실온에서 10분간 방치한 후 분광광도계로 흡광도(525 nm)를 측정하여 시료첨가구와 시료무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다. 시료무첨가구는 추출물 대신 추출용매 0.2 mL만을 넣어 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법(25)에 따라 측정하였다. 즉 일정 농도의 추출물 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5) 3.0 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 항온 수조에서 25°C에서 10분간 반응 후, 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 분광광도계를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가구와 시료무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

아질산염 소거능(Nitrite scavenging ability; NSA) 측정

아질산염 소거능은 Kato 등의 방법(26)에 따라 일정 농도의 추출물 시료 1 mL에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 가하고, 이 용액에 0.1 N HCl을 가하여 pH 1.2로 조정하였다. 여기에 증류수를 가하여 부피를 10 mL로 정용한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 5 mL, Griess 시약(A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid)을 0.4 mL를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 산출하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 첨가한 후, 동일한 방법으로 측정하여 시료용액의 첨가구와 시료무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{NSA (\%)} = [1 - \{(A - C)/B\}] \times 100$$

A: NaNO₂ 용액에 시료와 Griess를 첨가한 흡광도

B: NaNO₂ 용액에 Griess를 첨가한 흡광도

C: NaNO₂ 용액에 시료와 증류수를 첨가한 흡광도

통계분석

모든 실험결과는 SPSS(version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용한 분산분석(ANOVA)을 실시하였고 각 측정 평균값의 유의성(p<0.05)은 Duncan's multiple range

test를 사용하여 검정하였다.

결과 및 고찰

색도

대두, 증자대두, 청국장 및 된장 분말의 색도는 Table 1과 같이 증자대두, 청국장, 된장으로 갈수록 L값이 유의적으로 감소하여 어두워지는 경향을 보였다. a와 b값은 L값의 큰 감소에 비해 경향성을 보이지 않았으나 ΔE 값에서 시료 간에 유의적인 차이를 나타내었다. 이는 발효와 숙성 중 Maillard 반응과 효소적 갈변반응에 의해 갈색 색소가 많이 생성되었기 때문이며, 이때 산소, 금속이온, 각종 염, 온도 등의 영향을 받으며 특히 균주의 영향을 크게 받는다고 보고되고 있다(27).

용매별 추출 수율

대두, 증자대두, 청국장, 된장 및 녹차의 용매별 추출물의 수율은 Table 2와 같다. 헥산, 메탄올과 물에 의한 추출수율은 각각 11.5~16.9%, 11.1~32.0%, 11.8~18.7% 범위에 있었다. 대두의 추출수율은 용매 간에 거의 차이가 없었으며 증자대두와 청국장의 헥산과 메탄올에 의한 추출수율은 유사하였으나 물 추출수율은 청국장이 6.1% 높았다. 청국장은 증자대두 제조 후 발효과정을 통해 폴리글루타민산이라는 아미노산과 프락탄이라는 다당류가 결합한 수용성 점질물

의 생성과 미생물이 분비한 효소의 작용으로 인한 가수분해 물질인 유리아미노산, 펩톤, 펩타이드와 유리당 등의 수용성 물질의 증가(28)로 물 추출수율이 증가한 것으로 생각된다. 메탄올 추출수율은 된장이 32.0%로 가장 높았으나 청국장은 11.3%로 낮았다. 이는 청국장보다 오랜 발효와 숙성과정을 통해 가수분해물질 및 갈색물질의 증가(4)로 인한 것으로 판단된다.

