

발효 대두 식품의 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 다양한 측정 방법에 따른 항산화 활성 비교*

박정우 · 이영진 · 윤선*
연세대학교 식품영양학과

Total flavonoids and phenolics in fermented soy products and their effects on antioxidant activities determined by different assays.

Jeong-Woo Park, Young-Jin Lee, Sun Yoon*

Dept. of Food and Nutrition, Brain Korea 21 Project, Yonsei University College of Human Ecology, Yonsei University

Abstract

This study was conducted to compare the antioxidant activities of fermented soy products such as chungkukjang, meju and doenjang with soybeans. Total phenolic, flavonoids contents and antioxidative activities of the methanol extract of soy and fermented products were compared with specific reference to alpha-diphenyl-2-picryl-hydrozyl (DPPH) radicals scavenging effects, ferric /reducing power (FRAP), inhibition of conjugated diene formation and tyrosinase activities. Total phenolic and flavonoids contents increased in soybeans after fermentation. Fermented soy products also displayed enhanced antioxidative activities in comparison with the non-fermented soybeans. There were linear relationships between total phenolic and flavonoids contents and ferric reducing/antioxidant power of the samples. Overall, the fermented soy products showed a better antioxidant activity than soybeans. Among the 3 kinds of fermented soy products, chungkukjang, meju and doenjang, doenjang exhibited the highest levels of DPPH-free radicals scavenging activity, ferric /reducing power, inhibition of conjugated diene formation and tyrosinase activities. The fermented soy products with longer fermentation time demonstrated the higher antioxidant activities as well as higher total phenols and flavonoids in the order of doenjang > meju > chungkukjang > soybeans.

Key Words : fermented soy products, antioxidant activities, total flavonoids, total phenolic compounds

1. 서 론

대두는 높은 단백질과 지방 함량으로 예로부터 밭에서 나는 고기로 불리웠다. 특히 전통적으로 채식 위주의 식생활을 영위해 온 우리 민족에게는 중요한 단백질과 필수 지방산의 급원 식품으로써 건강에 기여한 바가 지대하다. 대두는 영양소뿐 아니라, 많은 생리 활성 물질을 함유하고 있어서, 만성 질환을 예방하고 관리하는데 가장 적절한 식품 소재로 주목 받고 있다. 그러나 대두는 특유의 비린 맛과 가스 발생 인자인 올리고당이 함유되어 있어서, 식품으로 사용할 경우 이들 성분을 제거하기 위한 가공과정을 거쳐야 한다. 대두의 가공품은 크게 두부, 두유, 콩나물과 같은 비 발효 식품과 간장, 청국장, 된장 등과 같은 발효 식품으로 대별할 수 있다. 특히 대두 발효 식품은 발효 과정을 거치면서 펩타이드, 이노시톨, 페놀 화합물, 이소플라본 비배당체와 같은 다양한 생리 활성 물질이 생성됨으로써, 비 발효 식품에 비하여 건강 기능성이 증진될 것으로 추정되고

있다. 대두의 건강 기능성 중 항산화 활성은 다양한 만성질환을 적절히 관리해 줄 수 있는 중요한 생리 활성이다. 이에 대두에 함유된 항산화 물질에 대한 많은 연구가 보고 되었다. 대두에 함유된 대표적인 항산화 물질은 폴리페놀 화합물과 플라보노이드이다. chlorogenic acid, isochlorogenic acid와 caffeic acid는 항산화 활성을 나타내는 대표적인 페놀 화합물이며, 대두 이소플라본 또한 강한 항산화 활성을 가진 플라보노이드이다(Pratt & Birac 1979). 이러한 물질들은 대두를 발효시키는 과정에서 미생물에 의해 여러가지 대사물로 변화할 것으로 추정된다. 한 예로 대두 이소플라본은 대두 자체에는 배당체 형태인 제니스틴, 다이드진으로 존재하나, 발효 과정 중 당이 분리된 비배당체로 가수분해 됨이 보고 되었다(Kim & Yoon 1999). 또한 발효 과정 중 대두 단백질이 가수분해되어 생성되는 펩타이드와 유리 아미노산도 항산화 활성을 나타냄이 보고 되었다. Lee 등(2001) 콩을 청국장으로 발효시켰을 때, 항산화 활성이 증가함을 보고 하였으며, 이는 발효과정 중 미생물에 의해

*This research was supported by Yonsei University research fund & Brain Korea 21 project, Yonsei University College of Human Ecology.

