

자색고구마 첨가 청국장의 항산화능 평가

이민지 · 이유건 · 조정일¹ · 나광출¹ · 김미승² · 문제학*

전남대학교 식품공학과 및 기능성식품연구센터, ¹조선이공대학교 식품영양조리과학과, ²무안군 농업기술센터

Antioxidative Activity of *Cheonggukjang* Prepared with Purple Sweet Potato

MinJi Lee, Yu Geon Lee, Jung-Il Cho¹, Kwang-Chool Na¹, Mi Seung Kim², and Jae-Hak Moon*

Department of Food Science & Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University

¹Department of Food Nutrient and Culinary, Chosun College of Science & Technology

²Muan-gun Agritechology Center

Abstract The characteristics and antioxidative activities of yellow and black soybean *cheonggukjang* prepared with the addition of purple sweet potato (*Ipomoea batatas* cv. Jami) were evaluated. In sensory evaluation experiments involving the addition of purple sweet potatoes to *cheonggukjang* at 0, 5, 10, 20, and 30% ratios (w/w), yellow (YCAP) and black (BCAP) soybean *cheonggukjang* with 20% purple sweet potato were most preferred. The total phenolics and flavonoid contents of YCAP and BCAP were higher than those of yellow (YC) and black (BC) *cheonggukjang* prepared without added purple sweet potato. YCAP and BCAP also showed higher DPPH radical-scavenging activities than other samples. Moreover, rat blood plasma samples taken 1 h after oral administration of YCAP and BCAP showed higher inhibitory effects against lipid peroxidation than did rats fed YC or BC. These results suggest that the long-term intake of *cheonggukjang* prepared with purple sweet potato may increase the antioxidative activity in the blood.

Keywords: purple sweet potato, *cheonggukjang*, antioxidant, lipid peroxidation, total phenolic and flavonoid contents

서 론

청국장은 우리나라의 대표적인 전통발효식품들 중의 하나로 대두를 물에 충분히 불린 후 증자하여 고초균인 *Bacillus subtilis*를 주로 이용하여 발효시켜 제조하는 건강기호식품이다(1). 청국장은 항산화(2), 혈압억제(3), 항균(4), 항암(5), 혈전용해(6) 효과 등과 같은 다양한 생리활성이 보고되어 왔다. 이러한 청국장의 생리활성은 원재료인 대두가 함유하고 있는 isoflavone을 포함한 다양한 페놀성 화합물 및 phytic acid 등의 유효성분 이외에도 발효과정 중에 *Bacillus*균이 생산하는 효소에 의하여 콩에 함유되어 있는 단백질 및 탄수화물이 소화되기 쉬운 형태로 분해됨은 물론 flavonoid 배당체로부터 aglycone이 유리·변형됨으로써 페놀성 화합물의 함량이 증가하기 때문인 것으로 보고되고 있다(7). 하지만 발효과정 중에 생성되는 암모니아계 화합물 및 alkylpyrazine 류 등의 휘발성 성분들로부터 기인한 불쾌취로 인하여 청국장이 영양학적으로 우수함에도 불구하고 넓은 소비자층을 확보하지 못하고 있다(8). 이에 따라 최근 청국장의 기호적 한계점을 극복함은 물론 그 기능성을 향상시키고자 청국장에 키토산(9), 녹차(10), 홍삼(11), 유카(12) 등의 다양한 유용 식품소재들을 첨가한 청국장 제조가 시도되고 있다.

자색고구마는 재배가 용이하고 값이 비교적 저렴함은 물론 anthocyan계 색소가 다량 함유되어 있다(13). 또한 일반고구마에 비해 자색고구마는 식이섬유, 페놀성 화합물 및 비타민류가 다량 함유되어 있어 그 기능성이 주목받고 있다(14). 또한 자색고구마는 그 자체에 함유된 anthocyan 등을 이용한 천연 식품색소원 개발과 그 영양성분을 활용한 식품소재 개발 등을 통해 가공식품 산업계에서 그 응용성이 매우 높은 식품소재들 중의 하나로 이미 인식되고 있다(15). 이에 따라 자색고구마를 첨가한 빵(16), 젤리(15), 막걸리(17), 떡(18) 등의 제조에 관한 연구들 또한 다양하게 보고되었으나 아직까지 자색고구마를 이용한 청국장의 제조에 대한 시도는 이루어진 바 없다.

검정콩은 대두에 비하여 isoflavone 함량이 더 높아 항산화(19) 및 항암(20) 효과가 높다고 보고되고 있다. 일반적으로 청국장을 포함한 우리나라 전통장류들은 노랑콩(대두)이 이용되고 있다. 그러나, 검정콩의 기능성이 인식되어짐에 따라 근래 검정콩을 이용한 간장(21) 및 청국장(22) 제조 또한 다양하게 시도되어 왔다. 그럼에도 불구하고 검정콩을 이용한 실질적인 산업화는 아직 그 범위가 제한적이다.

본 연구에서는 원료 대두 중량비에 따라 자색고구마 첨가량을 달리한 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장을 각각 제조 후, 관능평가를 실시하여 품미개선 여부를 확인함으로써 자색고구마 첨가 최적비율을 먼저 설정하였다. 자색고구마 첨가 청국장의 기능성 향상 여부를 평가하기 위해 총 페놀성 화합물, 총 flavonoid 함량 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging 활성을 비교하고, 자색고구마 첨가 청국장 추출물 투여 쥐 혈장을 대상으로 cholesteryl ester hydroperoxide (CE-OOH) 생성억제능을 평가하여 자색고구마 첨가 청국장의 우수성을 평가하고자 하였다.

*Corresponding author: Jae-Hak Moon, Department of Food Science & Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
Tel: 82-62-530-2141

Fax: 82-62-530-2149

E-mail: nutrmoon@jnu.ac.kr

Received October 12, 2013; revised January 5, 2014;

accepted January 9, 2014

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용한 자색고구마(*Ipomoea batatas* cv. Jami)는 전남 무안에서 재배된 것을 수확하여 상대습도 80%, 온도 10°C의 조건에서 보관하면서 시료제조에 이용하였다. 청국장 제조에 사용된 콩 중 노랑콩(*Glycine max*)과 검정콩(*Rhynchosia nulubilis*)은 강원도 영월군 승당농산물가공영농조합에서 구매하여 이용하였다.