페놀화합물 함량

페놀성 물질은 식물계에 널리 분포되어 있는 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 갖는데, 특히 이 중 phenolic hydroxyl기가 항산화 등과 같은 생리활성 기능을 나타내게 된다(1,29). Table 2에 제시된 페놀화합물은 100 g 건조 시료당 gallic acid로 표현했을 때 된장이 28.5 mg으로 청국장 5.8 mg, 대두 5.0 mg, 증자대두 4.3 mg보다 약 5배 정도 높아 원료가 동일한 대두입에도 불구하고 발효 및 숙성과정이 길수록 증가된 페놀화합물 함량을 보였다. 본 실험에서 사용된 증자대두는 증자시 유출된 물은 제거하여 시료로 사용하였으므로 유용한 수용성의 페놀성 물질들이 유실되어 페놀화합물 함량이 대두에 비해 감소된 것(17)으로 보인다. 뿐만 아니라 증자대두의 페놀화합물 감소는 식품의 조리 및 가공 시 열처리로 인한 파괴(30)도 그 일부 원인으로 볼 수 있다. 그러나 청국장과 된장은 발효과정 중 페놀성 물질인 이소플라본의 배당체가 β -glucosidase에 의해 aglycone 형태로 변화되어 genistein과 daidzein의 함량이 증가한 것(4,17,30)으로, 특히 상대적으로 숙성기간이 긴 된장은 청국장에 비해 훨씬 많은 양이 전환된 것으로 보인다(4). 폴리페놀 함량이 높다고 알려진 녹차의 페놀화합물 함량은 280 mg으로 된장에 함유되어 있는 페놀화합물의 약 10배에 해당된다.

지용성·수용성 추출물의 갈색도

청국장과 된장의 발효숙성 중의 갈변물질의 생성정도를 알아보기 위하여 지용성 및 수용성 추출물의 갈색도를 측정 한 결과(Fig. 2) 된장의 지용성 및 수용성 추출물의 총 갈색도 OD값은 1.98로 가장 높아 다른 시료와 큰 차이를 보였으며 다음은 청국장, 증자대두, 대두 순으로 감소하였다. 모든 처리구에서 지용성 추출물의 갈색도 OD값(0.05~0.58)보다 수용성 추출물의 갈색도 OD값(0.36~1.40)이 높았으며, 특히 증자, 발효 공정과 숙성과정을 가질수록 즉, 된장>청국장>증자대두>대두 순으로 수용성 추출물에 의한 갈색도가 증가하였다. Kim 등(12)의 보고에 의하면 된장의 숙성기간에 따라 지용성 추출물의 갈색도는 큰 변화를 보이지 않은 반면 수용성 추출물의 갈색도는 뚜렷이 증가하는 경향을 보여 된장의 갈변현상은 수용성 물질에 의한 영향이 더 높았다고 하였다. 지용성 추출물의 갈색도는 된장>대두>증자대두, 청국장 순으로 높았다. Lee 등(14)의 연구에서 된장은 메주와 달리 수용성, 지용성 갈변물질이 모두 숙성 기간이 길어질수록 증가하여 높은 값을 나타낸 것과 일치하는 결과

Table 1. Hunter color values of soybean, steamed soybean, Chungkukjang and Doenjang

	Hunter color values ¹⁾			
	L	a	b	ΔE
Soybean	79.71 ^{a2)}	2.14 ^c	26.05 ^a	31.49 ^c
Steamed soybean	73.59 ^b	5.57 ^b	25.11 ^b	34.91 ^b
Chungkukjang	70.61 ^c	6.04 ^a	25.62 ^b	37.38 ^a
Doenjang	66.15 ^d	5.49 ^b	20.76 ^c	37.65 ^a

¹⁾L: lightness, a: redness, b: yellowness, ΔE : $\sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$, color difference.

²⁾Means with the different superscripts in each column are significantly different ($p < 0.05$, $n = 10$).

Table 2. Extraction yield and content of phenolic compounds of soybean, steamed soybean, Chungkukjang, Doenjang and green tea

Sample	Yield of extract (%)			Phenolic compounds ¹⁾ (mg GAE/100 g dw)
	n-Hexane	Methanol	Water	
Soybean	11.5	11.6	11.8	5.0 \pm 0.3 ^{d2)}
Steamed soybean	16.4	11.1	12.6	4.3 \pm 0.1 ^e
Chungkukjang	16.9	11.3	18.7	5.8 \pm 0.3 ^c
Doenjang	15.0	32.0	14.2	28.5 \pm 0.3 ^b
Green tea	-	-	12.3	280.0 \pm 1.5 ^a

¹⁾Phenolic compounds were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in milligrams per 100 g dry material.

