

전통된장의 숙성기간에 따른 γ -Aminobutyric Acid(GABA), Isoflavone 함량 변화

조성진¹ · 홍충의¹ · 양성용¹ · 최경근² · 김형국² · 양 혁³ · 이광원^{1*}

¹고려대학교 생명과학대학 식품공학부

²농협 식품안전연구원

³(주)세모

Changes in Contents of γ -Aminobutyric Acid (GABA) and Isoflavones in Traditional Korean *Doenjang* by Ripening Periods

Seong-Jin Jo¹, Chung-Oui Hong¹, Sung-Yong Yang¹, Kyong-Kun Choi²,
Hyeong-Kook Kim², Hyok Yang³, and Kwang-Won Lee^{1*}

¹Division of Food Bioscience & Technology, College of Life Sciences & Biotechnology,
Korea University, Seoul 136-701, Korea

²Nonghyup Food Safety Research Institute, Seoul 137-130, Korea

³SEMO Co., Ltd., Incheon 403-130, Korea

Abstract

This study was performed to investigate changes in γ -aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean *Doenjang* according to ripening periods. The traditional Korean *Doenjang* used in this research was produced at Seowon Agricultural Cooperative in Gangwon-do Province, and samples fermented for periods of 1, 3, 5, 7, and 10 years were used. *Doenjang* that was not fermented after production was used as a control group. The analysis results of general constituents indicated a decreasing tendency for moisture after a momentary increase until three years of fermentation. The pH and Hunter color values of the *Doenjang* samples decreased overtime. In the case of amino acids, generally there were no notable differences during fermentation, but glutamic acid, the precursor of GABA, significantly decreased with fermentation. GABA content for the control group was 24.9 ± 0.8 mg/kg, while the traditional Korean *Doenjang* fermented for 1 year contained 43.8 ± 0.2 mg/kg and after 3 years it increased to 120.6 ± 3.9 mg/kg. Furthermore, samples fermented for 5 and 7 years contained 569.5 ± 3.9 mg/kg and 930.7 ± 7.1 mg/kg, respectively, and a 10 year old specimen had 77 times more GABA than the control group, with $1,938.7 \pm 4.8$ mg/kg. This confirmed that GABA content increased with fermentation time. There were no significant differences in the isoflavone glycosides daidzin, genistin, and glycitin, but genistein and daidzein, which are aglycones, increased along with fermentation period by the actions of enzymes and microorganisms during fermentation.

Key words: Korean traditional *Doenjang*, γ -aminobutyric acid (GABA), isoflavone

서 론

우리나라는 콩의 원산지로서 다른 나라에 비하여 콩 및 그 관련 식품이 많이 알려져 있다. 전통 한식된장은 한국 고유의 대두 발효식품으로서 일본이나 중국에 비하여 된장의 원료나 배합비율 및 장류의 담금 방식이 다른데, 이는 한반도의 뚜렷한 4계절 중에서 가장 습도가 낮고 청명한 날이 많으며 삼한사온과 같은 변온의 겨울철 기후 특성으로 인하여 한국 고유의 전통 장류 제조법이 독특하게 발달되었기 때문이다. 특히 우리의 전통 발효식품 제조는 일본에 비하여 원료 특성의 차이는 없지만, 대체로 저온·장기간의 자연 환경조건으로 이루어지는 것과 더불어 발효과정에서 다

양한 미생물이 관여하고 주로 세균 주도형 발효패턴을 많이 취하고 있는 것이 특징이다(1). 된장의 구수하고 감칠맛을 내는 여러 아미노산은 메주의 발효를 통해 자란 곰팡이가 만든 효소에 의해 콩의 단백질이 분해되어 생성된다. 이때 같이 첨가한 쌀이나 밀가루의 전분도 분해되어 단맛을 내는 포도당이나 맥아당으로 분해되어 아미노산과 당이 어울려 독특한 맛을 창조한다. 또한 발효과정을 거치면서 맛과 향뿐만 아니라 isoflavone, saponin과 같은 여러 건강 기능성 물질들이 만들어진다(2). 최근 전통된장에 관한 연구로는 항돌연변이(3,4), 항암(3-5) 및 혈전용해능(6)이 있는 것으로 보고되고 있으며, 또한 면역증진(7)이나 혈압강하(8,9), 고지혈증과 당뇨 개선(10,11), 아질산염 소거능(12) 및 항산화능

*Corresponding author. E-mail: kwangwon@korea.ac.kr
Phone: 82-2-3290-3027, Fax: 82-2-925-1970