사용균주 및 배지

선행연구(23)를 통해 분리한 청국장 종균(*Bacillus subtilis* chungkook16, KCTC 10786BP)을 Bacto tryptic soy broth (Becton, Dickinson and Co., Sparks, MD, USA)에서 37°C에서 16시간 배양하여 사용하였다.

청국장 제조

정선한 노랑콩 및 검정콩을 콩의 부피를 기준으로 약 3배에 해당하는 물을 이용하여 3회 이상 세척 후 상온에서 15시간 동안 수침한 다음, 약 1.5 cm³ 크기로 절단한 생 자색고구마를 원료콩 중량의 0, 5, 10, 20, 30%에 해당하는 양이 되도록 첨가하여 121°C에서 30분간 증자 후 약 50°C로 냉각하였다. 여기에 원료 대두 중량의 3% (v/w)에 해당하는 종균(*Bacillus subtilis* chungkook16)을 적정농도(2.8×10⁶ CFU/mL)로 하여 각각의 시료에 접종한 후, 40±1°C에서 24시간 발효하여 청국장을 제조하였다.

그리고 노랑콩과 검정콩 균을 각각 4그룹으로 나누어 시료를 제조하였다. 먼저 노랑콩을 원료로 한 군: 노랑콩 청국장(yellow soybean *cheonggukjang*, YC), 발효를 행하지 않은 자색고구마와 노랑콩 혼합 시료(non-fermented mixture of yellow soybean and purple sweet potato, YPNM), 일반고구마 첨가 노랑콩 청국장(yellow soybean *cheonggukjang* prepared with addition of sweet potato, YCAS), 자색고구마 첨가 노랑콩 청국장(yellow soybean *cheonggukjang* prepared with addition of purple sweet potato, YCAP)을 각각 제조하였다. 그리고 검정콩을 원료로 한 군: 검정콩 청국장(black soybean *cheonggukjang*, BC), 발효를 행하지 않은 자색고구마와 검정콩 혼합 시료(non-fermented mixture of black soybean and purple sweet potato, BPNM), 일반고구마 첨가 검정콩 청국장(black soybean *cheonggukjang* prepared with addition of sweet potato, BCAS), 자색고구마 첨가 검정콩 청국장(black soybean *cheonggukjang* prepared with addition of purple sweet potato, BCAP) 또한 각각 제조하였으며, 노랑콩과 검정콩을 이용하여 제조된 각 시료를 대상으로 자색고구마 첨가에 따른 특성을 비교·평가하였다.

관능평가

자색고구마의 첨가량을 달리하여 제조된 청국장장의 관능검사는 훈련된 20-30대 패널 23명을 대상으로 청국장장의 외관(appearance), 색(color), 향(flavor), 맛(taste), 조직감(texture), 그리고 전체적인 기호도(overall acceptability)의 6개 검사 항목에 대하여 7점 평점법으로 선호도가 높을수록 높은 점수를 주도록 실시하였다.

청국장 추출물 조제

청국장(wet wt. 10 g)에 100% methanol (MeOH) 100 mL씩을 각각 가하여 homogenizer (HG-92G, Taitec, Koshigaya, Japan)로 균질화한 후, 흡인여과(No. 2, Whatman, NJ, USA)하여 여과액과 잔사를 분리하였다. 이어 회수한 잔사에 80% MeOH 100 mL로

2회 반복 추출하여 얻어진 여과액을 합한 후, 진공농축하여 80% MeOH 10 mL로 용해해 청국장 추출물로 이용하였다.

총 페놀성 함량 분석

총 페놀성 화합물 함량은 Folin & Ciocalteu's 방법(24)에 따라 분석하였다. 20배 희석된 청국장 추출물 50 µL (청국장 wet wt. 2.5 mg)에 H₂O 450 µL를 가한 후, Folin & Ciocalteu phenol 시약(Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan) 500 µL를 각각 가하여 혼합하였다. 이어 포화 Na₂CO₃용액 500 µL를 넣고 혼합하여 암소에서 30분 동안 반응시킨 다음, UV/VIS spectrophotometer (JP/V-550, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 700 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 시료의 총 페놀성 화합물 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 작성된 표준곡선으로부터 정량하여 gallic acid 상당량(GAE)으로 제시하였다.

총 flavonoid 함량분석

총 flavonoid 함량은 Lee 등의 방법(25)을 약간 변형하여 정량하였다. 즉, 청국장 추출물 15 µL (청국장 wet wt. 15 mg eq.)에 Tris buffer (0.01 M, pH 7.4) 985 µL를 가한 후, 5% NaNO₂ 60 µL를 넣고 혼합하여 암소에서 5분 동안 반응시킨 다음, 10% AlCl₃ 100 µL를 넣고 1 N NaOH 0.5 mL를 가한 뒤, UV/VIS spectrophotometer (JP/V-550, Jasco)로 410 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 시료의 총 flavonoid 화합물 함량은 catechin을 표준물질로 하여 작성된 표준곡선을 이용하여 정량하였으며, catechin 상당량(CE)으로 제시하였다.

DPPH radical-scavenging 활성평가

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging 활성은 Yamaguchi 등의 방법(26)에 따라 평가하였다. 즉, 청국장 추출물 8 µL (청국장 wet wt. 8 mg eq.)에 Tris buffer (0.01 M, pH 7.4) 492 µL와 500 µM DPPH ethanol 용액(최종농도 250 µM) 500 µL를 가하여 혼합한 후, 암소에서 30분간 반응시킨 뒤, 5분 동안 원심분리하여 얻어진 여과액을 HPLC 분석 시료로 사용하였다. DPPH radical-scavenging 활성은 blank와 시료의 DPPH radical 감소로 인한 HPLC chromatogram 상의 peak area의 차이로 평가하였다. HPLC분석은 Octyl-80Ts column (4.6×150 mm, Tosoh, Tokyo, Japan)이 장착된 system에서 MeCN/H₂O=6:4 (v/v)의 isocratic 용매계를 이용하여 517 nm (SPD-10A, Shimadzu, Kyoto, Japan)의 파장과 유속 1.2 mL/min (LC-6AD, Shimadzu)의 조건하에서 15분간 분석하였다.