²⁾Means with the different superscripts in the column are significantly different ($p < 0.05$, $n = 5$).

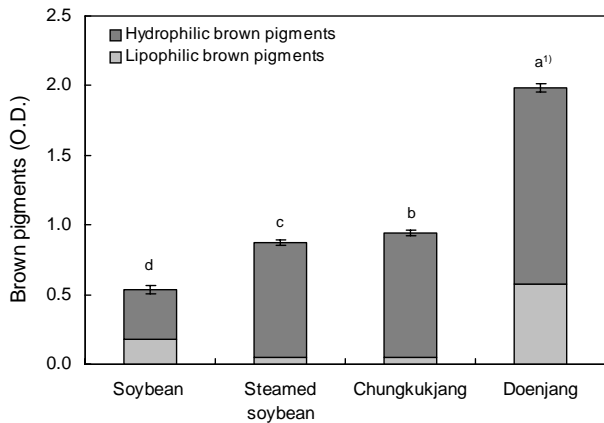


Fig. 2. Lipophilic and hydrophilic brown pigments of soybean, steamed soybean, Chungkukjang and Doenjang.

¹⁾Means with the different superscripts are significantly different ($p < 0.05$, $n = 5$).

를 보였다. 된장은 오랜 숙성과정 중 미생물이 생성하는 protease 작용으로 단백질이 분해되어 생성된 가용성 질소 화합물인 펩톤, 펩타이드, 아민 등과 amylase 작용으로 당질이 분해되어 생성된 다량의 환원당간의 Maillard 반응에 의한 갈변물질(Maillard reaction products; MRPs) 생성량이 증가된 것(4,31)으로 판단된다.

Linoleic acid 상에서의 항산화능

Linoleic acid 상의 지방질 산화반응에 대한 항산화효과를 비교하기 위하여 200 ppm 농도로 용매별 추출물(n-hexane extract, HE; methanol extract, ME; water extract, WE)을 첨가하여 50°C에서 72시간 산화시킨 후 과산화물가를 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. 대두, 증자대두, 청국장, 된장의

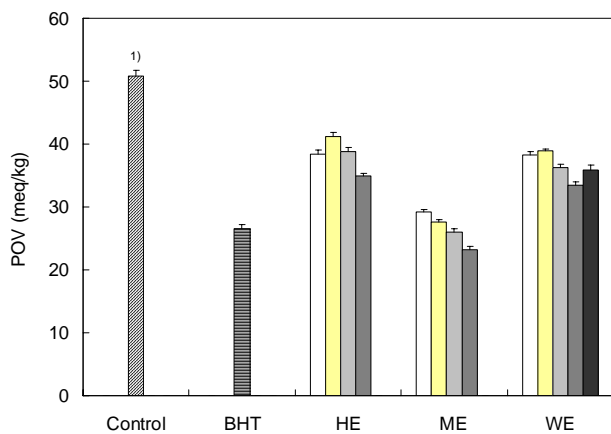


Fig. 3. Peroxide values of extracts (200 ppm; 0.2 mg/mL) by various solvents of soybean, steamed soybean, Chungkukjang and Doenjang in linoleic acid system at 50°C.

Legend: Control, BHT, soybean, steamed soybean, Chungkookjang, Doenjang, green tea. Abbreviations: HE = hexane extract, ME = methanol extract, WE = water extract, BHT = butylated hydroxytoluene.

¹⁾Error bars indicate the standard error of each mean value ($n = 5$).