*Corresponding author : Sun Yoon, Department of food and nutrition, Yonsei University, 134 Shinchon-dong, Seodaemunku, Seoul, Korea
Tel : 82-2-2123-3119 Fax : 82-2-365-3118 E-mail : snkim@yonsei.ac.kr

생성된 생리 활성 물질 때문이라고 추정하였다. 식품 성분의 항산화 활성을 탐색하기 위해 많은 측정 방법이 개발되었다. 식품에서 항산화 활성을 평가하는 방법은 대부분 in vitro 방법이다. Kao와 Chen(2006)은 대두에 있는 이소플라본 분획의 활성을 DPPH, TEAC reducing power, metal ion chelating, conjugated diene, and TBARS assays 등과 같은 다양한 방법을 사용하여 측정하였다. 그 결과 대두에서 추출한 이소플라본 분획이 동량의 이소플라본 표준품보다 항산화 활성이 높았다고 보고하였다. 이는 대두 이소플라본 추출물에는 이소플라본 이외에도 항산화 활성을 가지는 사포닌, 플라보노이드, 페놀 화합물이 함유되어 있기 때문으로 추정하였다(Kao & Chen 2006). 대두의 발효 방법과 기간을 달리한 대두 발효식품에는 대두에 비해 다양한 항산화 물질이 존재할 것으로 추정된다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 항산화 활성을 측정하는 방법을 이용하여, 발효 방법과 발효 기간이 다른 대두 발효식품인 청국장, 메주, 된장의 항산화 활성과 총 페놀, 플라보노이드 함량을 측정하고 대두와 비교 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시 료

한국산 대두(백태)와 이를 이용하여 재래식으로 제조한 메주를 경기도 여주에서 구입하였다. 동일한 대두를 사용하여 가정용 청국장 제조기(NY-4070)를 사용하여 청국장을 제조하였다. 여주에서 구입한 메주를 18%의 소금물에 2개월간 침지시킨 후 간장을 걸러내고 된장을 제조하였다. 숙성 3개월이 된 된장을 본 실험에 사용하였다. 모든 시료는 구입 후 또는 제조 후 동결 건조하여, 진공 상태로 -20℃에서 보관하였다. 동결 건조한 시료에 70% methanol을 첨가하여 60℃에서 1시간 동안 교반 한 후, 3000 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 상층액을 분리한 후, No. 1 Whatman paper를 사용하여 particle를 제거하고 syringe filter(pore 0.2)를 사용하여 particle를 제거하였다.

2. 총 페놀 함량 측정

각 시료 추출물의 총 페놀 함량을 측정하기 위해 Folin-danis 방법(Qing Zhang 등 2006)을 이용하였다. 시료 용액(20 μ l)를 증류수로 60배 희석하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagent(100 μ l)을 첨가하여 잘 섞은 후, 5분간 상온에서 반응시켰다. 혼합한 용액을 20% Na_2CO_3 (300 μ l)를 넣어 다시 혼합한 다음 증류수로 총 혼합액을 2 ml로 조정하였다. 이 혼합 용액을 23℃에서 2시간 동안 방치시킨 후, 760 nm에서 흡광도를 측정하고, gallic acid를 이용한 표준 곡선에 따른 검량선을 작성하여 총 페놀함량을 계산하였다.