(12,13)을 가지는 생체조절 기능성 성분이 밝혀졌다. 또한 전통 된장은 숙성 기간이 증가함에 따라 맛과 풍미가 향상되고, 콩의 주요 성분들에 대한 생체 이용도가 증가한다고 알려져 있다. 콩의 유용성분 중 하나인 isoflavone은 발효가 진행되면서 glucoside 형태인 genistin, daidzin, glycitin이 효소 및 미생물의 대사에 의해 생체이용률이 높은 aglycone 형태의 genistin, daidzein, glycitein으로 전환된다(14,15). 발효식품에 함유되어 있는 것으로 알려진 GABA는 1980년대 중반부터 이용되기 시작하였으며, 2001년경부터 본격적으로 시장을 형성하기 시작하였고 중추신경계의 주된 억제성 신경전달물질로 작용하는 것으로 알려진 비단백태 아미노산이다(16). γ -Aminobutyric acid(GABA)는 4개의 탄소를 구성되어 있고, 식물의 경우 GABA의 존재가 이미 반세기 전에 확인된 바 있다(17). 식물 내 GABA의 기능 및 생합성 메커니즘에 관한 연구를 종합해 보면 산소부족, 저온 및 고온, 어둠, 기계적 자극 등과 같은 외부 환경적 요인들에 의해 식물체 내 GABA의 생성이 촉진되며, 동물이나 미생물에서의 GABA 생성 기작과는 달리 식물에서는 Ca^{2+} 과 결합한 calmodulin이 glutamate decarboxylase(GAD)를 활성화시켜 GABA의 생성을 촉진시키는 것으로 보고되어 있다(16). 식물세포 내 GABA는 각종 자극에 의해 증가되는 H^+ 를 소비하여 pH를 조절하기 위한 대사, GABA-shunt를 통해 glutamate에서 succinate에 이르는 TCA cycle에서 산화를 위한 탄소골격의 제공, 질소저장 화합물 및 아미노산 대사산물 합성 등의 여러 가지 기능이 제안되고 있다(18). GABA와 GAD는 미생물과 고등생물까지 널리 발견되었고, 유산균 중에는 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis* 등이 GABA를 생산하는 것으로 알려져 있으며, 특히 쌀, 콩 발효식품 및 김치 등에서 분리한 유산균이 고농도로 생산하는 것으로 보고되었다(18).

전통된장의 기능성 물질에 대한 연구는 주로 6개월에서 3년까지의 숙성기간을 가지고 연구하였으나 장기 숙성기간에 따른 기능성 물질의 변화에 대한 연구는 거의 이루어지지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 전통된장의 장기 숙성기간에 따른 이화학적 특성을 연구하고, 기능성 물질 특히 GABA와 isoflavone의 함량 변화를 연구함으로써 전통된장의 우수성을 규명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 시료는 1998년부터 강원도 횡성 서원농협에서 생산한 황색 종 대두인 황금콩(*Glycine max* L.)을 재료로 하여 만든 된장으로 전년도에 생산한 대두로 다음해 2월에 된장을 만들어 전통항아리에서 발효하였다. 채취한 시료는 1, 3, 5, 7 및 10년 숙성된 된장을 제공받았으며, 숙성시킨 된장과의 비교를 위한 대조군은 2009년 생산한 대두를

재료로 하여 2010년 2월에 담긴 된장을 발효를 시키지 않고 사용하였다. 각 재료는 동결건조 시킨 후 분말로 분쇄한 뒤 $-70^{\circ}C$ 에서 보관하였다.

일반성분의 측정

일반성분은 AOAC 법(19)에 따라 수분은 상압가열건조법, 회분은 직접 회화법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl 법으로 측정하였으며, 조지방은 Soxhlet으로 측정하고 조섬유는 헨네베르크·스토오만개량법에 의해 측정하고 각 3회 분석하여 평균±표준편차로 표시하였다.

pH 및 색도의 측정

pH는 된장 10 g에 증류수 10 mL를 가하여 잘 교반한 후 pH meter(METTLER TOLEDO, Im Langacher, Switzerland)로 측정하였으며, 표면색도는 Hunter 체계를 이용한 색도측정기(CE-310, Macbeth, Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 측정하였다. 표준색판(L: 97.97, a: -0.38, b: +1.89)으로 보정한 후, L값(lightness), a값(redness) 및 b값(yellowness)을 각 3회 이상 측정하여 평균±표준편차로 표시하였다.

지방산 조성의 측정

지방산은 Soxhlet법(19)으로 지방을 추출한 후 식품공전(20)을 참조하여 전처리한 후 capillary column(SP-2560, 100 m×0.2 μ m×0.25 mm)을 장착한 GC(Agilent GC 7890, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다. 분석조건은 inlet과 detector(FID) 온도는 $260^{\circ}C$ 로 설정하였고, oven 온도는 $180^{\circ}C$ 에서 40분간 유지 후 $230^{\circ}C$ 까지 1분당 $3^{\circ}C$ 승온하여 20분간 유지하였다. Carrier gas는 헬륨 가스를 사용하였고, split ratio는 20:1로 하였다. 각 지방산은 동일조건에서 표준지방산(F.A.M.E. Mix C4-C24, 100 mg, Neat, Supelco, Bellefonte, PA, USA)과 retention time을 비교하여 정량하였으며 함량은 각 peak의 면적을 상대적인 백분율로 나타내었다.

총 아미노산 함량의 측정

시료 100 mg을 50 mL 튜브에 정밀히 취하고 6 N HCl을 시료 30 mg당 5 mL씩 가하고 약 5분간 N_2 gas를 충전 한다. 그 후 뚜껑을 닫아 $110^{\circ}C$ oven에서 24시간 동안 가수분해 시킨다. 가수분해 시킨 시료를 $50^{\circ}C$ 감압농축기에서 감압농축 하여 HCl을 제거한 후 증발플라스크에 옮기어 2회 정도 반복하여 증발건조 시킨다. 증발건조 되어 있는 플라스크에 시료회석 완충액을 가하여 아미노산을 용해시킨 후 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(L-8800 Amino Acid Analyzer, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 그러나 함유황아미노산인 cysteine(MW: 240.3)과 methionine(MW: 149.2)은 산 가수분해에 의하여 파괴되기 쉬우므로 performic acid를 가하여 산에 안정된 상태인 cysteic acid(MW: 169.2)와 methionine sulfone(MW: 181.2)으로 산화시킨 후 6 N HCl로 가수분해 한 후 아미노산 자동

분석기(L-8500 Amino Acid Analyzer, Hitachi)로 분석하였다.

