pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 29. No. 5, 785~794 (2016)
http://dx.doi.org/10.9799/ksfan.2016.29.5.785

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

저장기간에 따른 전통된장과 개량식된장의 이화학적 특성, 기능성분 및 대사체 분석

§강희주 · §김진희 · 김리랑 · 김강성* · 홍상필** · †김민정 · †양혜정
한국식품연구원 대사영양연구본부, *용인대학교 식품영양학과, **한국식품연구원 전략산업연구본부

Quality Characteristics and Composition Profile of Traditional *Doenjang* and Manufactured *Doenjang* during Storage Time

§Hee-Joo Kang, §Jin-Hee Kim, Ri-Rang Kim, Kang Sung Kim*, Sang-Phi Hong**, †Min-Jung Kim and †Hye Jeong Yang
Division of Nutrition and Metabolism Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 13539, Korea
**Division of Strategic Food Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 13539, Korea*
***Dept. of Food and Nutrition, Yong-In University, Yongin 17092, Korea*

Abstract

This research was conducted to evaluate quality changes in traditional *Doenjang* and manufactured *Doenjang* during a storage period of 8 weeks. Low-salt *Doenjang* and commercial *Doenjang* were purchased from different manufacturers and proximate analysis as well as changes in isoflavone, polyphenol, flavonoid contents of the samples were investigated using a mass spectrophotometer. The salinity of traditional *Doenjang*, low salt *Doenjang*, and commercial *Doenjang* were 13.2±1.15, 7.17±2.74, 10.67±0.35%, respectively and the salt concentrations of the soybean pastes did not change during storage. After 8 weeks at 35℃, chromatic values of all the paste samples decreased somewhat, with traditional *Doenjang* exhibiting fewer changes as compared to manufactured *Doenjang*. Amino acid nitrogen, acidity, microbial population all tended to increase with time, although some samples showed fluctuations during the test period. Moreover, the total isoflavone contents of traditional *Doenjang* increased with storage time while that of manufactured *Doenjang* tended to decrease. The isoflavone aglycone was shown to be the highest in traditional *Doenjang*, while isoflavone glycoside was abundant in manufactured *Doenjang*. Total flavonoid contents showed similar trends regardless of samples; initial contents of total flavonoid was 0.6 mg/g which increased to more than twice to 1.4 mg/g at the end of storage period. Composition profile of *Doenjang* extracts was analyzed using UPLC-Q-ToF.

Key words: *Doenjang*, composition profile, metabolites, functional compounds, quality property

서 론

된장은 대두를 주원료로 하여 일정기간 동안 발효 숙성시켜 제조하는 우리식생활의 단백질 공급원으로서도 중요한 장류식품 중 하나이다(Ahn 등 2016). 된장의 관능적 품질은 일반적으로 맛, 향기 및 색깔 등에 의해 결정되어 지는데, 맛의 경우 발효 숙성과정에서 콩 단백질로부터 생성된 아미노산에 기인하며, 여기에 미량의 당분과 소금의 짠 맛이 조화되어 맛을 향상시키게 된다(Yang 등 1992). 향기와 색깔은 발효과정에서 생성된 휘발성 성분과 미생물 발효에서 생성되는

§,† Equal Contribution
† Corresponding author: Hye Jeong Yang, Division of Nutrition and Metabolism Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 13539, Korea. Tel: +82-31-780-9341, Fax: +82-31-780-9306, E-mail: yhj@kfri.re.kr

색이 조합되어 된장의 관능적 품질이 결정된다(Lee 등 2009). 된장은 제조방법에 따라 전통된장과 개량식된장으로 구별될 수 있으며, 전통된장은 개량식된장보다 제조기간이 오래 걸리고 자연발효 방식을 취하므로 잡균의 혼입과 같은 문제점을 지닐 가능성이 있으나(Ku 등 2014) 발효과정 중에 생긴 펩타이드, 아미노산, 당, 인지질 등의 대사산물은 주된 맛을 내는 성분이며 우리 몸을 건강하게 해주는 각종 기능성 성분으로 알려져, 오늘날 세계 사람들이 우리나라 발효식품인 된장을 매우 건강한 식품으로 인식하게 되었다. 개량식된장은 코지 제조 시 종균을 사용하여 잡균의 오염을 줄이는 효과가 있으나, 전분질 원료를 혼입하여 사용하므로 콩 된장의 독특한 풍미가 결여되고 그 기능성도 전통된장과는 차이가 있다(Chang 등 2010). 또한, 최근에는 건강을 생각하는 소비자들에 기호에 따라 소금의 농도를 낮춘 다양한 저염된장이 개발, 판매되고 있다.