실험동물 및 혈장의 분리

실험에 사용된 쥐는 6주령의 수컷 Sprague-Dawley계(180-200 g body wt., n=20마리)만을 구입(Samtako Bio Korea, Osan, Korea)하여 이용하였다. 실험은 YC, YCAP, BC, BCAP와 사료만을 섭취한 대조군을 대상으로 각 군당 4마리씩 사육하였다. Stainless wire cover 플라스틱 cage에 사육하였으며, 생육조건은 20±2°C, 습도는 50-60%, 그리고 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였고, 식이와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 실험 15시간 전에 절식시키고, 3시간 전에 절수시킨 쥐에 청국장 추출물 1 mL (청국장 wet wt. 1 g eq. in H₂O 1 mL)를 경구투여하였다. 경구투여 1시간 후 ether로 마취시킨 다음 개복하여 대동맥으로부터 채혈한 후, 4°C에서 15분간 3,000 rpm으로 원심분리(VS-15 CFN, Vision, Daejeon, Korea)하여 상층액(혈장)을 분리하였다. 분리한 혈장은 사용 직전까지 -40°C에서 냉동 보관하였다(27).

쥐 혈장의 산화에 따른 CE-OOH 분석

각 군($n=4$)으로부터 얻어진 혈장으로부터 150 μ L씩을 각각 동일량 취하여 혼합한 다음, PBS buffer (pH 7.4) 1,560 μ L와 최종 농도가 100 μ M이 되도록 동이온(CuSO_4) 용액 240 μ L를 첨가함으로써 산화를 개시시켰다. 혼합 용액은 37°C 압소에서 진탕 배양시키면서 1시간 간격으로 100 μ L를 취하여 2.5 mM dibutyl hydroxy toluene (BHT)을 함유한 MeOH 3 mL와 *n*-hexane 3 mL를 가하고 혼합하였다. *n*-Hexane층(상층액)을 농축수기에 취한 후, 다시 *n*-hexane 3 mL를 순차적으로 가하고 혼합하였다. 다시 그 상층액을 취해 전 단계의 *n*-hexane층과 혼합하여 진공농축한 다음, 얻어진 농축물을 MeOH/ CHCl_3 (95:5, v/v) 용액 100 μ L로 녹여 시료 중의 CE-OOH 농도를 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석은 Octyl-80Ts (4.6 \times 150 mm, Tosoh) column이 장착된 system 상에서 MeOH/ H_2O =97:3 (v/v)의 isocratic 용매계를 이용하여 235 nm (SPD-10A, Shimadzu)와 유속 1.0 mL/min (LC-6AD, Shimadzu)에서 분석을 행하였다(27). 여기에서 사용된 CE-OOH 표준품은 본 연구실의 선행연구(27)에 의해 합성된 것을 이용해 표준곡선을 작성하여 CE-OOH의 함량을 계산하였다.

통계처리

실험결과는 3회 반복 측정하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 각 추출물의 생리활성 결과에 대한 유의성은 SPSS (IBM, Armonk, NY, USA)를 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 Tukey 법으로 실시하였다.

결과 및 고찰

관능평가

자색고구마의 적정 첨가량을 판단하기 위해 자색고구마를 원료 콩(노랑콩, 검정콩) 중량의 0, 5, 10, 20, 30%가 되도록 청국장을 제조한 후, 각 시료를 대상으로 관능평가를 실시하였다. 그 결과(Table 1), 자색고구마를 첨가함으로써 외관(appearance)과 색

(color)에 대해 자색고구마를 첨가하지 않은 청국장에 비하여 선호도가 감소되는 경향이 나타났다. 그리고 향(flavor)과 맛(taste)에 있어서는 자색고구마가 첨가된 청국장과 대조군 청국장 모두 비슷한 기호도를 보였다. 특히, 20% 자색고구마 첨가 청국장은 향과 맛에 있어서 다른 시료들에 비하여 높은 기호도를 보였다. 전체적인 자색고구마 노랑콩 청국장의 결과로부터 자색고구마의 첨가 비율이 높아질수록 외관(appearance)이 나빠지는 경향을 보였다. 이와 같은 현상은 자색고구마 특유의 색상이 원료콩에 과량 흡착되었을 가능성과 산화 또는 미생물 대사에 의한 자색고구마 색소성분의 구조적 변화 때문일 것으로 추측된다. 이와 유사한 경향이 녹차 첨가 청국장 개발 연구(28)에서도 관찰되었음을 고려할 때, 일반적으로 첨가소재의 양적인 고려가 충분히 이루어질 필요가 있다고 판단된다. 그리고, 자색고구마의 첨가 비율이 높아질수록 맛의 기호도(taste)는 향상되어지는 것으로 나타났다. 반면에 자색고구마 30% 첨가군에 있어서는 전체적인 항목에서 모두 낮은 평가를 보였다. 따라서 자색고구마는 콩 중량의 20%를 첨가했을 때 기호도 측면에 있어서 가장 적합한 것으로 판단되었다.

한편 자색고구마를 첨가한 검정콩 청국장의 관능평가 결과에 있어서는 노랑콩 청국장의 결과와 비슷한 경향이 관찰되었다(Table 2). 즉, 자색고구마 첨가량이 증가할수록 외관(appearance) 및 향미(flavor)의 기호도가 낮아지는 현상이 관찰되었다. 그리고 5, 10, 20% 자색고구마 첨가 청국장의 경우, 자색고구마 첨가 비율이 높아짐에 따라 맛(taste)과 조직감(texture)에 대한 선호도가 향상되는 경향이 관찰되었다. 특히, 검정콩 청국장의 경우에서도 20% 자색고구마 첨가군이 가장 높은 기호도를 나타냈다. 따라서 이후의 본 연구에서는 노랑콩과 검정콩 양자 모두 20%의 자색고구마를 첨가하여 제조된 청국장만을 대상으로 자색고구마 첨가에 따른 기능성 향상여부를 비교·평가하였다.