GABA 함량의 분석

GABA 분석은 식품공전 유리아미노산 시험법을 변형하여 사용하였다(20). 시료 10 g에 85% ethanol 200 mL를 넣어 80°C에서 균질기(tissue homogenizer AM-7, Nippon Seiki, Tokyo, Japan)를 이용하여 10,000 rpm에서 5분 동안 균질화시킨 후 여과하여 여과액을 취한 후 남은 잔사에 85% ethanol을 가하여 균질, 여과하는 조작을 2회 반복하여 여과액을 취하였다. 이 여액을 감압농축기를 이용하여 농축한 다음 이 수용성 농축액을 diethyl ether로 3회 세척한 후 수용성 층을 진공농축한 후 0.1 N HCl을 이용하여 pH 2.2로 조절한 후 증류수를 이용하여 100 mL로 정용한 후 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 HPLC(1200 Series, Agilent Technologies)로 분석하였고, 칼럼은 ZORBOX Eclipse XDB C18(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m, Agilent Technologies)을 사용하였다. 검출기는 FLD를 사용하여 여기파장이 340 nm, 형광파장은 435 nm에서 측정하였다. 이동상은 이동상 A(40 mM NaH₂PO₄, pH 7.8)와 이동상 B(acetonitrile/methanol/D.W., 45/45/10, v/v)의 비율을 100:0(1.90 min) \rightarrow 50:50(14.0 min) \rightarrow 0:100(18.0 min) \rightarrow 100:0(22 min)으로, 유속은 2.0 mL/min 조건으로 설정하였다. 시료의 유도체와를 위해서는 Agilent HPLC(Agilent Technologies)의 injection program 을 사용하였다.

Isoflavone 함량의 분석

Isoflavone 분석은 건강기능식품공전을 참조하였다(21). 시료 10 g을 달아 250 mL 삼각플라스크에 넣고 80% 메탄올 40 mL를 넣은 후 호일을 씌우고 65°C 항온 수욕조에서 2시간 추출한다. 상온까지 냉각시킨 후 2 M NaOH 수용액 3 mL를 넣고 상온에서 10분간 회전 교반하여 반응시킨 다음 빙초산 1 mL를 넣는다. 80% 메탄올을 사용하여 50 mL로 정용한 다음 잘 혼합하고 여과한다. 여액 5 mL에 증류수 4 mL를 넣고 메탄올을 사용하여 10 mL로 정용한다. 5분간 원심분리한 상등액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 HPLC(1200 Series, Agilent Technologies)에 10 μ L를 주입하여 분석하였다. 분석에 사용된 칼럼은 Intersil ODS-3(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, GL science, Tokyo, Japan)이었고, UV

detector를 사용하여 260 nm에서 isoflavone을 측정하였다. 이동상은 이동상 A(D.W./methanol/acetic acid, 88/10/2, v/v)와 이동상 B(methanol/acetic acid, 98/2, v/v)의 비율을 90:10(0 min) \rightarrow 60:40(32 min) \rightarrow 40:60(35 min) \rightarrow 90:10(50 min)으로, 유속은 1.0 mL/min 조건으로 설정하였다.

통계처리

본 실험의 결과 값은 mean \pm SD(standard deviation)로 나타냈으며, 실험군 간의 비교분석은 statistical analysis system(SAS)을 이용하여 ANOVA 분석 후 p<0.05에서 Tukey's studentized range(HSD) test와 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성 검증을 하였다.

결과 및 고찰

일반성분 함량

전통된장의 숙성기간에 따른 일반성분의 변화를 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 수분함량은 대조군의 52.8%에 비해 숙성기간에 따라 54.6, 55.8, 48.7, 49.0 및 47.8%로 숙성기간이 3년 때까지 증가하였다가 점차 감소하는 경향을 보였다. 이는 Park 등(22)이 된장의 수분함량이 담금 직후 40%대였으나 숙성 3개월 후 50%대로 증가되었다고 보고하였고, 이는 숙성과정 중 수분의 증가가 액화 amylase 등의 효소력에 의해 수용성 물질이 증가되었기 때문이라고 하였다. 조단백질의 경우 평균 14.75%로 13.8~16.5%의 범위를 가졌으며, 조지방 함량은 4.9~8.1%의 범위를 가졌다. 된장의 일반성분을 분석한 결과 숙성기간별로 약간의 차이를 보였으나, 비슷한 경향을 나타냈는데 이는 본 연구에서 사용한 된장이 10년 동안 동일한 조건의 된장을 계속적으로 수거한 것이 아니라 1998년부터 제조한 된장을 2008년에 일괄 수거한 것을 고려한다면 숙성기간에 따른 차이는 아니고 된장 담금 시 콩의 재배 조건이나 기후 등의 차이에 의한 것으로 사료된다.

pH 및 색도의 변화

된장의 숙성기간에 따른 pH와 색도의 변화는 Table 2에 나타내었다. 숙성기간에 따른 pH 변화를 살펴보면 대조구가 5.90이었으나 숙성기간이 지남에 따라 5.53, 4.53, 5.87, 6.58 그리고 4.67로 숙성기간에 따라 증가하는 경향을 나타내었

Table 1. Changes in the general components of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods

Items	Control	Ripening periods (years)				
		1	3	5	7	10
Moisture (%)	52.8 \pm 0.1	54.6 \pm 0.4	55.8 \pm 0.8	48.7 \pm 0.3	49.0 \pm 0.3	47.8 \pm 0.1
Crude protein (%)	13.8 \pm 0.3	14.8 \pm 0.2	14.4 \pm 0.1	14.2 \pm 0.2	14.8 \pm 0.0	16.5 \pm 0.1
Crude lipid (%)	5.9 \pm 0.2	5.0 \pm 0.2	8.1 \pm 0.2	6.1 \pm 0.2	6.1 \pm 0.2	4.9 \pm 0.2
Crude ash (%)	13.2 \pm 0.0	15.6 \pm 0.1	8.5 \pm 0.0	18.8 \pm 0.3	19.8 \pm 0.0	13.8 \pm 0.0
Carbohydrates (%) ¹⁾	14.3	10.0	13.2	12.2	10.3	17.0
Crude fiber (%)	3.3 \pm 0.1	3.2 \pm 0.1	3.8 \pm 0.3	5.7 \pm 0.3	4.3 \pm 0.3	3.3 \pm 0.4
Energy (kcal)	165.5	144.2	183.3	160.5	155.3	178.1

¹⁾Carbohydrates (%)=Moisture+Crude protein+Crude lipid+Crude ash.