된장은 최근 국내외 다수의 연구자들에 의해 항비만(Bae 등 2013; Nam 등 2015), 항암(Jung 등 2006; Sim 등 2015), 항산화(Ahn 등 2012; Cha 등 2014; Shukla 등 2016), 항콜레스테롤(Lee 등 2010a), 혈압강하(Kim & Rhee 1990), 혈전용해(Kim SH 1998) 및 면역증진(Lee 등 1997)과 같은 연구가 진행되고 있으나 주로 전통된장과 개량식된장의 품질 및 유용성분을 비교하는 연구가 대부분이다(Choi DW 2003; Lee 등 2010b). 된장의 주요 생리활성 성분인 콩의 isoflavone은 발효가 진행되면서 glucoside 형태인 genistin, daidzin, glycitin이 효소 및 미생물의 대사에 의해 생체이용률이 높은 aglycone 형태의 genistein, daidzein, glycitein으로 전환된다(Coward 등 1993; Bowey 등 2003). 이처럼 된장의 주요 생리활성 성분은 폴리페놀류로서 이들 성분들에 대한 연구는 지속적으로 관심을 받아 왔으나 이들 화합물의 전반적인 비교와 규명보다는 단편적인 화합물의 분석만이 대부분 보고되어 왔다(Jo 등 2011). 된장의 제조, 숙성 및 저장과정에서 생성되고 변화하는 다양한 대사체 함량이 제조 방법에 따라 미치는 영향에 관한 자료는 그 중요도에 비하여 다소 미흡한 실정이다. 최근 청국장 및 메주에 함유된 대사체들을 분석하는 연구가 진행되고 있어 식품학 분야에 적극적으로 이용되고 있다(Park 등 2010; Kang 등 2011).

따라서, 본 연구에서는 전통된장 및 개량식된장의 이화학적, 미생물학적 변화를 분석하고, 저장과정 중에 이소플라본, 폴리페놀, 플라보노이드 및 대사체 변화를 분석하면서 각각의 제조방법별 유효 기능성성분 변화를 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 된장은 시중에 유통되고 있는 전통품질 인증을 받은 전통된장, 염도가 8% 이하인 저염된장, 개량식 방법으로 제조된 개량식된장을 각각 4종을 구입하여 저장 중 수분, 회분, pH, 적정산도, 아미노산성 질소, 색도, 미생물 등의 변화를 보기 위하여 항온(35℃)에서 8주간 저장하면서 가속시험으로 3반복 실험하여 분석하였다. 미생물 분석에 사용된 시료는 0~8주 동안 기간별로 채취하여 사용하였고, 그 외의 실험에 사용된 시료는 동결 건조하여 냉동보관하면서 시험분석에 사용하였다.

2. 이화학적 품질평가

수분 함량은 AOAC법의 상압가열건조법으로 105℃에서 측정하였으며, 회분은 550℃로 직접회화법으로 측정하였다. pH는 시료를 5 g을 증류수 45 mL에 교반한 후 pH meter(The Seven Compact S220, Mettler toledo, Schwerzenbach, Switzerland)로 상온에서 측정하였다. 염도는 염도계(SB-2000, ㈜유유계기상사, Seoul, Korea)로 측정하였고, 색도는 색차계(Choma Meter DP-400, Konica Minolta, Osaka, Japan)를 사용하여 표준판인 백색판(Y=92.7, x=0.3134, y=0.3194)으로 보정 후 L값(lightness), a값(redness-greenness), b값(yellowness-blueness)으로 3회 반복 측정하였다. 적정산도는 시료 2 g을 취해 100 mL의 증류수를 가한 후 pH meter로 0.1 N NaOH 용액으로 pH 8.3이 되도록 적정하여 소요된 0.1 N NaOH 용액을 이용하여 아미노산성 질소 함량을 산출하고, lactic acid로 환산하여 산도를 산출하였다.