HE, ME, WE는 무첨가구(control)에 비해 과산화물가가 크게 낮았으며 항산화 활성에 미치는 특이성분들은 각 추출물에 고루 분포되어 있는 것으로 보인다. 용매별 추출물의 과산화물가는 HE>WE>ME 순으로 낮아 ME에서 가장 높은 항산화성을 보였으며 ME의 과산화물가는 대두>증자대두>청국장>된장 순으로 낮았다. 모든 시료 중 된장ME의 과산화물가가 23.3±0.78 meq/kg으로 유의적으로 가장 낮게 나타났으며 이 값은 BHT(butylated hydroxytoluene) 26.5±0.68 meq/kg과 차이가 적으며 녹차WE 35.9±0.78 meq/kg 보다는 훨씬 낮아 지질산화에 대해 강력한 항산화 효과가 있음을 알 수 있다. Esaki 등(32)의 연구에서 용매 종류에 상관없이 증자 대두보다 미소, 낫토, 템페 등 대두발효식품이 지방산화에 더 안정적이었으며 핵산<클로로포름>에틸 아세테이트<메탄올> 순으로 유도기간이 길었다(10). 특히 메탄올 추출물에서 템페가 증자 대두와 BHT보다 더 높은 항산화력을 나타내어 발효에 의한 항산화력 증진 효과가 있음이 보고되었는데 이는 본 실험의 결과를 뒷받침해주고 있다. Linoleic acid 상에서의 녹차WE가 BHT나 ME 4종과 된장 WE보다 항산화효과가 낮게 나타난 것은 녹차의 지질에 대한 용해성 부족(33)과 50°C, 72시간의 저장조건으로 인하여 열에 약한 녹차에 함유되어 있는 폴리페놀성분의 손실에 기인하는 것(29,34)으로 여겨진다. Linoleic acid 상에서 된장의 강한 항산화효과는 발효숙성과정 중에 많은 저분자 MRPs(4,31)와 대두의 이소플라본 배당체의 aglycone 형태로의 전환이 많아지기 때문(17,35,36)으로 판단된다. 또한 발효과정 중에 삶은 대두에 존재하지 않았던 caffeic acid와 ferulic acid 등의 유리 phenolic acid 함량이 증가하였다는 Lee 등(17)의 보고도 본 실험의 결과를 뒷받침해주고 있다. 또한 MRPs는 reductone 구조에 의한 환원작용과 금속 킬레이트 작용 등으로 BHT, BHA(butylated hadroxyanisole) 등의 기존 합성 항산화제보다 우수한 항산화능을 보이며 폐놀물질과 같이 존재할 경우 상승효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(37,38).

전자공여능

용매별 추출물 중 HE는 linoleic acid 상에서 가장 낮은 항산화효과를 보였을 뿐만 아니라 예비 실험에서 다른 연구 결과들(11,35)과 같이 전자공여능이 매우 낮게 나타났으므로(data not shown) HE를 제외한 ME와 WE의 전자공여능에 대한 결과만을 Table 3에 나타내었다. ME시료군의 두 농도 200 ppm과 1000 ppm에서의 전자공여능은 각각 7.9~10.3%, 11.2~16.2% 범위이고 WE시료군의 동일 농도 수준에서의 각각의 전자공여능 범위는 2.0~6.2%, 6.7~12.8%로 ME시료군 모두 WE시료군보다 높은 전자공여능을 보였다. 이는 Choe 등(11)의 된장과 Cui 등(39)의 청국장의 WE가 ME보다 낮은 전자공여능을 보인 결과와 일치하였다. ME시료군 중에서 된장의 전자공여능은 200 ppm과 1000 ppm에서

Table 3. Electron donating ability of different solvent extracts from soybean, steamed soybean, *Chungkukjang* and *Doenjang* (%)

Extraction fraction	Sample	200 ppm	1000 ppm
ME	Soybean	7.9±0.37 ^{c1)}	11.2±0.71 ^b
	Steamed soybean	7.3±0.35 ^c	9.1±0.55 ^c
	<i>Chungkukjang</i>	8.5±0.32 ^b	9.6±0.40 ^c
	<i>Doenjang</i>	10.3±0.15 ^a	16.2±0.62 ^a
WE	Soybean	2.0±0.35 ^d	6.7±0.08 ^d
	Steamed soybean	2.3±0.28 ^d	3.7±0.27 ^e
	<i>Chungkukjang</i>	4.7±0.35 ^c	7.0±0.08 ^c
	<i>Doenjang</i>	6.2±0.19 ^b	12.8±0.38 ^b
	Green tea	34.8±1.46 ^a	66.7±0.95 ^a
BHT	24.3±0.46	59.9±0.60	

Abbreviations: See the footnotes of Fig. 3.