Table 2. pH, and Hunter color value of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods

Items	Control	Ripening periods (years)				
		1	3	5	7	10
pH	5.90±0.0 ^b	5.53±0.0 ^c	4.53±0.0 ^e	5.87±0.0 ^b	6.58±0.0 ^a	4.67±0.0 ^d
Hunter parameter						
L	40.45±0.4 ^a	38.32±0.1 ^b	32.46±0.5 ^c	31.09±0.1 ^d	27.31±0.5 ^e	26.90±0.1 ^e
a	7.45±0.2 ^a	5.32±0.0 ^b	4.79±0.1 ^c	2.30±0.3 ^e	2.50±0.1 ^e	3.45±0.1 ^d
b	11.21±0.2 ^a	9.12±0.0 ^b	8.65±0.2 ^b	5.79±0.6 ^d	5.70±0.5 ^d	7.77±0.2 ^e

^{a-e}Values with different superscripts within each row were significantly different at $p < 0.05$ vs control by ANOVA with Duncan's multiple range test.

고, 이는 다른 장류 발효식품에서도 일반적으로 일어나는 현상으로 저장 중 미생물의 작용으로 lactic acid, acetic acid 등의 유기산이 생성되어 유산균의 생육을 저해하기 때문이다. 이 같은 변화는 저온에서는 변화가 적고 고온에서 현저한 것으로 보고되었다(23). 색도는 숙성기간이 증가함에 따라 L값(lightness)이 40.45에서 26.90으로, a값(redness) 7.45에서 3.45 그리고 b값(yellowness) 또한 11.21에서 7.77로 감소하였다. 이상의 결과를 보면 전통된장의 숙성기간이 증가함에 따라 L, a, b 값 모두 급격히 감소하여 대조군 시료에 비하여 색이 짙어지는 것을 알 수가 있었다. 특히, 밝기와 황색도는 숙성기간에 따른 높은 상관관계를 보여주었는데, 효소작용에 의해 생성된 유리아미노산은 효소의 분해 작용으로 생성된 유리당과 amino-carbonyl 반응을 일으켜 이 반응의 최종산물인 melanoidin을 형성하게 된다. 된장의 색이 이들 melanoidin에 의한 것으로 알려져 있으며, 이는 공기와 접촉하거나 Fe의 존재 하에서 더욱 촉진되는 것으로 알려져 있다(23).

지방산 조성의 변화

숙성기간에 따른 전통된장의 지방산 조성은 Table 3에 나타내었다. 대조군 시료의 포화지방산은 전체 지방산 중 16.5%로 숙성기간별로 21.6, 17.9, 18.5, 30.3 및 29.8%의 비율을 차지하였다. 포화지방산 중에서 palmitic acid가 11.2~18.8%로 가장 높게 나타났다. 불포화지방산 중 단일불포화지방산인 oleic acid가 대조군이 28.6%였으며, 숙성기간별로 30.3, 19.6, 19.4, 26.1 그리고 26.7%의 비율을 차지하였다. 또한 PUFA(polyunsaturated fatty acid)라 불리는 고도불포화지방산이 대조군에서 54.9%였으며, 숙성기간별로 48.1, 62.5, 62.1, 43.6 및 43.5%의 비율을 차지하였다. 고도불포화지방산 중에서는 linoleic acid가 가장 높은 비율을 차지하였다. 본 연구에서 나타나듯이 전통된장 지방산 중에서 불포화지방산이 차지하는 비율이 숙성기간과 상관없이 70% 이상을 차지하였다. 시판 전통식 된장과 가정에서 제조한 전통된장의 지방산 조성을 본 결과 linoleic acid는 각각 52.17%, 49.24%, oleic acid는 20.7%, 22.86%였고 다음으로 palmitic

Table 3. Fatty acids contents of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods

Fatty acids	Control	Ripening periods (years)				
		1	3	5	7	10
C4:0	ND ¹⁾	1.7±0.1 ^b	1.5±0.2 ^a	1.5±0.2 ^a	1.2±0.0	1.5±0.3 ^a
C6:0	ND	0.2±0.0 ^b	ND	ND	0.5±0.1 ^a	0.5±0.2 ^a
C8:0	ND	ND	ND	ND	0.2±0.0 ^a	0.2±0.0 ^a
C14:0	0.5±0.2 ^{ba}	0.4±0.2 ^{ba}	0.3±0.1 ^b	0.4±0.1 ^{ba}	0.5±0.1 ^{ba}	0.6±0.1 ^a
C16:0	11.2±0.2 ^c	13.4±0.1 ^c	11.2±0.2 ^c	11.5±0.1 ^d	18.8±0.2 ^a	18.2±0.1 ^b
C17:0	ND	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	ND	0.2±0.1 ^a	0.2±0.0 ^a
C18:0	4.8±0.1 ^c	4.5±0.0 ^d	4.0±0.0 ^e	4.4±0.1 ^d	7.2±0.2 ^a	7.0±0.1 ^b
C20:0	ND	0.4±0.1 ^{bc}	0.3±0.0 ^{dc}	0.3±0.1 ^d	0.5±0.1 ^a	0.5±0.1 ^{ba}
C22:0	ND	0.5±0.1 ^b	0.4±0.0 ^c	0.4±0.1 ^c	0.7±0.1 ^a	0.7±0.0 ^a
C24:0	ND	0.4±0.1 ^b	0.1±0.0 ^c	ND	0.5±0.1 ^a	0.4±0.1 ^b
Saturated	16.5	21.6	17.9	18.5	30.3	29.8
C18:1c	28.6±0.1 ^b	30.3±0.1 ^a	19.6±0.1 ^e	19.4±0.1 ^e	26.1±0.1 ^d	26.7±0.2 ^c
Monounsaturated	28.6	30.3	19.6	19.4	26.1	26.7
C18:2c	46.4±0.1 ^c	41.5±0.2 ^d	52.6±0.1 ^a	52.2±0.2 ^b	37.8±0.1 ^f	39.0±0.2 ^e
C18:3c	8.5±0.0 ^b	5.5±0.1 ^c	9.7±0.0 ^a	9.7±0.1 ^a	5.2±0.1 ^d	3.9±0.1 ^e
C20:5	ND	0.2±0.0 ^b	0.1±0.0 ^c	0.1±0.1 ^c	0.3±0.1 ^a	0.3±0.0 ^a
C22:6	ND	0.7±0.1	ND	ND	ND	ND
C24:1	ND	0.2±0.2 ^b	0.1±0.0 ^c	0.1±0.1 ^c	0.3±0.2 ^a	0.3±10.1 ^a
Polyunsaturated	54.9	48.1	62.5	62.1	43.6	43.5
Total	100	100	100	100	100	100

¹⁾Not detected.

^{a-f}Values with different superscripts within each row were significantly different at $p < 0.05$ vs control by ANOVA with Duncan's multiple range test.

Table 4. Amino acids compositions of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods (unit: %)

Amino acids	Control	Ripening periods (years)				
		1	3	5	7	10
Aspartic acid	3.5±0.1 ^a	2.6±0.0 ^c	2.0±0.1 ^e	3.0±0.2 ^b	2.5±0.1 ^d	2.6±0.2 ^c
Threonin	1.3±0.0 ^a	0.9±0.1 ^d	1.1±0.1 ^c	0.9±0.0 ^d	0.8±0.0 ^e	1.2±0.1 ^b
Serine	1.6±0.0 ^a	1.0±0.0 ^c	0.7±0.0 ^e	1.1±0.0 ^b	1.0±0.0 ^d	1.0±0.0 ^c
Glutamic acid	5.5±0.1 ^a	4.2±0.0 ^b	3.9±0.0 ^c	3.5±0.1 ^e	3.8±0.2 ^d	3.5±0.1 ^e
Glycine	1.4±0.1 ^a	1.0±0.0 ^b	1.3±0.0 ^c	1.0±0.0 ^e	0.9±0.0 ^d	1.3±0.0 ^e
Alanine	1.4±0.0 ^a	1.1±0.1 ^b	2.4±0.1 ^c	1.2±0.0 ^e	1.0±0.0 ^d	1.9±0.0 ^e
Valine	1.5±0.0 ^b	1.3±0.1 ^c	1.6±0.2 ^a	1.2±0.0 ^d	1.1±0.0 ^c	1.6±0.0 ^a
Isoleucine	1.4±0.0 ^a	1.1±0.0 ^b	1.4±0.1 ^a	1.0±0.0 ^c	0.8±0.0 ^d	1.4±0.0 ^a
Leucine	2.5±0.0 ^a	1.8±0.0 ^d	2.3±0.1 ^c	1.7±0.0 ^e	1.4±0.0 ^f	2.4±0.0 ^b
Phenylalanine	1.6±0.0 ^a	1.3±0.0 ^c	1.4±0.0 ^b	1.4±0.0 ^c	1.2±0.0 ^d	1.6±0.0 ^a
Lysine	1.7±0.1 ^a	1.3±0.1 ^e	1.5±0.2 ^c	1.3±0.0 ^d	1.1±0.0 ^f	1.5±0.0 ^b
Histidine	0.7±0.0 ^a	0.5±0.0 ^d	0.7±0.0 ^b	0.5±0.0 ^e	0.4±0.0 ^f	0.6±0.0 ^c
Arginine	1.9±0.0 ^a	0.5±0.0 ^e	0.6±0.1 ^d	0.7±0.0 ^c	0.7±0.0 ^c	1.2±0.0 ^b
Cystine	0.5±0.0 ^a	0.4±0.0 ^c	0.4±0.0 ^b	0.4±0.0 ^{cb}	0.4±0.0 ^{cb}	0.4±0.0 ^b
Methionine	0.3±0.0 ^a	0.3±0.0 ^c	0.4±0.1 ^b	0.3±0.0 ^{cb}	0.3±0.0 ^{cb}	0.4±0.0 ^b
Proline	1.7±0.2 ^{ba}	1.1±0.0 ^d	1.7±0.1 ^a	1.3±0.0 ^c	0.9±0.0 ^e	1.6±0.0 ^b
Total	28.5	20.4	23.4	20.5	18.3	24.2

^{a-f}Values with different superscripts within each row were significantly different at $p < 0.05$ vs control by ANOVA with Duncan's multiple range test.

acid, stearic acid로 나타나(24) 본 연구와 비슷한 결과를 나타냈다. 그러나 Park 등(22)이 90일 숙성시킨 된장의 지방산을 측정된 결과 oleic acid가 38.5~46.9%로 가장 많은 비율을 차지하였고, 다음이 stearic acid로 14.8~21.4%, 다음이 linoleic acid와 palmitic acid는 8.3~14.3%를 나타냈으며, linolenic acid는 7.0% 미만이었다고 보고하였다. 지방산의 종류는 비슷하나 그 함량에서 차이를 나타냈으며, 본 실험의 숙성기간의 차이에서 비롯한 것으로 판단할 수 있다.