3. 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Jia 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. 각 시료 0.5 ml를 sodium nitrite solution 75 μ l과 혼합하여 5분간 반응시키고 aluminum chloride solution 150 μ l를 첨가하여 다시 5분간 반응시킨 후 1M NaOH 0.5 ml와 섞어 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 total flavonoid 함량은 catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

4. In vitro 항산화 효능 검색

1) 전자공여능 측정(DPPH)

시료를 에탄올에 녹이고 DPPH를 가하여 혼합, 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 대조구와 비교하였다. DPPH 라디칼 소거능으로 측정된 전자공여능은 아래식에 따라 산출하였다(Szabol 등 2007).

$$\text{전자공여능(\%)} = \frac{\text{대조구흡광도} - \text{시료구흡광도}}{\text{대조구흡광도}} \times 100$$

2) FRAP(The Ferric Reducing Ability of Plasma) assay

FRAP 분석은 Benzie 등(1996)의 방법을 응용하였다. 적당한 비율로 희석된 시료와 표준 용액 300 μ l를 96well plate에 넣은 후 270 μ l의 FRAP reagents(10 mM TPTZ in 40 mM HCL, 20 mM FeCl_3)를 가하여 37℃에서 15분간 방치한 후 Spectrophotometer를 사용하여 550 nm에서 측정하여 시료의 항산화능을 측정하였다.

3) 공액 이중결합(Conjugated Diene) Assay

Conjugated Diene Assay는 Romero 등(Romero 등 2004)의 방법을 사용하였다. 리놀레산을 동량의 Tween 20와 잘 섞은 후, 0.2M phosphate-buffered saline(pH 6.6)를 첨가하여 에멀션 용액을 만들었다. 2ml의 리놀레산 에멀션 용액에 0.5 ml의 시료와 증류수를 각각 첨가한 후 교반하였다. 각 용액을 37℃의 water bath에서 15시간 방치한 후 바로 냉각하였다. 0시간과 15시간 후에 각각 0.1 ml의 시료를 채취하여 3 ml의 80% methanol과 섞은 후 자외선 분광 광도계를 사용하여 234 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 234 nm에서의 낮은 흡광도가 리놀레산의 산화를 억제하는 항산화 활성을 나타내므로, 아래와 같은 식에 의해 시료의 항산화 물질이 불포화 지방산의 산패(공액 이중결합 생성)를 억제하는 정도를 측정하였다.

억제 활성(%) =

$$1 - \frac{15\text{시간 후 시료구흡광도} - 0\text{시간시료구흡광도}}{15\text{시간후대조구의흡광도} - 0\text{시간대조구의흡광도}} \times 100$$

4) Tyrosinase 활성 억제능

Tyrosinase 저해활성 측정은 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 catechol(10 mM)을 녹인 기질액 2.5 ml에 시료용액 0.2 ml를 첨가한 후 mushroom 0.2 ml tyrosinase(110 units/ml)를 첨가하여 10초 간격으로 60초까지 1분간 420 nm에서 Tyrosinase 활성을 구하였다. Tyrosinase 활성 억제능은 아래식을 이용하여 산출하였다(Chen YC 등 2005).

$$\text{억제능(\%)} = 1 - \frac{\text{시료구의흡광도}}{\text{대조구의흡광도}} \times 100$$

III. 실험 결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량 측정

식물성 식품 속에 함유되어 있는 많은 생리활성 물질 중 페놀은 가장 많이 함유되어 있으며, 또한 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다.

콩, 청국장, 메주, 된장 시료의 총 페놀 함량을 gallic acid equivalent로 환산하여 <Table 1>에 나타내었다. 된장의 총 폴리페놀 함량은 4.17±0.11 mM gallic acid equivalent로 가장 높게 나타났고 메주(2.310±0.09 mM gallic acid equivalent), 청국장(1.785±0.07 mM gallic acid equivalent), 콩(0.585±0.03 mM gallic acid equivalent) 순으로 나타났다.

<Table 1> Total contents of polyphenols

sample	Gallic acid equivalent(mM)/mg
soybean	0.585 ± 0.03 ^c
chungkukjang	1.785 ± 0.07 ^b
meju	2.310 ± 0.09 ^b
doenjang	4.17 ± 0.11 ^a

All values are mean±SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different(p<0.05).