¹⁾Means with the different superscripts in the column are significantly different ($p < 0.05$, $n = 5$).

각각 10.3%, 16.2%로 가장 높았다. WE의 경우도 원료대두, 증자대두, 청국장 등의 전자공여능은 각각 200 ppm에서 2.0, 2.3, 4.7%를, 1000 ppm에서 6.7, 3.7, 7.0%를 나타낸 반면에 된장은 200 ppm과 1000 ppm에서 각각 6.2%, 12.8%로 높은 전자공여능을 나타내었다. 타이완 연구팀 Yang 등(40)은 비발효 대두음료보다 21일 발효 대두음료에서 전자공여능이 더 높았다고 보고하였다. MRPs의 전자공여능에 의한 환원력은 반응온도와 시간의 경과에 따라 증가되며 갈색도가 높을수록 환원력이 크게 증가된다고 한다(41). 녹차WE와 BHT의 경우 200 ppm과 1000 ppm에서의 전자공여능은 각각 34.8%, 24.3%와 66.7%, 59.9%로 된장의 전자공여능보다 현저히 높으며 녹차WE의 전자공여능이 BHT보다 우수함을 알 수 있었는데 이는 Rhi와 Shin(42)의 결과와도 일치하였다. 녹차WE의 총 폴리페놀함량이 대두 및 대두발효식품에 비해 현저히 높아 DPPH 라디칼 소거능에 크게 영향을 미친 것으로 판단된다.

SOD 유사활성

시료의 용매별 추출물(ME, WE) 200 ppm과 1000 ppm 농도에서 측정된 SOD 유사활성 결과는 Table 4와 같다. SOD 유사활성은 동일농도에서 전체적으로 ME보다 WE가 더 높았다. 이러한 결과는 WE시료군에 비해 ME시료군에서 더 높은 항산화 활성을 보였던 linoleic acid 상에서의 항산화력이나 전자공여능과는 상반되며 Kim 등(43)의 연구에서 식물체추출물(팽이버섯, 마늘, 녹차, 솔잎)의 항산화 효과 비교시 전자공여능은 메탄올추출물이 물추출물보다 높았으나 SOD 유사활성은 반대로 물추출물이 더 높은 활성을 나타내었다는 결과와 일치하였다. ME나 WE의 증자대두의 SOD 유사활성은 원료 대두보다 낮은 값을 나타내었다. 한편 짧은 발효과정을 거친 청국장의 SOD 유사활성은 적게 증가하였으나 이보다 발효, 숙성과정이 길었던 된장ME는 크게 증가하였으며, 특히 WE 200 ppm과 1000 ppm에서는 각각 16.7±0.33%와 18.7±0.20%로 원료대두의 15.2±0.33%와

Table 4. Superoxide dismutase (SOD)-like activity of different solvent extracts from soybean, steamed soybean, *Chungkukjang* and *Doenjang* (%)

Extraction fraction	Sample	200 ppm	1000 ppm
ME	Soybean	8.2±0.31 ^{b1)}	14.2±0.66 ^b
	Steamed soybean	2.0±0.15 ^d	5.2±0.23 ^d
	<i>Chungkukjang</i>	3.1±0.13 ^c	10.0±0.24 ^c
	<i>Doenjang</i>	12.5±0.26 ^a	18.5±0.21 ^a
WE	Soybean	15.2±0.33 ^b	16.8±0.46 ^c
	Steamed soybean	10.8±0.57 ^d	15.3±0.35 ^d
	<i>Chungkukjang</i>	13.3±0.27 ^c	17.5±0.51 ^{bc}
	<i>Doenjang</i>	16.7±0.33 ^a	18.7±0.20 ^a
	Green tea	15.7±0.31 ^b	17.7±0.40 ^b
BHT	24.9±1.10	36.4±0.15	

Abbreviations: See the footnotes of Fig. 3.

¹⁾Means with the different superscripts in the column are significantly different ($p < 0.05$, $n = 5$).