총 페놀성 함량

먼저 노랑콩을 원료로 하여 제조된 청국장들 간의 총 페놀성

Table 1. Sensory evaluation of yellow soybean *cheonggukjang* prepared with additon of purple sweet potato in different content

Purple sweet potato content (w/w, %)	Attributes					
	Appearance	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability
0	4.74 \pm 1.36 ^a	4.39 \pm 1.47 ^a	4.43 \pm 1.24 ^a	3.74 \pm 1.36 ^{ab}	3.96 \pm 1.46 ^{ab}	4.17 \pm 1.47 ^{bc}
5	4.30 \pm 1.72 ^a	4.39 \pm 1.67 ^a	4.39 \pm 1.31 ^a	3.83 \pm 1.47 ^{ab}	3.87 \pm 1.49 ^{ab}	3.91 \pm 1.24 ^{abc}
10	4.30 \pm 1.46 ^a	4.09 \pm 1.28 ^a	4.17 \pm 1.19 ^a	2.96 \pm 1.26 ^a	3.87 \pm 1.42 ^{ab}	3.48 \pm 1.50 ^{ab}
20	4.52 \pm 2.02 ^a	4.17 \pm 1.56 ^a	4.70 \pm 1.43 ^a	4.52 \pm 1.65 ^b	4.65 \pm 1.37 ^b	4.78 \pm 1.38 ^c
30	3.57 \pm 1.78 ^a	3.78 \pm 1.41 ^a	4.04 \pm 1.26 ^a	3.13 \pm 1.66 ^a	3.17 \pm 1.15 ^a	2.87 \pm 1.29 ^a

All values were expressed as the mean \pm SEM.

Different letters mean significant differences at $p<0.05$ by Turkey multiple range test.

Table 2. Sensory evaluation of black soybean *cheonggukjang* prepared with additon of purple sweet potato in different content

Purple sweet potato content (w/w, %)	Attributes					
	Appearance	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability
0	4.61 \pm 1.64 ^b	4.83 \pm 1.70 ^b	4.52 \pm 1.44 ^b	3.65 \pm 1.47 ^{ab}	3.70 \pm 1.61 ^a	3.78 \pm 1.41 ^{ab}
5	4.30 \pm 1.40 ^b	4.30 \pm 1.49 ^{ab}	4.61 \pm 1.41 ^b	4.00 \pm 1.41 ^{ab}	4.00 \pm 1.38 ^{ab}	4.39 \pm 1.12 ^b
10	3.96 \pm 1.33 ^{ab}	4.30 \pm 1.43 ^{ab}	4.43 \pm 1.44 ^b	3.70 \pm 1.36 ^{ab}	4.13 \pm 1.22 ^{ab}	4.13 \pm 1.10 ^{ab}
20	4.74 \pm 1.63 ^b	4.83 \pm 1.70 ^b	4.26 \pm 1.76 ^b	4.70 \pm 1.52 ^b	4.87 \pm 1.06 ^b	4.74 \pm 1.42 ^b
30	2.91 \pm 1.98 ^a	3.09 \pm 1.90 ^a	2.96 \pm 1.66 ^a	3.17 \pm 1.44 ^a	3.71 \pm 1.61 ^a	3.17 \pm 1.47 ^a

All values were expressed as the mean \pm SEM.

Different letters mean significant differences at $p<0.05$ by Turkey multiple range test.

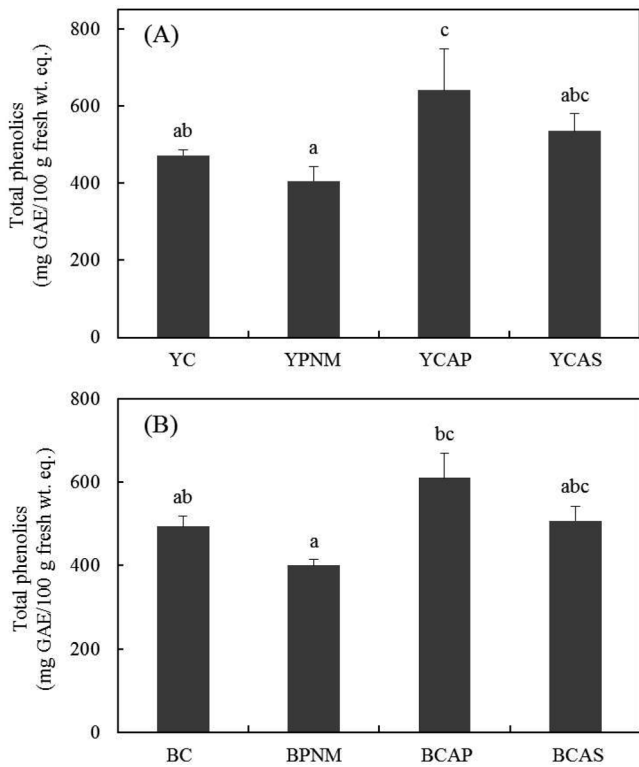


Fig. 1. Total phenolic content of cheonggukjang extracts. A, cheonggukjang prepared with yellow soybean; B, cheonggukjang prepared with black soybean. Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. GAE, gallic acid equivalents; YC, yellow soybean cheonggukjang; YPNM, non-fermented mixture of yellow soybean and purple sweet potato; YCAP, yellow soybean cheonggukjang prepared with addition of purple sweet potato; YCAS, yellow soybean cheonggukjang prepared with addition of sweet potato; BC, black soybean cheonggukjang; BPNM, non-fermented mixture of black soybean and purple sweet potato; BCAP, black soybean cheonggukjang prepared with addition of purple sweet potato; BCAS, black soybean cheonggukjang prepared with addition of sweet potato.