Takahashi(Takahashi 등 2005) 등은 검은콩이 노란콩보다 LDL 산화 억제 능력이 좋은 것은 검은콩에 함유된 폴리페놀 함량이 노란콩보다 많기 때문으로 추정하였다. 또한 콩 시료를 beta-glucosidase로 가수분해 하였을때 LDL 산화 억제 능력이 증가한 것으로 미루어 보아, 대두 발효 식품이 활성 산소로 인한 만성 질환을 예방하는 좋은 식품이라고 평가하였다. 김 등(1994)은 재래식 방법으로 제조한 메주와 된장의 메타놀 추출물에서 칼럼 크로마토그래피를 이용하여 페놀 화합물 분획을 분리하였다. 그 결과 페놀 화합물로는 vanillic acid, chlorogenic acid, syringic acid, p-coumalic acid, ferulic acid 및 caffeic acid 등이 함유되어 있었다.

2. 총 플라보노이드 함량 측정

플라보노이드는 식물에 의해 합성된 polyphenol의 가장 큰 부류이다. 플라보노이드는 화학적 구조 차이에 의해 6개의 주요 하위 그룹으로 나누어진다. 각각의 하위 그룹 들인 플라바놀(flavanols), 플라바논(flavanones), 플라본(flavones), 이소플라본(isoflavones), 플라보놀(flavonols), 안토시아니딘(anthocyanidins)은 분포, 생리활성에 차이가 있다. 시험관 실험에서 플라보노이드는 효과적인 유리기(freeradical)의 포착제(scavenger)로서 항산화 효과를 가진다(Gary 2003).

각 시료 추출물의 총 플라보노이드 함량을 catechin equivalents로 환산한 결과는 <Table 2>와 같다. 콩, 청국장, 메주, 된장 시료에서의 catechin을 기준으로 한 총 플라보노이드 함량을 비교하면 된장의 총 플라보노이드 함량은 10.68±0.459 mg/g으로 가장 높게 나타났고, 메주(6.14±0.353 mg/g), 청국장(4.58±0.275 mg/g), 콩(1.56±0.117 mg/g)의 순으로 나타났다.

<Table 2> Total contents of flavonoids

sample	Total Flavonoid (mg/g)
soybean	1.56 ± 0.117 ^c
chungkukjang	4.58 ± 0.275 ^b
meju	6.14 ± 0.353 ^b
doenjang	10.68 ± 0.459 ^a

All values are mean±SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different(p<0.05).

당배당체(glycoside)는 하나 이상의 당과 결합되어 있는 플라보노이드의 형태이며, 당과 결합하지 않은 플라보노이드는 비배당체(aglycone)라고 한다. 식물 내 플라보노이드는 대부분 당류와 결합한 배당체(glycoside)로 존재하며, 당류는 아글라이콘의 다양한 위치에 결합한다. 플라보노이드의 일종인 이소플라본은 콩과 콩 가공식품에 주로 함유되어 있다. 대두 내 이소플라본은 당배당체의 형태로 존재하며, 발효 과정이나 소화과정에서 가수분해 되어 비배당체 형태가 된다. 윤과 김의 연구에 의하면 대두 이소플라본은 발효 과정을 거치면서 비배당체 형태로 변하며, 그 정도는 발효 기간이 길어질수록 비배당체가 많이 생성된다고 보고하였다(Kim & Yoon 1999). 메주와 된장의 메타놀 추출물에서 분리한 이소플라본 분획을 분석한 결과 메주의 발효 초기에 배당체 형태가 급격히 감소하고, 비배당체의 함량이 증가하였으나, 항산화 활성에는 차이가 없는 것으로 보고하였다(김 등 1994).

3. FRAP 법에 의한 항산화 효과

FRAP 방법은 비교적 최근에 Benzie와 Strain에 의해 개발되어진 총항산화능을 측정하는 방법으로 낮은 pH에서

환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe³⁺-TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine(Fe²⁺-TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안되어진 방법이다. Benzie와 Strain은 FRAP법이 재현성이 높고, in vivo에서 혈장에 함유되어 있는 항산화제들의 농도에 직선적으로 비례하여 FRAP값이 증가하므로 혈장의 총항산화능을 직접적으로 측정할 수 있다고 보고하였다(Benzie & Strain 1996).

FRAP법을 이용하여 시료들의 항산화활성을 측정한 결과를 <Table 3>에 나타내었다. Trolox equivalent 값으로 나타내었을 때 가장 효과가 높은 것은 된장(523.14 ± 17.64 μM) > 메주(256.75 ± 10.34 μM) > 청국장(204.36 ± 10.82 μM) > 콩(182.42 ± 9.42 μM)의 순으로 나타났다.