3. 미생물 평가

된장 5 g을 stomacher bag에 넣은 뒤 멸균된 0.85% NaCl로 9배 희석하여 stomacher로 2분간 섞은 후 멸균 0.85% NaCl로 단계별로 희석하여 각각의 배지에 분주하였다. 일반세균수, 대장균군 및 대장균, 효모 및 곰팡이는 3M Petrifilm 배지를 사용하였다. 곰팡이 및 효모는 25℃, 48~72시간 배양 후 계수하였고, 대장균군은 35℃, 24~48시간 배양 후 계수하였다. 시료 1 g당 colony forming unit(CFU/g)으로 나타냈으며, 총균수, 곰팡이 및 효모의 검출을 위한 최소 한계치는 <1 log CFU/g 이하였다.

4. 총 페놀 함량 분석

동결건조된 된장 분말 1 g에 70% methanol 10 mL를 가한 후 4℃에서 15시간 동안 추출한 후 10분 동안 12,000 rpm에서 원심분리기(Beckman, CA, USA)를 이용하여 고형분을 제거하고 상등액만을 시료로 사용하였다. 상등액 1 mL를 시험관에 취하고 여기에 Folin-ciocalteau reagent 0.1 mL를 가한 뒤 혼합하여 실온에 방치한 다음, Na_2CO_3 포화용액 0.2 mL를 가

하여 혼합하였다. 그 후에 증류수 2 mL를 가하여 희석하고 실온, 암조건에서 1시간 방치한 후 원심분리하여 상등액만을 취하여 725 nm에서 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 정량하였다. 정량을 위한 검량선은 Gallic acid(Sigma Chemical Co, St. Louis, NO, USA) 1 mg을 70% methanol 1 mL에 용해시켜 20, 40, 60, 80 μg/mL가 되도록 조제한 후 시료용액과 같은 방법으로 처리하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

5. 총 플라보노이드 함량 분석

위와 같은 방법으로 추출한 시료용액 0.5 mL를 시험관에 취하여 여기에 diethylene glycol 5 mL를 가하여 혼합한 후 1 N-NaOH 0.5 mL를 가한 후 37℃ 수조에서 1시간 방치하였다. 그 후에 420 nm에서 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 정량하였다. 정량을 위한 검량선은 rutin(Sigma Chemical Co, St. Louis, NO, USA) 1 mg을 70% methanol 1 mL에 용해시켜 25, 50, 75, 100 μg/mL가 되도록 조제한 후 시료용액과 같은 방법으로 처리하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다.

6. 이소플라본 정량

동결건조된 된장 0.1 g을 채취하여 0.1% acetic acid의 70% methanol 1 mL를 가하여 실온에서 24시간 교반하여 추출하였다. 그 후 10분 동안 12,000 rpm에서 원심분리기를 이용하여 고형분을 제거하고 상등액을 모아 0.45 μm syringe filter로 여과하여 하여 HPLC system(Jasco, Tokyo, Japan)을 이용하여 분석하였다. YMC ODS-AM-303 C18 reverse-phase column을 사용하였고, 이동상은 A: 0.1% acetic acid in acetonitrile, B: 0.1% acetic acid in water로 A 용매를 0 min~15%, 50 min~35%, 60 min~100%, 75 min~15%로 복귀하여 5분 정도 유지시켜 안정화시켰다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min이었고, 시료주입량은 10 μL, column의 온도는 35℃로 사용하였으며 254 nm에서 분석하였다. 표준물질 daidzin, glycintin, genistin, daidzein, glycintein, genistein(Sigma Aldrich, St. Louis, NO, USA), malonyl-daidzin, malonyl-glycintin, malonyl-genistin, acetyl-daidzin, acetyl-glycintin, acetyl-genistin(Fujico, Kobe, Japan)을 사용하여 정량하였다.