16.8±0.46%보다 유의적으로 높은 SOD 유사활성을 보였다. 본 실험에서 비교군으로 사용된 녹차WE의 경우 된장WE보다 유의적으로 낮은 SOD 유사활성을 나타내었다. Shon 등(44)의 연구에서도 녹차물추출물 200 ppm에서 10% 이하의 낮은 유사활성을 보였다. 한편 BHT의 경우 200 ppm과 1000 ppm에서 SOD 유사활성이 된장WE보다 각각 8.2%와 17.7% 더 높게 나타났다. SOD 유사활성을 가진 물질은 효소는 아니지만 주로 phytochemical에 속하는 저분자 물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제하여 생체를 보호한다고 알려져 있다(25). 따라서 SOD 유사활성을 갖는 된장 섭취는 노화억제와 더불어 산화적 장해를 방어할 수 있는 하나의 방법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

아질산염소거능

용매별 추출물(ME, WE)의 200 ppm과 1000 ppm 농도에서의 아질산염소거능 결과는 Table 5와 같다. 동일농도에서 WE에 비해 ME의 아질산염소거능이 높았으며 200 ppm에서 1000 ppm의 농도 증가로 니트로사민 생성이 더욱 억제되는 것으로 나타났다. ME와 WE 모두 원료대두에 비해 증자대두와 청국장이 낮은 소거능을 보였고 반면에 된장은 대두, 증자대두, 청국장보다 약 2배정도의 높은 아질산염소거능을 보여 저하되었던 아질산염소거능이 숙성과정 중에 다시 증가되었음을 알 수 있었다. Choe 등(11)과 Yoon 등(45)은 숙성과정 중에 생성된 펩타이드와 MRPs에 기인되며, Cooney 등(46)은 페놀성 물질 또한 니트로화 반응을 강력하게 억제한다고 하였는데 본 실험에서도 총 폴리페놀 함량과 수용성, 지용성 갈색물질 함량이 가장 높았던 된장의 아질산염소거능이 가장 우수하였다. 그러나 녹차물추출물이나 BHT의 아질산염소거능에는 훨씬 못 미치는 낮은 효능을 보였다. 녹차물추출물 1000 ppm에서 95.7%의 아질산염소거능을 보인 본 실험결과는 동일한 조건에서 녹차물추출물이 100%의 아질산염소거능을 나타내었다는 Kim 등(43)의 결과와 유사한 범위였다. 된장은 대두, 증자대두, 청국장보다는 아질산염소

Table 5. Nitrite scavenging ability of solvent extracts from soybean, steamed soybean, Chungkukjang and Doenjang in pH 1.2 reaction system (%)

Extraction fraction	Sample	200 ppm	1000 ppm
ME	Soybean	10.1±0.15 ^{b1)}	12.4±0.24 ^b
	Steamed soybean	9.7±0.15 ^c	10.7±0.72 ^c
	Chungkukjang	9.6±0.14 ^c	10.8±0.33 ^c
	Doenjang	18.3±0.10 ^a	21.9±0.08 ^a
WE	Soybean	7.5±0.52 ^c	8.3±0.24 ^c
	Steamed soybean	4.2±0.27 ^e	6.7±0.35 ^d
	Chungkukjang	6.0±0.30 ^d	8.9±0.38 ^c
	Doenjang	11.5±0.19 ^b	14.5±0.17 ^b
	Green tea	48.7±0.72 ^a	95.7±0.41 ^a
	BHT	72.9±0.24	81.1±0.22

Abbreviations: See the footnotes of Fig. 3.

¹⁾Means with the different superscripts in the column are significantly different (p<0.05, n=5).

거능이 상대적으로 높아 니트로사민 생성에 의한 암 발생 예방에 더 도움이 되리라 판단된다(26).