<Table 3> TEAC values of FRAP assay

sample(0.1g/ml)	Trolox equivalent(μM)
soybean	182.42 ± 9.42 ^c
chungkukjang	204.36 ± 10.82 ^{bc}
meju	256.75 ± 10.34 ^b
doenjang	523.14 ± 17.64 ^a

All values are mean ± SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different(p<0.05).

4. 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 FRAP값 간의 상관관계

일반적으로 FRAP값은 항산화 물질들의 농도에 비례하여 증가하므로 시료의 항산화 물질의 함량과 높은 상관관계를 가진다(Benzie & Strain 1996). 본 실험에서 FRAP 방법을 이용하여 측정된 항산화 측정치와 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량과의 상관관계는 <Table 4>와 같다. 폴리페놀 함량과 FRAP 값은 0.971, 플라보노이드 함량과 FRAP 값은 0.939의 높은 양의 상관관계를 나타내었다. 대두 및 가공품에는 각종 페놀 화합물과 플라보노이드의 일종인 이소플라본이 많이 함유되어 있으며, 이러한 물질들이 Ferric 환원력을 나타내는 항산화 활성을 나타낸다고 추정된다.

<Table 4> Pearson Correlation coefficients(r)

	Polyphenol	Flavonoid	Frap
Polyphenol	1	0.978***	0.971***
Flavonoid	0.978***	1	0.939***
Frap	0.971***	0.939***	1

*** Significant at p<0.001.

5. 전자공여능

식품 유래 물질의 항산화 기전 중 가장 일반적이고 대부분의 항산화물질이 속한 분야는 수소공여 기전이다. 수소

공여 항산화물질의 특징은 hydroxyl기를 하나 이상 함유하고 있는 환구조(ring)와 메틸기나 비극성 탄화수소 사슬 구조와 같은 비극성기를 가지고 있는 것이다. 식품에 함유되어 있는 폴리페놀계 물질이 이와 같은 분자 구조적 특징을 가지고 있는 대표적인 항산화 물질이다. 수소공여성을 측정하는 대표적인 방법은 DPPH법을 들 수 있다. DPPH는 자유라디칼(free radical)로 특유의 색을 나타내지만, 전자나 수소원자에 의해 전자가 쌍이 되어 비라디칼이 되면 특유의 색이 사라지게 된다. 이 원리를 이용하여 수소공여를 하는 물질의 수소 혹은 전자공여능을 측정하여 항산화능을 측정하는 방법이다(Szabol 등 2007).

DPPH법에 의한 시료들의 라디칼 소거활성을 측정한 결과를 <Table 5>에 나타내었다. 각 시료들의 소거활성은 시료 0.2 g/ml에서 된장(50.54%) > 콩(21.34%) > 메주(18.61%) > 청국장(17.07%) 순이었다. Kao TH & Chen BH(2006)과 Hirota A 등(2006)의 연구에 의하면 순수한 이소플라본 자체의 DPPH 소거능은 다른 항산화 물질에 비하여 약하다고 보고하였다. 본 연구에서 사용한 시료에는 이소플라본 이외에 다른 항산화 물질이 함유되어 있으며, 이 물질들에 의해 DPPH 라디칼 소거능이 나타난 것으로 추정된다.

<Table 5> Electron donating ability

sample	EDA(Electron donating ability) %
soybeans	21.34 ± 1.04 ^b
chungkukjang	17.07 ± 0.48 ^b
meju	18.61 ± 0.61 ^b
doenjang	50.54 ± 1.04 ^a

All values are mean ± SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different(p<0.05).