7. 대사체 분석

각 된장의 대사체 변화와 주요성분의 분리 동정을 위하여 UPLC-Q-TOF MS(Waters, Ma, USA)를 이용하여 분석하였다. Binary solvent delivery system, auto-sampler, PDA detector가 연결된 UPLC system(Waters, Ma, USA)에 Acquity UPLC BEH C_{18}(2.1*100 mm, 1.7 μm; Waters)을 연결하여 0.1% FA가 함유된 DW(solvent A)로 equilibration시켰다. 시료를 5 μL loading 한 후 0.35 mL/min의 유속으로 solvent B(0.1% FA in acetonitrile)를 gradient 방법을 이용하여 분석하였다. Eluent는 PDA detecter와 Q-TOF-MS를 이용하여 분석하였다. Q-TOF-MS는 ESI positive mode에서 분석하였다. 분석 조건은, Capillary와 sampling cone voltage는 각각 2.78 kV와 26 V, source 온도는 110℃, desolvation flow는 700 L/h이었다. Q-TOF-MS data는 0.2 sec의 scan time과 0.02 sec의 interscan delay time 조건에서 m/z 50~1,200 범위에서 분석하였다. MS/MS spectra는 10~30 eV의 collision energy ramp에서 분석하였다. Precursor와 fragment ions의 정확한 mass값과 composition은 MassLynx(Waters)으로 계산하였으며 대사체 동정은 elemental composition analysis software와 online databases(www.chemspider, www.hmdb.ca 등)를 이용하였다.

8. 통계분석

대사체 분석을 위해 분석된 MS data는 SIMCA-P+를 이용한 다변량통계분석(PLS-DA; partial least square-discriminant analysis)을 사용하였다. 이상의 실험에서 얻어진 결과와 Mass intensities는 statistical package for social sciences(SPSS, 10.0)를 이용하여 One Way ANOVA 분석을 하였으며, 시료 간의 유의성은 Duncan's multiple range test로 $p<0.05$ 수준에서 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분 및 미생물 분석

본 연구에 사용한 전통된장(traditional *Doenjang*; TD), 저염된장(low-salt *Doenjang*; LSD) 및 개량식된장(commercial *Doenjang*; CD)의 일반성분 및 총세균수 평가 결과를 Table 1, 2에 각각 나타내었다. 제조방법이 다른 된장의 일반성분을 평가한 결과 염도의 경우 전통된장, 저염된장 및 개량식된장이 각각 13.3, 7.17 및 10.67%의 범위를 보였으며 수분의 경우 55.47, 40.11 및 44.38%로 나타났다. 조회분의 경우 10~15%의 범위를 보였다. Park 등(2000)은 우리나라 전국에 걸쳐 시판 중인 전통 된장 15점을 수집하여 분석한 결과 수분 함량은 평균적으로 49.5~58.9%, 조회분은 11.8~16.8%라고 보고하였는데, 본 실험에 사용된 전통된장의 경우 일반적으로 유통되는 전통된장과 비슷한 품질임을 확인할 수 있었다. 또한, 저염된장 및 개량식된장의 경우 염농도가 7.17% 및 10.67%로 나타났는데 이는 Lee & Kim(2012)이 보고한 저식염된장의 숙정 중 이화학적 특성 변화연구에서 사용한 된장과 비슷한 품질임을 확인할 수 있어 제조방법별 비교 연구에 적합하다고 판단하였다. 제조방법이 다른 된장의 미생물을 평가한 결과 총세균수의 경우 6.64~8.18 log CFU/g의 범위를 보였으며 곰팡이 효모의 경우 2.50~4.56 log CFU/g으로 나타났다. 대장균의 경

Table 1. Specification of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang* to initial time at 35℃

	Traditional *Doenjang*	Low-salt *Doenjang*	Commercial *Doenjang*
Salinity(%)	13.20±1.15	7.17±2.74	10.67±0.35
Moisture(%)	55.47±0.34	50.11±3.74	44.38±2.91
Ash(%)	14.94±0.77	10.00±2.65	12.46±0.52

Values are means±standard deviation (n=4).