함량을 비교하였다. 그 결과(Fig 1A), 자색고구마 첨가 청국장(YCAP, 640.4 mg/100 g)이 자색고구마를 첨가하지 않은 청국장(YC, 472.7 mg/100 g)보다 총 페놀성 화합물의 함량이 유의적으로 높았으며, 일반고구마 첨가 청국장(YCAS, 535.8 mg/100 g)에 비해서도 자색고구마를 첨가한 청국장(YCAP)이 더 높은 경향을 보였다. 또한 발효를 행하여 제조된 자색고구마 첨가 청국장(YCAP)의 총 페놀성 함량이 발효를 행하지 않은 자색고구마 첨가 노랑콩 시료의 함량(YPNM, 405.8 mg/100 g)보다 유의하게 더 상승됨이 관찰되었다.

검정콩을 원료로 하여 제조된 청국장들 간의 총 페놀성 함량을 비교하였다. 그 결과(Fig 1B), 노랑콩을 원료로 하여 제조된 시료들로부터 관찰된 결과와 매우 유사한 경향이 관찰되었다. 즉, 자색고구마 첨가 검정콩 청국장(BCAP, 610.9 mg/100 g)이 자색고구마를 첨가하지 않은 검정콩 청국장(BC, 493.3 mg/100 g)보다 더 높은 경향의 총 페놀성 함량을 보였으며, 일반고구마로 제조한 청국장(BCAS, 507.8 mg/100 g)에 비해서도 자색고구마를 첨가한 청국장(BCAP)의 총 페놀성 화합물의 함량이 더 높은 경향을 보였다. 그리고 자색고구마와 검정콩을 혼합하여 발효를 행하지 않은 시료(BPNM, 399.9 mg/100 g)보다 자색고구마 첨가 검정

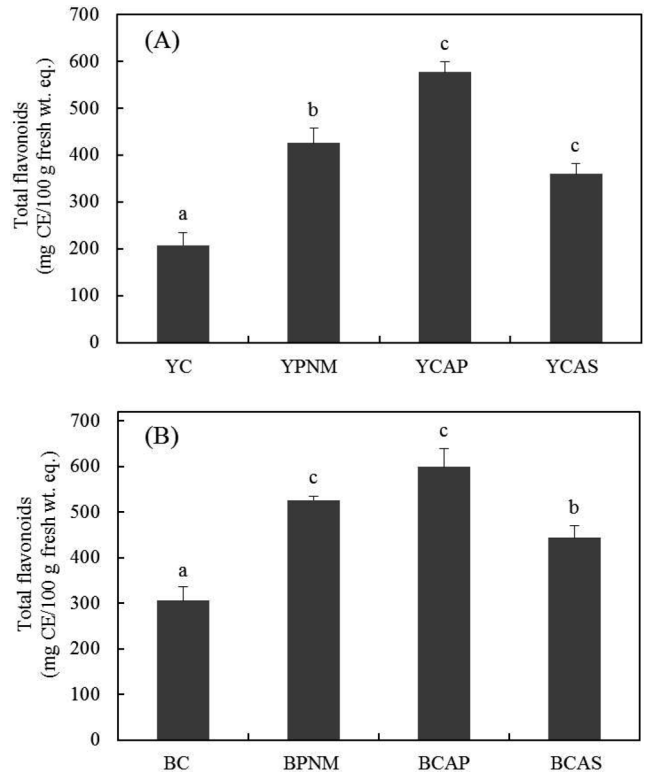


Fig. 2. Total flavonoid content of cheonggukjang extracts. A, cheonggukjang prepared with yellow soybean; B, cheonggukjang prepared with black soybean. Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. CE, catechin equivalent. Abbreviations are described in the Fig. 1 legend.

콩을 발효를 행하여 제조한 청국장 시료(BCAP)에 있어 총 페놀성 화합물의 함량이 유의하게 더 높게 나타났다.

노랑콩 청국장과 검정콩 청국장 모두에 있어 자색고구마를 첨가하여 청국장을 제조함으로써 총 페놀성 화합물의 함량이 증가하였다. 그리고 그 함량 증가는 일반고구마를 첨가했을 때보다 자색고구마를 첨가했을 때 더 높은 경향을 보였다. 이러한 결과는 일반고구마보다 자색고구마가 총 페놀성 함량이 더 높음을 시사하고 있으며, 특히 발효를 행함으로써 총 페놀성 함량이 증가했던 것은 대두는 물론 자색고구마의 원재료에 함유된 배당체 형태의 isoflavonoid 및 anthocyan계 화합물들로부터 aglycone이 유리되고 추가적인 분해가 진행됨으로써 다양한 페놀성 화합물들이 새롭게 생성되었기 때문일 것으로 판단된다.

총 flavonoid 함량

총 flavonoid 함량 또한 노랑콩을 원료로 하여 제조된 청국장들 간의 함량을 먼저 비교하였다. 그 결과(Fig 2A), 자색고구마 첨가 노랑콩 청국장(YCAP, 577.1 mg/100 g)이 자색고구마를 첨가하지 않은 노랑콩의 일반 청국장(YC, 207.0 mg/100 g)보다 총 flavonoid의 함량이 유의하게 더 높은 값을 보였으며, 일반고구마를 첨가한 노랑콩 청국장(YCAS, 359.7 mg/100 g)과의 비교에 있어서도 자색고구마 첨가 노랑콩 청국장이 유의하게 더 높은 함량을 보였다. 청국장의 발효 유무에 대해서도 검토를 행한 결과, 발효를 행하지 않은 자색고구마 첨가 노랑콩 혼합 시료(YPNM, 426.0 mg/100 g)보다 발효후 청국장의 총 flavonoid 함량이 유의하게 더 높게 나타났다.