아미노산의 함량

전통된장의 숙성기간에 따른 아미노산의 함량 변화를 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다. 총 아미노산의 함량은 대조군 시료에서 28.5%로 가장 높았으며, 숙성기간이 증가할수록 아미노산의 총 함량이 감소하였다. 이는 된장이 발효 과정을 거치면서 아미노산이 분해되며 여러 가지 맛과 향미를 내는 것으로 사료된다. 특히 GABA 생성의 전구체인 glutamic acid의 함량을 살펴보면 대조군 시료가 5.5%, 숙성기간이 증가함에 따라 4.2, 3.9, 3.5, 3.8 그리고 10년 숙성된장에서 3.5%로 나타났는데 대조군과 비교해봤을 때 glutamic acid의 함량이 유의적으로 감소하였다.

GABA 함량

GABA 표준품을 분석한 chromatogram은 Fig. 1에, 전통된장의 숙성기간에 따른 함량 변화 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 대조군의 경우 24.9 mg/kg이었으나, 숙성기간이 1년 경과된 된장의 경우 43.8 mg/kg이었고, 3년 숙성된 된장의 GABA 함량이 120.6 mg/kg으로 증가하였다. 또한 5년 숙성된 된장의 경우 569.5 mg/kg, 7년이 930.7 mg/kg 그리고 10년 숙성된 된장의 경우 1,938.7 mg/kg으로 대조군에 비해 약 77배 증가하여 숙성기간이 증가함에 따라 기능성 생리활

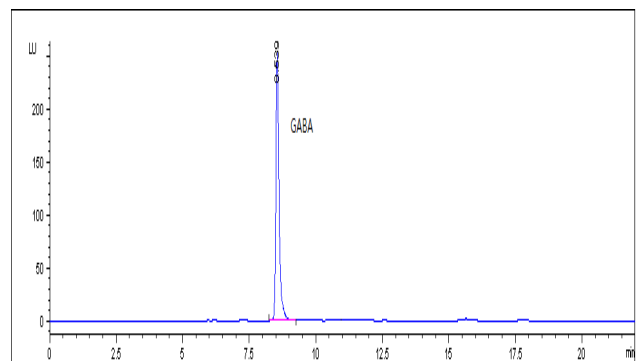


Fig. 1. Chromatogram of γ -aminobutyric acid (GABA) standard.

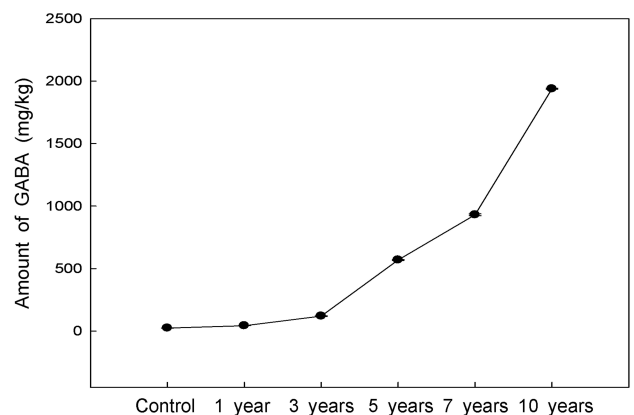


Fig. 2. Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods. Each value is mean \pm SD of three replicate experiments ($n=3$). $p < 0.05$ vs control by ANOVA with Tukey's studentized range (HSD) test.

성 물질인 GABA의 함량이 증가되었다. 이는 GABA가 다소 함유되어 있는 녹차의 GABA 생성량이 녹차엽의 아미노산

함량에 영향을 받으며, 특히 glutamic acid 함량에 비례함이 알려져 있다. 이는 녹차를 혐기적 조건에서 처리했을 때 GABA 함량이 현저하게 증가하고, 반면에 glutamic acid 함량은 감소한다는 연구결과로 확인되었다(25,26). 이러한 현상은 차엽 속의 glutamic acid가 glutamate decarboxylase에 의해 탈탄산되어 GABA을 생성하는 것으로 추정되어지고 있다(27). 따라서 된장의 숙성기간에 따른 GABA 함량을 연구한 결과 숙성기간이 증가함에 따라 여러 가지 효소적 반응에 의해 GABA 함량은 증가하고, GABA의 전구체인 glutamic acid가 감소되는 것을 본 연구를 통해 확인하였다.

Isoflavone 함량

숙성기간 별 전통된장의 isoflavone 함량을 측정된 HPLC chromatogram은 Fig. 3에 그리고 그의 조성은 Table 5에 나타내었다. 배당체 형태인 daidzin, glycitin 및 genistin은 대조군과 1, 3, 5, 7 및 10년 숙성시킨 된장에서 미량 존재하는 것으로 분석되었다. 그러나 비배당체 형태인 daidzein은 대조군에서 48.1 mg/kg이었지만 숙성기간이 증가됨에 따라 55.0, 72.4, 76.6, 96.0 그리고 10년 숙성시킨 된장에서 101.2 mg/kg으로 유의적으로 증가됨을 알 수 있었다. 또한 genistein의 경우 대조군에서 42.5 mg/kg이었지만 숙성기간