요 약

동일 품종의 국산 원료 대두로부터 제조된 증자대두, 청국장과 된장을 동결건조한 후 항산화관련 물질을 측정하고 용매 추출물의 항산화력 및 아질산염소거능을 조사하였다. 페놀화합물 함량과 총 갈색도는 대두의 발효과정 중에 증가하였으며 청국장보다 된장에서 크게 증가하여 두 시료 간에 큰 차이를 보였다. 모든 처리구에서 수용성추출물의 갈색도가 지용성추출물보다 높게 나타났다. 추출물의 linoleic acid 상에서의 과산화물가와 전자공여능 측정에 의한 항산화력과 아질산염소거능은 ME시료군이 WE시료군보다 높았으며, ME시료군 중에서 청국장보다 된장추출물이 높게 나타났다. 반면에 SOD 유사활성은 동일농도에서 WE가 ME보다 더 높았으며, 청국장WE보다 된장WE가 높은 항산화능을 나타내어 항산화능 측정시간의 다소 상이한 경향을 보였다. 된장이 동일 원료를 사용한 대두, 증자대두, 청국장보다 훨씬 높은 항산화력을 나타낸 것은 된장의 오랜 발효숙성과정 중에 생성된 페놀화합물과 갈변물질의 증가가 일부 영향을 미친 것으로 보인다.

문 헌

- Lee JH, Min DB. 2006. Nutraceuticals, aging, and food oxidation. *Handbook of Functional Lipids*. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, USA. p 325-350.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutr* 18: 872-879.
- Enrique Cadenas MD, Lester P. 2002. *Handbook of antioxidants*. Marcel Dekker, New York. p 317-318.
- Park KY, Jung KO. 2005. Fermented soybean products as functional foods: functional properties of *Doenjang*

- (fermented soybean paste). In *Asian Functional Foods*. Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, USA. p 555-596.
- Park GS. 2004. Cookwise approach of slow food: focused on traditional fermented sauces. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 20: 317-334.
- Kim SH. 1998. New trends of studying on potential activities of *Doenjang*, fibrinolytic activity. *Korea Soybean Digest* 15: 8-15.
- Kwon SH, Shon MY. 2004. Antioxidant and anti-carcinogenic effects of traditional *doenjang* during maturation periods. *Korean J Food Preserv* 11: 461-467.
- Suh HJ, Suh DB, Chung SH, Whang JH, Sung HJ, Yang HC. 1994. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. *J Korean Agric Chem Soc* 37: 441-446.
- Lee BK, Jang YS, Yi SY, Chung KS, Choi SY. 1997. Immunomodulators extracted from Korean-style fermented soybean paste and their function: 1. Isolation of B cell mitogen from Korean-style fermented soybean paste. *Korean J Immunol* 19: 559-569.
- Esaki H, Onozaki H, Kawakishi S, Osawa T. 1997. Antioxidant activity and isolation from soybeans fermented with *Aspergillus* spp. *J Agric Food Chem* 45: 2020-2024.
- Choe GS, Lim SY, Choi JS. 1998. Antioxidant and nitrite scavenging effect of soybean, *Meju* and *Doenjang*. *Korean J Life Sci* 8: 473-478.
- Kim HJ, Sohn KH, Chae SH, Kwak TK, Yim SK. 2002. Brown color characteristics and antioxidizing activity of *Doenjang* extracts. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 644-654.
- Lee JH, Kim MH, Im SS, Kim SH, Kim GE. 1994. Antioxidative materials in domestic *Meju* and *Doenjang*: 3. Separation of hydrophilic brown pigment and their antioxidant activity. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 604-613.
- Lee JH, Kim MH, Im SS. 1991. Antioxidative materials in domestic *Meju* and *Doenjang*: 1. Lipid oxidation and browning during fermentation of *Meju* and *Doenjang*. *J Korean Soc Food Nutr* 20: 148-155.
- Lee JS, Cheigh HS. 1997. Antioxidative characteristics of isolated crude phenolics from soybean fermented foods (*Doenjang*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 376-382.
- Kim MH, Im SS, Yoo YB, Kim GE, Lee JH. 1994. Antioxidative materials in domestic *Meju* and *Doenjang*: 4. separation of phenolic compounds and their antioxidative activity. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 792-798.
- Lee KH, Ryul SH, Lee YS, Kim YM, Moon GS. 2005. Changes of antioxidative activity and related compounds on the *Chungkukjang* preparation by adding drained boiling water. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 163-170.
- Yang JL. 2000. Antiatherogenic effect of *Chungkukjang*. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan. p 1-152.
- Lee CH, Moon SY, Lee JC, Lee JY. 2004. Study on the antioxidant activity of soybean products extracts for application of animal products. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 405-410.
- Chang SM, Nam SH, Kang MY. 2002. Screening of the antioxidant activity, antimutagenicity and mutagenicity of the ethanolic extracts from legumes. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1115-1122.
- Benvenuti S, Pellati F, Melegari M, Bertelli D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes, and aronia. *J Food Sci* 69: FCT164-169.
- Chung CY, Toyomizu M. 1968. Studies on discoloration of fish products: V. Mechanism of rusting in amino acid reducing sugar-lipid system. *Bull Japan Soc Fish* 34: 857-