6. Conjugated diene Assay

CDA(conjugated dienoic acid) 측정법은 이중결합이 2개 이상인 다가 불포화 지방산 함유 지질의 초기 산화정도를 측정할 수 있다. 자연계에 존재하는 지방산은 이중결합이 2개 이상이면 non-conjugate형태로 존재하나 지방산이 산화되면 conjugate 이중결합 형태가 증가한다(Nawar 1998). 따라서 공액형의 지방산 함량을 측정하면 산패의 정도를 측정할 수 있다. 비공액 이중결합은 190 nm를 흡수하나 공액이중결합(conjugated diene)은 234 nm를, 공액 삼중결합(conjugated triene)은 268 nm의 에너지를 흡수한다. 자외선 분광광도를 사용하여 234 nm에서 흡광도를 측정하여, 생성된 conjugated diene양을 산출하는 방법이다. 이 방법을 이용하여 항산화 물질이 불포화 지방산의 산패를 억제하는 정도를 측정할 수 있다(Benzie & Strain 1996). Bae 등(1997)은 linoleic acid에 된장의 핵산, 메탄올 및 물 추출물을 첨가한 후 50

℃에서 25시간 저장하면서 과산화물가를 측정한 결과, 추출물을 첨가하지 않은 대조구에 비하여 과산화물가가 크게 감소하여 강한 항산화 효과가 있는 것으로 보고하였다 (Bae EA, Moon GS 1997).

본 연구에서 측정한 각 시료의 conjugated diene 생성 저해 측정 결과는 <Table 6>에 나타내었다. Conjugated diene 생성 저해 효과는 된장 87.62%, 메주 84.86%, 청국장 84.13%, 콩 80.89% 순으로 나타났는데 4가지 모두 높은 효과를 나타내었다.

김 등(1994)은 linoleic acid에 메주와 된장의 메타놀 추출물을 1% 첨가하였을 때 linoleic acid의 산화 시 생성되는 과산화물과 카아보닐 생성량이 대조구에 비하여 유의적으로 낮았다고 보고하였다. 이러한 결과는 메주와 된장 추출물이 강한 항산화력을 가지고 있어서 linoleic acid의 산패를 억제하였기 때문으로 풀이되었다.

<Table 6> Inhibition effect of Conjugated diene assay

sample	EDA(Electron donating ability) %
soybeans	80.89 ± 0.32 ^c
chungkukjang	84.13 ± 0.59 ^b
meju	84.62 ± 0.68 ^b
doenjang	87.62 ± 1.01 ^a

All values are mean ± SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

7. Tyrosinase 저해활성 측정 결과

Tyrosinase(monophenol monooxygenase, EC 1.14.18.1)는 활성 부위에 한 쌍의 구리 이온을 함유하고 있는 금속 함유 효소이다. Tyrosinase는 monohydroxyphenol을 o-dihydroxyphenol로 hydroxylation시키는 반응과 o-dihydroxyphenol을 o-quinone으로 oxidation시키는 반응에서 촉매로 작용한다. 생체 내에서 멜라닌 색소의 생합성의 속도를 결정하는 중요한 효소이다.

본 연구에서 측정한 각 시료의 Tyrosinase 저해 활성 측정 결과는 <Table 7>에 나타내었다. Tyrosinase 저해 활성 효과는 된장 74.07%, 청국장 32.15%, 메주 27.46%, 콩 14.92% 순으로 나타났는데 된장의 효과가 가장 높게 나타났다.

<Table 7> Inhibition effect of tyrosinase activity

sample	EDA(Electron donating ability) %
soybeans	14.92 ± 0.42 ^c
chungkukjang	32.15 ± 0.72 ^b
meju	27.46 ± 0.63 ^b
doenjang	74.07 ± 1.84 ^a

All values are mean ± SD of triplicate determination. Mean within rows with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

는 방법을 사용하였다.

전반적으로 발효 식품이 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성이 대두보다 높았다. 이는 발효과정에서 기존 성분의 분해, 새로운 성분의 생성과 같은 대사 작용에 의해 항산화 물질의 양이 증가한 결과로 해석된다. 대두 발효 식품 중 발효 기간이 가장 긴 된장이 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량이 높았고 다양한 방법으로 측정된 항산화 활성에서도 다른 시료에 비해 유의적으로 높았다. 된장에 불포화 지방산(2.55%)이 함유되어 있는데도(이양자 1995) 품질 변화가 적은 이유를 된장의 높은 항산화 능력 때문이라고 설명할 수 있다.