Table 2. Contents of total aerobic bacterial, yeast/mold & coliform in traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang* to initial time at 35℃

	Microbial (log CFU/g)		
	Total aerobic bacteria	Yeat/Mold	Coliforms
Traditional *Doenjang*	8.18±0.15	4.56±0.89	ND
Low-salt *Doenjang*	6.54±0.83	3.85±1.21	ND
Commercial *Doenjang*	6.64±0.99	2.50±1.08	ND

Values are means±standard deviation (n=4).
ND: Not detected within the detection limit < 1 log CFU/g.

우 모든 실험구에서 검출되지 않았다(Table 2). 가속실험을 수행하기 전 된장의 총세균 및 곰팡이/효모의 colony 수가 적절범위임을 확인하였다(Kim 등 1999).

2. 저장기간에 따른 이화학적 품질 변화

저장기간에 따른 전통된장(TD), 저염된장(LSD) 및 개량식된장(CD)의 이화학적 품질 변화 및 색도 변화에 대한 평가 결과를 Fig. 1, 2에 각각 나타내었다. 제조방법이 다른 된장의 이화학적 품질을 평가한 결과 pH와 적정산도의 경우 모든 실험구에서 저장기간에 따른 통계적인 유의차이가 없는 것으로 나타났다. 된장의 숙성기간 동안 증가된다는 알려져 있는 아미노산성 질소의 경우 역시 저장기간에 따른 통계적 유의차가 없는 것으로 나타났다(Fig. 1). 일반적으로 된장을 저장할 경우 숙성과정 중 lactic acid, acetic acid, oxalic acid, succinic acid 등과 같은 미생물의 대사과정 중 생기는 유기산에 의해 pH는 감소하고 산도가 증가하는 것으로 보고되는데 본 연구에서는 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 이는 Ku 등(2014)이 된장 숙성기간(1~9년)이 경과함에 따라 pH 및 적정산도의 경우 큰 변화가 나타나지 않았다는 보고와 유사하였다. 본 실험에 사용된 시판 된장들은 이미 숙성을 거치기 때문에 저장기간 중 비슷한 품질을 유지하는 것으로 사료되었다. 저장 중 색도 변화를 분석한 결과 전통된장 및 개량식된장의 경우 황색도가 다소 낮아지는 것으로 나타났다. 적색도의 경우 전통

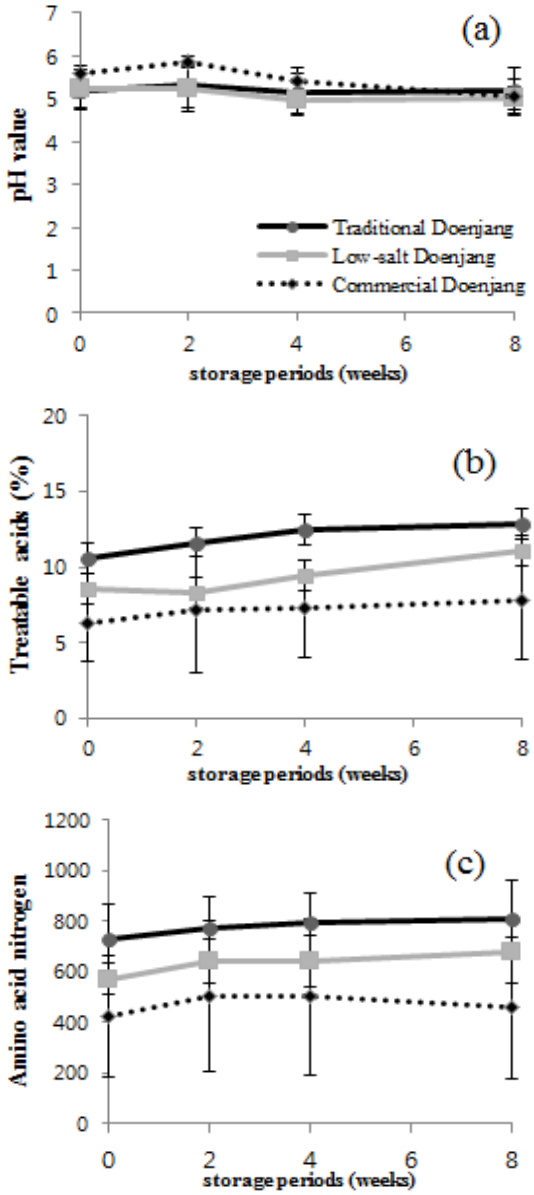


Fig. 1. Changes in pH (a), Titratable acidity (b) & amino nitrogen content (c) of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang*