- 861.
23. Hayase F, Kato H. 1984. Antioxidative components of sweet potatoes. *J Nutr Sci Vitamin* 30: 37-42.
 24. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
 25. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
 26. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 27. Kim SS, Kim SK, Ryu MK, Cheigh HS. 1983. Studies on the color improvement of *Doenjang* (fermented soybean paste) using various *Aspergillus oryzae* strains. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 11: 67-74.
 28. Kim SH, Yang JL, Song YS. 1999. Physiological functions of *Chungkukjang*. *Food Ind Nutr* 4: 40-46.
 29. Gramza A, Khokhar S, Yoko S, Swiglo AG, Hes M, Korczak J. 2006. Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *Eur J Lipid Sci Technol* 108: 351-362.
 30. Ryu BM, Sugiyama K, Kim JS, Park MH, Moon GS. 2007. Studies on physiological and functional properties of *Susijang*, fermented soybean paste. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 137-142.
 31. Jing H, Kitts DD. 2000. Comparison of the antioxidative and cytotoxic properties of glucose-lysine and fructose-lysine Maillard reaction products. *Food Res Int* 33: 509-516.
 32. Esaki H, Onozaki H, Kawakishi S, Osawa T. 1996. New antioxidant isolated from tempeh. *J Agric Food Chem* 44: 696-700.
 33. Gramza A, Korczak J. 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends Food Sci Technol* 16: 351-358.
 34. Huang SW, Frankel EN. 1997. Antioxidant activity of tea catechins in different lipid systems. *J Agric Food Chem* 45: 3033-3038.
 35. Choi YB, Sohn HS. 1998. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. *Korean J Food Sci Technol* 30: 745-750.
 36. Kim JS, Yoon S. 1999. Isoflavone content and β -glucosidase activity of the soybeans, *meju*, and *doenjang*. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1405-1409.
 37. Hahm TS, King DL, Min DB. 1993. Food antioxidants. *Foods Biotechnol* 2: 1-18.
 38. Pokorny J. 1991. Natural antioxidants for food use. *Trends Food Sci Technol* 9: 223-240.
 39. Cui CB, Oh HS, Park JC, Nam KB, Lee DS, Ham SS. 2004. Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of functional food manufactured from fermented soybean extract. *Korean J Food Preserv* 11: 3214-3220.
 40. Yang JH, Mau JL, Ko PT, Huang LC. 2000. Antioxidant properties of fermented soybean broth. *Food Chem* 71: 249-254.
 41. Xu J, Chen S, Hu Q. 2005. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.). *Food Chem* 91: 79-83.
 42. Rhi JW, Shin HS. 1993. Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. *Korean J Food Sci Technol* 25: 759-763.
 43. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
 44. Shon MY, Kim SH, Nam SH, Park SK, Sung NJ. 2004. Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. *J Life Sci* 14: 920-924.
 45. Yoon SR, Lee MH, Kim HK, Lee GD. 2006. Change in functional properties by extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 262-270.
 46. Cooney RV, Ross PD, Bartolini GL. 1986. N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide: Inhibition by ascorbate, glutathione and α -tocopherol. *J Agric Food Chem* 35: 83-90.

(2007년 9월 21일 접수; 2007년 11월 5일 채택)