본 연구에서는 대두 식품의 항산화 활성을 평가할 수 있는 여러가지 방법 중 간편하여 손쉽게 사용할 수 있는 방법들을 선택하여 각 방법의 타당성을 검증하고자 하였다. DPPH법에 의한 시료들의 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 된장, 콩, 메주, 청국장 순으로 나타났다. 그러나 DPPH법을 제외한 모든 항산화 활성은 발효 기간이 길수록 높게 나타났으며, 된장, 메주, 청국장, 콩 순으로 나타났다. 이는 대두 식품에 함유된 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 일치하는 경향이었다. 본 실험에서는 대두 식품들의 70% methanol 추출물을 시료로 사용하였으나, 극성이 다른 용매를 사용 할 경우 추출되는 물질이 다를 것이며 이에 따라 항산화 활성에도 차이가 있을 것으로 추정된다. 그러나 대두 식품에서 항산화 활성을 나타내는 대표적인 성분인 페놀 화합물과 플라보노이드 함량이 본 실험에서 사용한 항산화 방법들과 양의 상관관계가 있는 것으로 나타나, 각 방법이 측정하는 항산화 활성의 기전은 서로 다르지만, 대두 식품의 전반적인 항산화 능력을 평가할 수 있는 우수한 방법들이 입증되었다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 한국 전통 발효 식품의 생리적 활성을 규명하는 연구의 일환으로, 대두 발효 식품인 청국장, 메주, 된장에 함유된 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하고 다양한 방법을 사용하여 항산화 활성을 측정하였다. 항산화 활성은 Fe³⁺환원능(FRAP), 전자공여능(DPPH), 공액 이중결합 생성 저해능과 티로시나제 활성 억제능을 측정하

감사의 글

본 연구는 Brain Korea 21 Project, 식품영양유전체 사업과 연세대학교 학술연구비 지원으로 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

■ 참고문헌

이 양자. 1995. 한국 상용식품의 지방산 조성표. 신광 출판사 pp

84-85

- Bae EA, Moon GS. 1997. A study on the antioxidative activities of Korean Soybeans. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(2): 203-208
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem.*, 239: 70-76
- Chen YC, Sugiyama Y, Abe N, Ryoko KN, Nozawai R, Hirota A. 2005. DPPH radical-scavenging compounds from dou-chi, a soybean fermented food. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(5): 999-1006
- Gary R. Beecher. 2003 Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutr.*, 133: 3248S-3254S
- Hirota A, Taki S, Kawaii S, Yano M, Abe N. 2000. 1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical-scavenging compounds from soybean miso and antiproliferative activity of isoflavones from soybean miso toward the cancer cell lines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64(5) : 1038-1040
- Jia Z, Tang M, Wu J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effect on superoxide radicals. *Food Chem.*, 64: 555-559
- Kao TH, Chen BH. 2006. Functional components in soybean cake and their effects on antioxidant activity. *J. Agric Food Chem.*, 54(20):7544-55.
- Kim JS, Sun Yoon. 1999. Isoflavone contents and b-glucosidase activities of soybeans, Meju and Doenjang. *Korean J. Food Sci. Technol*, 31: 1405-1409
- Lee JJ, Cho CH, Kim JY, Kee DS Kim HB. 2001. Antioxidant activity of substances extracted by alcohol from chungkookjang powder. *Korean J Microbiol*, 37: 177-181
- Nawar WW. 1998. Lipids. In: Fennema OR, editor. *Food Chemistry*. 3rd . Marcel Dekker. NewYork.p225-320
- Pratt DE. and Birac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybeans and products. *J. Food Sci.*, 44 :1720
- Qing Zhang Q, Zhang J, Shen J, Silva A, Dennis DA, Colin J. Barrow CJ. 2006. A Simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *journal of applied phycology*, 18: 445-450
- Romero AM, Dovel M M, Sturla MA, Judis MA. 2004. Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented with *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 106: 424-431
- Szabo MR, Idrıoiu C, Chambre D, Lupea AX. 2007. Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *chemical papers*, 61(3): 214-216
- Takahashi R, Ohmori R, Kiyose C, Momiyama Y, Ohsuzu F, Kondo K. 2005. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. *J. Agric Food Chem.*, 53(11): 4578-82

(2007년 5월 1일 접수, 2007년 6월 11일 채택)