이어, 검정콩을 원료로 하여 제조된 청국장들 간의 총 flavonoid 함량을 비교한 결과(Fig 2B), 이 또한 노랑콩으로 제조한 청국장들의 경우와 매우 유사한 경향이 관찰되었다. 즉, 자색고구마 첨가 검정콩 청국장(BCAP, 599.1 mg/100 g)이 자색고구마를 첨가하지 않은 검정콩 청국장(BC, 306.0 mg/100 g)보다 유의하게 더 높은 함량을 보였으며, 일반고구마 첨가 검정콩 청국장(BCAS, 443.5 mg/100 g)과의 비교에 있어서도 자색고구마 첨가 검정콩 청국장이 더 높은 경향을 보였다. 그리고 청국장의 발효 유무에 있어서는 발효를 행하지 않은 검정콩과 자색고구마의 혼합 시료(BPNM, 526.3 mg/100 g)와 발효를 행한 자색고구마 검정콩 청국장(BCAP)의 결과는, 유의적인 함량 차이는 관찰되지 않았지만, 발효 후의 청국장에 있어 더 높은 경향을 나타냈다.

발효에 따른 총 flavonoid의 함량이 증가하였던 것은 발효가 진행됨으로써 배당체형태의 flavonoid들로부터 aglycone이 유리됨으로써 유리형의 페놀성 수산기가 증가했기 때문으로 추측되며, 상기의 총 페놀성 함량의 결과와도 상관성이 있는 것으로 판단된다. 뿐만 아니라 이 같은 결과는 자색고구마에 함유된 anthocyan의 함량(29)이 대두의 주요 flavonoid인 isoflavonoid의 함량(30)보다 약 1.5배 정도 높았던 것으로부터도 기능성 강화 측면에 있어 의미있는 결과라 해석되었다. 또 노랑콩과 검정콩 양자 모두 자색고구마가 첨가됨으로써 자색고구마 무첨가 청국장들에 비해 총 flavonoid 함량이 약 2배 또는 그 이상 증가된 것은 다양한 생리활성의 원인 화합물인 flavonoid의 기능성 강화 측면에 있어 매우 긍정적인 현상이라 판단된다.

DPPH radical-scavenging 활성

DPPH를 이용한 본 항산화 활성평가는 자색고구마 및 검정콩에 함유된 색소 성분에 의한 흡광도 값의 영향을 배제하기 위해 spectrophotometer를 이용하지 않고, DPPH를 선택적으로 분석가능한 HPLC 분석법을 적용하였다.

청국장 추출물 8 μ L (청국장 wet wt. 8 mg eq.)를 대상으로 DPPH (최종농도, 250 μ M) radical-scavenging 활성을 평가한 결과(Fig 3A), 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장 모두 자색고구마 첨가 청국장이 무첨가 청국장보다 월등히 높은 활성을 나타냈다. 노랑콩을 이용한 경우, 자색고구마를 첨가하지 않은 일반 청국장(YC)보다 자색고구마 첨가 청국장(YCAP)이 유의하게 더 높은 radical-scavenging 효과를 보였으며, 일반고구마 첨가 청국장(YCAS)과의 비교에 있어서도 3배 이상의 높은 활성을 나타냈다.

또, 검정콩 청국장의 결과(Fig 3B)에 있어서도 자색고구마 첨가 청국장(BCAP)이 일반고구마 첨가 청국장(BCAS)과 자색고구마를 첨가하지 않은 청국장(BC)에 비해 유의하게 더 높은 radical-scavenging 활성을 나타냈다. 발효하지 않은 자색고구마와 검정콩의 혼합 시료(BPNM)와 비교해 보았을 때도 유의차는 인정되지 않았으나 자색고구마 첨가 검정콩 청국장이 더 높은 활성을 나타냈다.

이와 같은 결과는 앞서 행한 총 페놀성과 총 flavonoid 함량 분석에서 관찰된 결과들로부터도 추측되었듯이 발효과정 중에 생성되는 flavonoid를 포함한 다양한 페놀성 화합물들의 함량변화로부터 기인한 결과라 판단된다.

쥐 혈장 산화에 대한 CE-OOH 생성 억제능

콜레스테롤은 혈액 중에서 주로 저밀도지단백(low density lipoprotein, LDL)과 고밀도지단백(high density lipoprotein, HDL)에 함유되어 운반된다(31). 그 중 LDL의 산화는 동맥경화 발병원인 중 하나로 잘 알려져 있다. LDL은 산화에 민감한 cholesterol 및

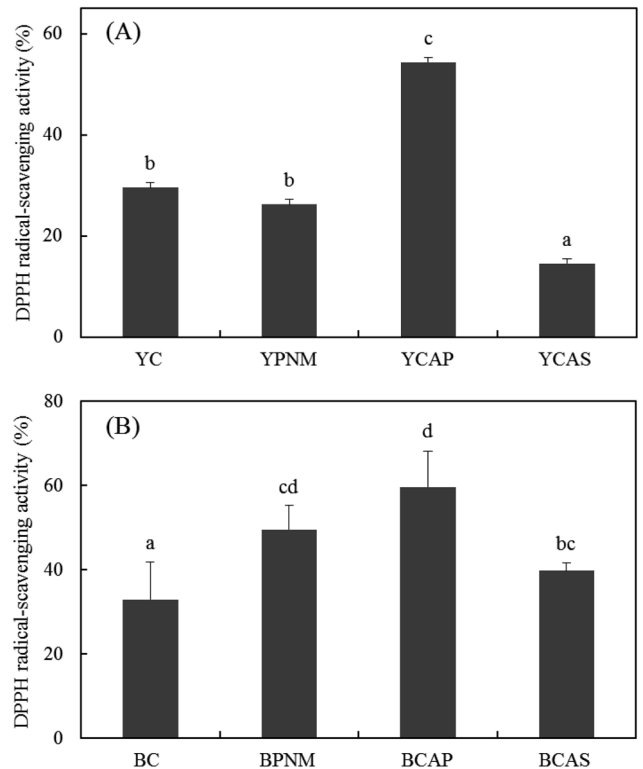


Fig. 3. DPPH radical-scavenging activity of cheonggukjang extract. A, cheonggukjang prepared with yellow soybean; B, cheonggukjang prepared with black soybean. Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. Abbreviations are described in the Fig. 1 legend.

cholesteryl ester를 50% 정도 함유하여 산화에 민감하기 때문이며, 혈중에서 산화된 LDL은 혈관 내피세포를 통과하는 과정에서 macrophage에 혼입되어 foam cell을 형성하고, 이 foam cell이 혈관 벽에 침착되어 plaque를 형성해 동맥경화를 유발하게 된다(31). 따라서 지단백질을 함유하고 있는 혈장이나 LDL의 산화 억제 정도는 혈액의 항산화능 및 동맥경화 예방 효과를 평가하는 하나의 지표로 활용된다. 그래서 본 연구에서는 혈장 산화시 형성되는 cholesteryl ester hydroperoxide (CE-OOH)를 혈장산화의 지표 성분으로 하여 자색고구마 첨가 청국장 추출물을 쥐에 투여한 후에 얻어진 혈장의 산화 억제효과를 평가하였다.