된장만 낮아지는 것으로 나타났으나 통계적 유의 차이는 없었다. Kim JG(2004)과 Kwon 등(1998)은 된장 제조 후 1년 숙성 동안 색도를 측정하여 숙성기간에 따라 명도와 황색도는 감소하였으나 적색도는 거의 변화가 없다고 보고하였다. 또한 Jo 등(2011)도 장기간 숙성한 된장의 색도를 분석하여 숙성 기간이 증가함에 따라 명도와 황색도는 감소하고 적색도 역시 다소 감소한다고 보고하였다. 이상의 결과는 장류 식품의 발효 숙성 중의 색 변화 Maillard reaction, 효소 반응 및 ferrychrichin 생성에 의하며, 가열반응이 없는 된장의 경우는

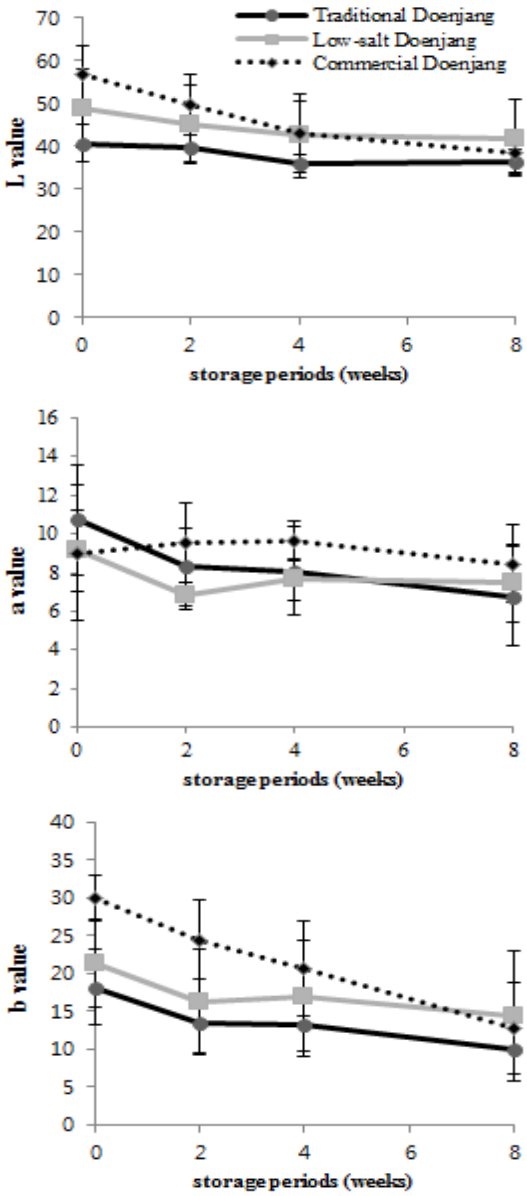


Fig. 2. Changes in color of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang*

효소적 색변화에 의한 가능성이 높다고 판단하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 명도와 황색도가 다소 감소하는 것으로 나타난 것은 숙성기간에 따른 상관관계가 있는 것으로 판단되었다.

3. 저장기간에 따른 총 페놀 및 플라보노이드 함량 변화

저장기간에 따른 전통된장(TD), 저염된장(LSD) 및 개량식된장(CD)의 총 페놀 및 플라보노이드 함량 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 제조방법이 다른 된장의 총 페놀 함량을 분석한 결과 전통된장, 저염된장 및 개량장식된장 모두 저장기간이