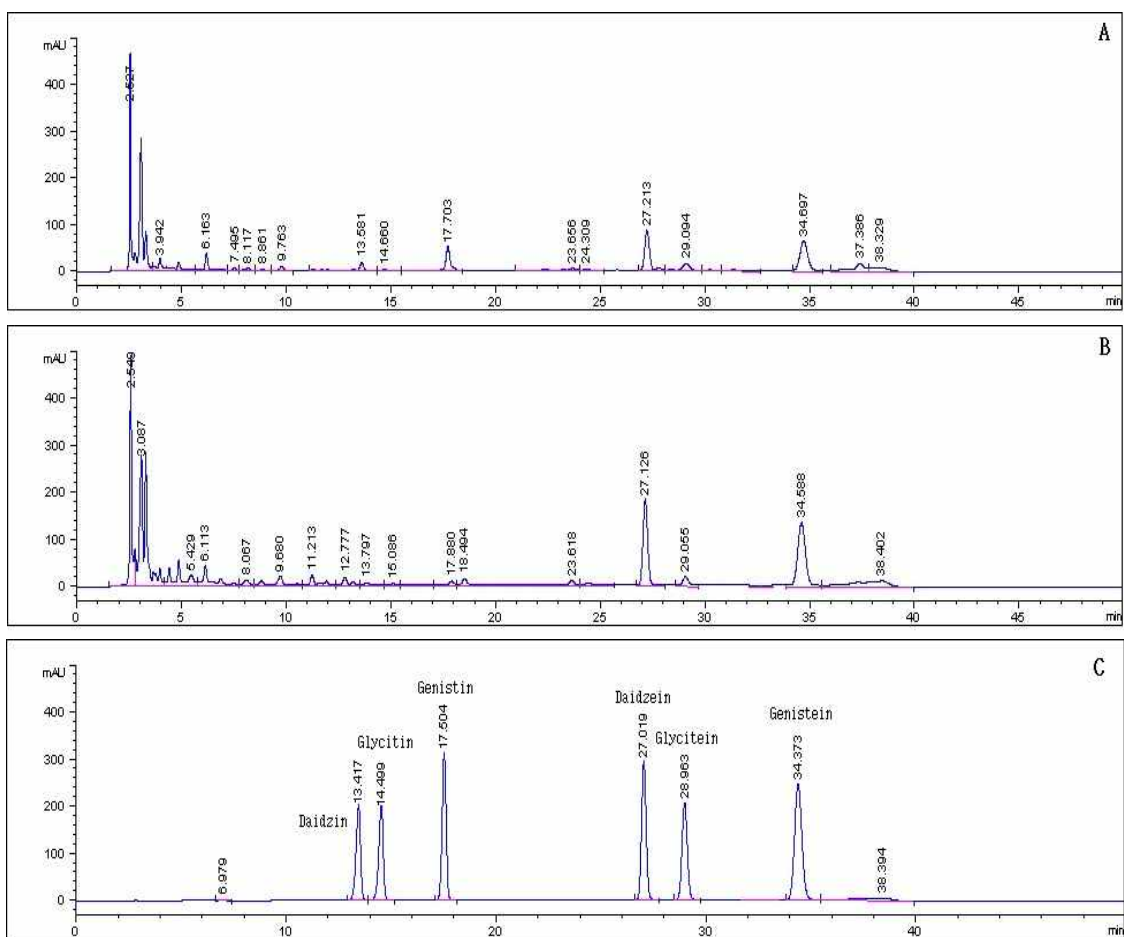


Fig. 3. Chromatogram of isoflavone standard and sample. A, control; B, 10 years; C, standard.

Table 5. Isoflavone contents of Korean traditional *Doenjang* by ripening periods

(unit: mg/kg)

Isoflavone	Control	Ripening periods (years)				
		1	3	5	7	10
Daidzin	10.9±0.9 ^a	3.1±3.7 ^d	10.1±3.9 ^{ab}	4.3±3.9 ^{cd}	4.7±0.8 ^{cd}	7.2±0.6 ^{bc}
Glycitin	2.5±1.0 ^a	3.8±2.8 ^b	6.0±5.6 ^b	6.0±5.6 ^b	2.6±3.9 ^b	3.0±5.4 ^b
Genistin	27.2±1.4 ^a	4.8±4.7 ^d	3.2±1.8 ^{ab}	2.3±2.0 ^{cd}	5.0±7.6 ^{cd}	2.6±2.2 ^{bc}
Daidzein	48.1±3.1 ^f	55.0±0.9 ^e	72.4±0.6 ^d	76.6±1.6 ^c	96.0±1.0 ^b	101.2±1.4 ^a
Glycitein	11.0±2.8 ^a	10.1±2.8 ^a	13.3±0.8 ^a	12.6±0.8 ^a	11.0±0.8 ^a	14.3±0.8 ^a
Genstein	42.5±1.6 ^f	72.4±1.8 ^e	87.8±2.0 ^d	88.2±0.1 ^c	89.5±0.4 ^b	94.7±3.6 ^a

^{a-f}Values with different superscripts within each row were significantly different at $p < 0.05$ vs control by ANOVA with Duncan's multiple range test.

이 증가함에 따라 72.4, 87.8, 87.1, 87.0 그리고 10년 숙성된 된장에서 94.7 mg/kg으로 증가되었다. 이는 된장의 원재료인 콩이 발효됨에 따라 효소적 대사반응에 의해 배당체 형태에서 생체 내 흡수율이 높고 생리활성이 강한 비배당체 특히, daidzein과 genistein으로 전환되는 것으로 확인되었다(14,15).