청국장 섭취에 의해 혈중 항산화능 향상에 의한 동맥경화 억제효과를 평가하기 위해 노랑콩과 검정콩 모두 자색고구마 무첨가군과 첨가군의 청국장을 제조하여 각 시료의 추출물을 쥐에게 경구투여한 후, 각 군의 쥐로부터 얻어진 혈장을 대상으로 동일한 유도산화에 대한 CE-OOH 생성 억제능을 비교하였다.

그 결과(Fig. 4), 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장 모두에 있어 자색고구마 첨가 유무에 관계없이 청국장 추출물을 투여하지 않은 대조군의 혈장에 비해 청국장 추출물을 투여한 군의 혈장이 보다 현저한 CE-OOH 생성 억제효과를 보임을 알 수 있었다. 이것은 노랑콩과 검정콩 그리고 자색고구마 첨가 유무에 관계없이 청국장을 섭취함으로써 혈액의 항산화능이 향상됨을 의미하는 결과로써 청국장의 우수성이 시사된 의미있는 결과라 판단된다. 그에 더하여 자색고구마를 첨가한 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장이 자색고구마를 첨가하지 않은 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장에 비해 노랑콩과 검정콩 청국장 모두 CE-OOH 생성을 현저

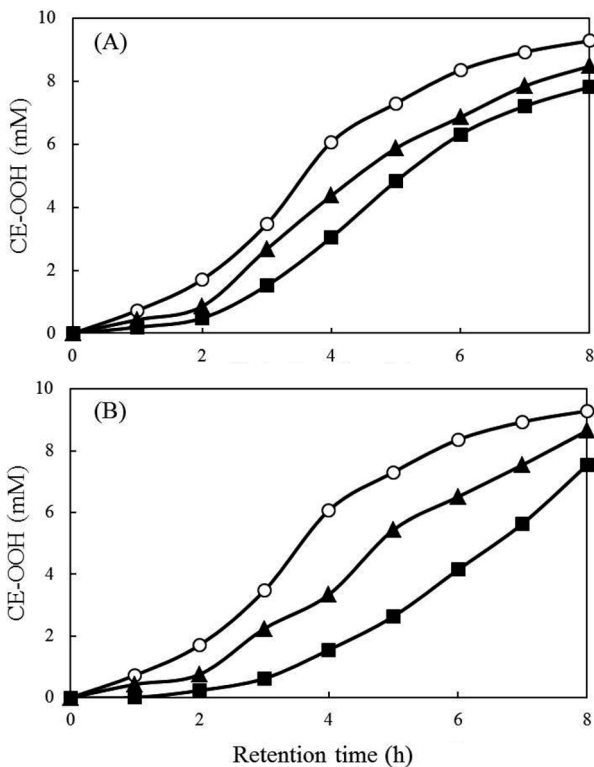


Fig. 4. Inhibitory effect of rat plasma after oral administration of *cheonggukjang* extract against copper ion-induced oxidation. A, *cheonggukjang* prepared with yellow soybean; B, *cheonggukjang* prepared with black soybean. ○, Control rat plasma; ▲, rat plasma 1 h after oral administration of *cheonggukjang*; ■, rat plasma 1 h after oral administration of *cheonggukjang* prepared with addition of purple sweet potato. The plasma pooled in the same volume from rats ($n=4$) of each group were diluted 4 times with PBS buffer (pH 7.4) and incubated with 100 mM (final concentration) CuSO_4 to induce CE-OOH formation. The data are representative of two experiments.

히 지연시킴이 확인되었다(Fig. 4). 본 결과로부터 자색고구마를 첨가하여 제조한 청국장을 섭취함으로써 일반 청국장을 섭취했을 때보다 더 효과적인 혈중 항산화능 향상 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다. 이와 같은 결과들로부터 자색고구마 첨가 청국장의 상시 섭취는 혈액 중에서 항산화능을 향상시킴으로써 산화에 민감한 LDL의 산화억제에 유익하게 작용하여 동맥경화 등과 같은 순환기계질환을 예방하는데 긍정적으로 작용할 가능성이 높을 것으로 기대된다.

이상의 결과들을 통하여 자색고구마를 첨가하여 청국장을 제조함으로써 청국장의 기능성이 향상됨을 알 수 있었다. 이와 같은 성과가 아직도 애호가층이 넓지 않은 청국장 시장의 활성화에 기여할 수 있는 자료로 활용될 수 있기를 기대함은 물론, 자색고구마의 활용성 확대에도 일익을 담당할 수 있기를 기대한다.