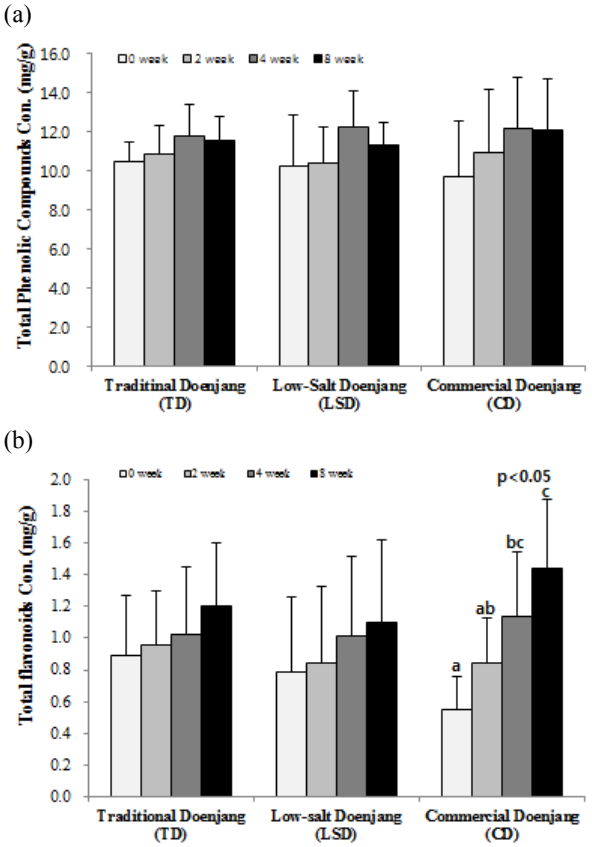


Fig. 3. Changes in total phenolic compounds (a) & total flavonoids (b) of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang*

증가할수록 총 페놀 함량이 다소 증가하는 것으로 나타났다. O & Kim(2007)도 동일 재료를 사용할지라도 발효 및 숙성과정이 길어질수록 페놀화합물 함량이 증가한다고 보고한 바 있다. 페놀성 물질은 식물계에 널리 분리되어 있는 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 가지고 있다. 된장과 같은 대두제품 등이 항산화 효과가 있음은 여러 연구결과를 통해 이미 알려져 있으며, 이러한 항산화 효과는 대두에 함유된 항산화 물질과 숙성과정 중 원료들의 분해에 의해 생성된 여러 아미노산, 펩타이드 성분들 및 용출된 페놀화합물 등에 의한 것으로 보고되고 있다(Cheigh 등 1990; Kim 등 1994). 따라서 제조방법에 관계없이 숙성을 할수록 대조구에 비해 높은 항산화력을 나타낼 수 있으며, 저장 8주 후 된장이 짧게 숙성시킨 된장에 비해 높은 총 페놀화합물의 양을 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과 전통된장, 저염된장 및 개량식된장 모두 저장기간이 증가할수록 총 페놀함량 변화와 비슷한 경향으로 숙성기간이 증가할수록 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 특히, 개량식된장의 경우 숙성기간이 증가함에 따라 유의적으로 총 플

라보노이드 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 플라보노이드는 페놀성 화합물의 한 그룹으로 일반적으로 과일류, 채소류 등에 다량 함유되어 있으나 콩류에서도 존재한다. 인체에서의 효능은 효소의 활성화, 항알레르기성, 항염증성, 항고혈압 등 치료 및 예방 등으로 알려져 있고, 항산화 효과가 강한 것이 일반적이다. 이상의 연구결과를 종합하여 볼 때 총 페놀성 화합물과 총 플라보노이드 함량의 증가는 숙성기간이 길어짐에 따라 높은 항산화력을 나타낼 것으로 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

4. 저장기간에 따른 이소플라본 함량 변화

저장기간에 따른 전통된장(TD), 저염된장(LSD) 및 개량식된장(CD)의 이소플라본 함량 변화 양상 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 제조방법이 다른 된장의 glycoside와 aglycone 형태의 이소플라본 변화를 저장기간에 따라 분석한 결과 전통된장은 배당체 형태인 glycoside가 거의 검출되지 않았으며, 비배당체 형태인 aglycone 형태만 검출되었다. 저염된장의 경우 전통된장과 비슷한 결과를 보였다. 반면 개량식된장의 경우 전통된장과 저염된장과는 다른 결과를 보였다. 일반적으로 된장 중의 이소플라본은 발효가 진행되면서 glucoside 형태인 genistin, daidzin, glycitin이 효소 및 미생물 대사에 의해 생체