요 약

본 연구는 전통된장의 숙성기간에 따라 일반성분, pH, 색도, 지방산, 아미노산, γ -aminobutyric acid(GABA) 및 isoflavone의 변화에 대해 연구하였다. 실험에 사용한 전통된장은 강원도 서원농협에서 제조한 된장으로 숙성기간이 1, 3, 5, 7 및 10년이 경과된 된장을 사용하였으며, 대조군으로는 숙성시키지 않은 된장을 사용하였다. 일반성분 중 수분의 경우 3년째까지 일시적으로 증가하였다가 그 이후에는 감소하는 경향을 나타내었으며, pH와 색도는 숙성기간이 증가함에 따라 감소하였다. 지방산의 경우 숙성기간에 따른 유의적인 차이는 없었으나 불포화지방산의 비율이 60% 이상을 차지하였다. 아미노산 또한 유의적인 차이는 없었으나 GABA의 전구체인 glutamic acid가 숙성기간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 대조군 시료의 경우 GABA의 함량을 분석한 결과 24.9 mg/kg이었으나, 숙성기간이 증가함에 따라 43.8, 120.6, 569.5, 930.7 그리고 10년 숙성된 된장의 경우 1,938.7 mg/kg으로 대조군 시료에 비해 약 77배 증가하였다. Isoflavone 중 glycoside인 daidzin, genistin 및 glycitin은 유의적인 차이가 없었으나, aglycone 형태인 genistein과 daidzein의 경우 숙성기간이 경과될수록 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 강원도 서원농협에서 제공한 시료를 사용하였으며, 농협중앙회 식품안전연구원과 고려대학교 CJ식품안전관의 장비 및 시설을 사용하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

문 헌

- Park SK. 2000. Quality assessment of commercial *Doenjang* prepared by traditional method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 211-217.
- Kwan TW. 2005. *Soybean*. Korea University Press, Seoul, Korea. p 624-632.
- Shin SH. 1989. Mutagenicity and antimutagenicity of 'Meju', hot sauce and other Korean foods by *Salmonella*/mammalian-microsome test. Abstract the 5th Federation of Asian and Oceanian Biochemists, Seoul, Korea. p 301.
- Kurech T, Kikugawa K, Fukuda S, Hasunuma M. 1981. Inhibition of N-nitrosamine formation by soya products. *Food Cosmet Toxicol* 19: 425-428.
- Lim SY, Park KY, Rhee SH. 1999. Anticancer effect of doenjang in vitro sulforhodamine B (SRB) assay. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 240-245.
- Kim SH. 1998. New trends of studying on potential activities of *Doen-jang*-Fibrinolytic activity-. *Korea Soybean Digest* 15: 8-15.
- Lee BK, Jang YS, Yi YS, 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.
- 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.
- Hwang JH. 1997. Angiotensin I converting enzyme inhibitory effect of doenjang fermented by *B. subtilis* SCB-3 isolated from Meju, Korean traditional food. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 775-783.
- Yang BK, Jeong SC, Hur NJ, Ha SO, Kim KY, Kym KH, Yun JW, Song CH. 2000. Hypoglycemic effects of extracts of soybean paste containing mycelia of mushrooms in streptozotocin-induced diabetic rats. *Koran J Mycol* 28: 126-129.
- Yang BK, Park JB, Ha SO, Kim KY, Kym KH, Park KY, Yun JW, Song CH. 2000. Hypolipidemic effect of extracts of soybean paste containing mycelia of mushrooms in hyperlipidemic rats. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 228-232.
- Cheo GS, Lim SY, Choi JS. 1998. Antioxidant and nitrite scavenging effect of soybean, meju and doenjang. *Korean J Life Science* 8: 473-478.
- Choi UK, Ji WD, Chung HC, Choi DH, Chung YG. 1997. Optimum condition for pigment production and anti-oxidative activity of the products by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1039-1043.
- Bowey E, Adlercreutz H, Rowland I. 2003. Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: a study in germ-free and human flora associated rats. *Food Chem Toxicol* 41: 631-636.
- Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein and their β -glycoside conjugates: anti-tumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 41: 1961-1967.
- Oh SH, Kim SH, Moon YJ. 2002. Changes in the levels of γ -aminobutyric acid and some amino acids by application of glutamic acid for the germination of brown rices. *Korean J Biotechnol Bioeng* 17: 49-53.
- Narayan S, Nair PM. 1990. Metabolism enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochemistry* 29: 367-375.
- Bown AW, Shelp BJ. 1997. The metabolism and functions of γ -aminobutyric acid. *Plant Physiol* 115: 1-5.
- AOAC. 1980. *Official methods of analysis*. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. Chapter 32, p 5.
- Korea Food & Drug Administration. 2008. *Food code*. 7.3.1.1.
- Korea Food & Drug Administration. 2008. *Health functional food code*. III.2.
- Park JS, Lee MY, Lee TS. 1995. Compositions of sugars and fatty acids in soybean paste (doenjang) prepared with different microbial sources. *J Korean Soc Food Nut* 24: 917-924.
- Hara A. 1998. Preparative freshness of soybean paste. *Food Sci* 40: 36-45.

24. Park SK. 2000. Quality assessment of commercial *doenjang* prepared by traditional method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 211-217.
25. Chang JS, Lee BS, Kim YG. 1992. Changes in γ -aminobutyric acid (GABA) and the main constituents by a treatment conditions and of anaerobically treated green tea leaves. *Korean J Food Sci Technol* 24: 315-319.
26. Toshinobu M, Tojiro T. 1987. Conversion of glutamic acid to γ -aminobutyric acid in tea leaves under anaerobic conditions. *Agric Biol Chem* 51: 2865-2871.
27. Mayer R, Cherry J, Rhodes D. 1990. Effects of heat shock on amino acid metabolism of cowpea cells. *Plant Physiol* 94: 796-810.

(2011년 1월 7일 접수; 2011년 3월 15일 채택)