요약

노랑콩과 검정콩 각각을 이용하여 자색고구마를 첨가한 청국장을 제조 후, 그 함유성분의 특성 분석과 기능성 평가를 위한 *in vitro* 및 동물실험을 행하였다. 관능평가 결과, 자색고구마의 최적 첨가 비율은 노랑콩과 검정콩 모두 원료 콩 중량비의 20%인 것으로 나타났다. 그래서 자색고구마 20%를 첨가하여 제조한

청국장과 자색고구마를 첨가하지 않은 노랑콩 청국장 및 검정콩 청국장을 대상으로 그들의 특성을 비교한 결과, 자색고구마 첨가군이 자색고구마 무첨가군보다 총 페놀성 및 flavonoid 함량에 있어 유의하게 더 높은 결과를 나타냈다. 또한 발효를 행하지 않은 자색고구마 첨가 시료들과 비교하였을 때에도 발효를 행한 시료들이 보다 더 높은 함량을 나타냈다. 그리고 DPPH radical-scavenging 활성을 비교한 결과에서도 자색고구마 첨가 청국장의 실험군이 자색고구마 무첨가 청국장 군들에 비해 더 높은 DPPH radical-scavenging 효과를 나타냈다. 또 동이온 유도산화에 따른 쥐 혈장 산화억제능 평가에 있어서도 자색고구마를 첨가하여 제조한 청국장 추출물을 투여한 군의 혈장이 청국장 추출물을 투여하지 않은 대조군과 자색고구마를 첨가하지 않은 일반 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장들에 비해 산화가 더 효과적으로 억제됨을 알 수 있었다. 이상의 결과들은 자색고구마에 함유된 anthocyan 등의 유효성분 및 발효과정 중에 생성된 대사산물에 의해 생리활성이 향상된 것으로 판단되며, 자색고구마의 유용성 확대 및 청국장 제조산업에 유용한 자료로 활용되길 기대한다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 무안군의 지역농산물 가공기술 표준화 영역의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

References

- Lee YL, Kim SH, Jung NH, Lim MH. A study on the production of viscous substance during the *chungkookjang* fermentation. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 35: 202-209 (1992)
- Joo EY, Park CS. Antioxidant and fibrinolytic activities of extracts from soybean and *chungkukjang* (fermented soybean paste). Korean J. Food Preserv. 18: 930-937 (2011)
- Okamoto A, Hanagata H, Kawamura T, Koizume Y, Yanagida F. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activities of various fermented foods. Biosci. Biotech. Bioch. 59: 1147-1149 (1995)
- Kim US, Kim JY, Kim SJ, Moon KH, Baek SH. Isoflavone contents, antibacterial activities, and physiological activities of *cheonggukjang* made from sword bean. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 174-181 (2012)
- Min HK, Kim HJ, Chang HC. Growth-inhibitory effect of the extract of porphyran-*chungkookjang* on cancer cell. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37: 826-833 (2008)
- Yoo CK, Seo WS, Lee CS, Kang SM. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from *chungkookjang*. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26: 506-514 (1998)
- Lee BY, Kim DM, Kim KI. Physicochemical properties of viscous substance extracted from *chungkookjang*. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 599-604 (1991)
- Park JS, Cho SH, Na HW. Properties of *cheonggukjang* prepared with admixed medicinal herb powder. Korean J. Food Preserv. 17: 343-350 (2010)
- 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)
- Kim JH, Kim SI, Kim JG, Im, 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)
- Jeong YJ, Woo SM, Kwon JH, Choi MS, Seong JH, Lee JW. Quality characteristics of red ginseng *cheonggukjang* according to addition methods of red ginseng. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 889-895 (2007)
- In JP, Lee SK, Ahn BK, Chung IM, Jang CH. Flavor improve-

- ment of *chungkookjang* by addition of yucca (*yucca shidigera*) extract. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 57-64 (2002)
13. Rhim JW, Lee JW, Jo Js, Yeo KM. Pilot plant scale extraction and concentration of purple-fleshed sweet potato anthocyanin pigment. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 808-811 (2001)
 14. Kim SY, Ryu CH. Studies on nutritional components of purple sweet potato (*Ipomoea batatas*). Korean J. Food Sci. Technol. 27: 819-825 (1995)
 15. Choi EJ, Lee JH. Quality and antioxidant properties of jelly incorporated with purple sweet potato concentrate. Korean J. Food Sci. Technol. 45: 47-52 (2013)
 16. Kim SY, Ryu CH. Effect of certain additives on bread-marking quality of wheat-purple sweet potato flours. Koran J. Food Sci. Technol. 13: 492-499 (1995)
 17. Cho HK, Lee JY, Seo WT, Kim MK, Cho KM. Quality characteristics and antioxidant effects during *makgeolli* fermentation by purple sweet potato-rice *nuruk*. Koran J. Food Sci. Technol. 44: 728-735 (2012)
 18. Ahn GJ. Quality characteristics of *sulgidduk* prepared with amount of purple sweet-potato powder. Korean J. Culinary Res. 16: 127-136 (2010)
 19. Record IR, Dreosit IE, Melnerney JK. The antioxidant activity of genistein *in vitro*. J. Nutr. Biochem. 6: 481-485 (1995)
 20. Wei H, Cai Q, Rahn R. Inhibition of UV light and fenton reaction-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. Carcinogenesis 17: 73-78 (1996)
 21. Kim HE, Han SY, Jung JB, Ko JM, Kim YS. Quality characteristics of *doenjang* (soybean paste) prepared with germinated regular soybean and black soybean. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 361-368 (2011)
 22. Shon MY, Seo KI, LEE SW, Choi SH, Sung NJ. Biological activities of *chungkugjang* prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 936-941 (2000)
 23. Cho JI, Cho SH, Cho SH. Soybean food product fermented by *Bacillus subtilis* chungkook16. Repub. Korea patent 10-2006-0072105 (2006)
 24. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
 25. Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 847-853 (1997)
 26. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Biosci. Biotechnol. Bioch. 62: 1201-1204 (1998)
 27. Kim GD, Lee YS, Cho JY, Lee YH, Choi KJ, Lee Y, Han TH, Lee SH, Park KH, Moon JH. Comparison of the content of bioactive substances and the inhibitory effects against rat plasma oxidation of conventional and organic hot pepper (*Capsicum annum* L.). J. Agr. Food Chem. 58: 12300-12306 (2010)
 28. Kim JH, Kim SI, Kim JG, Im 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)
 29. Kim JM, Park SJ, Lee CS, Ren C, Kim SS, Shin MS. Functional properties of different Korean sweet potato varieties. Food Sci. Biotechnol. 20: 1501-1507 (2011)
 30. Wang HJ, Murphy PA. Isoflavone content in commercial soybean foods. J. Agr. Food Chem. 42: 1666-1673 (1994)
 31. Goldstein JL, Ho YK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 333-337 (1979)