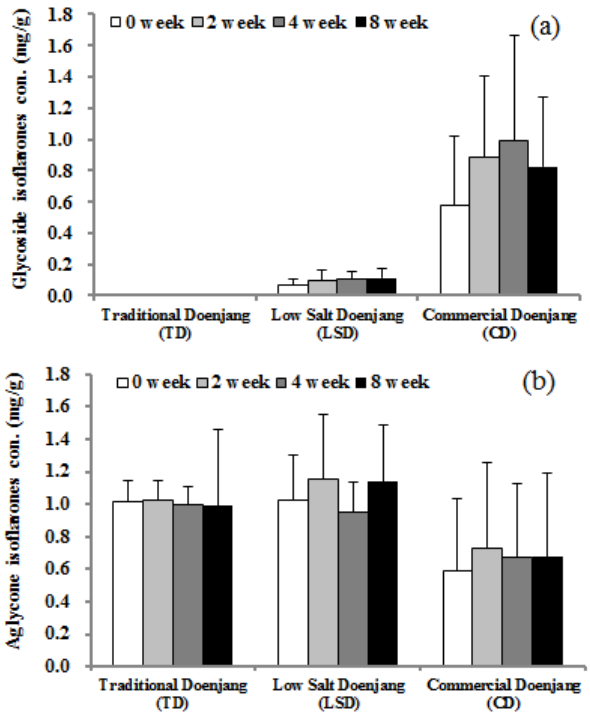


Fig. 4. Changes in glycoside isoflavones (a) & aglycone isoflavones (b) of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang*

이용률이 높은 aglycone 형태의 genistein, daidzein, glycitein으로 전환되는 것으로 보고되어 있다(Coward 등 1993; Bowey 등 2003). 또한 저장에 따른 전통된장의 이소플라본 함량을 측정한 결과, 배당체 형태는 미량 존재하였으며, 비배당체 형태가 숙성기간에 따라 증가하는 경향을 보인다고 하였다(Cheigh 등 1990). 또한 Jo 등(2011)에 따르면 된장은 발효과정을 거치면서 맛과 향뿐만 아니라 이소플라본, 사포닌과 같은 여러 건강 기능성 물질들이 만들어진다고 알려져 있는데, 특히 이소플라본은 콩의 유효성분 중 하나로 항산화 활성, LDL-콜레스테롤의 산화억제 및 콜레스테롤 저하작용 등을 가지는 것으로 보고된 바 있다(Jung 등 2006; Lee 등 2010a; Sim 등 2015). 이상의 연구를 종합하여 볼 때 제조방법별로 된장의 이소플라본 변화 양상에 차이를 보였으며, 이는 대두의 품종, 제조 공정, 미생물 분포, 함께 사용된 재료 및 함량 등에 의해 영향을 보이는 것으로 사료된다.

5. 제조방법이 다른 된장의 대사체 분석

제조방법과 저장기간이 다른 전통된장(TD), 저염된장(LSD) 및 공장식된장(CD)의 대사체 크로마토그램 및 이를 분석한 결과를 Fig. 5, 6에 나타내었다. 제조방법이 다른 전통, 저염 그리고 개량식된장의 LC/MS 크로마토그램의 peak는 차이를 보이는 것으로 나타났다(Fig. 5). 반면, 0주와 8주 동안의 저장기간에 따라서는 큰 차이를 보이지 않았다(data not shown). 된장의 대사체 변화를 분석하기 위하여 LC/MS를 이용하여 얻은 data를 SIMCA-P 프로그램을 이용하여 PLS-DA 다변량 통계분석을 실시하였다. 그 결과 quality parameter는 goodness를 측정하는 R^2X와 R^2Y는 각각 0.421, 0.857, 예측 가능성을 보는 Q^2Y는 0.533으로 나타났다(Fig. 6). 저장 8주 PLS-DA score plot을 평가한 결과 전통된장, 저염된장 및 개량식된장의 그룹 간 유의적 차이가 있는 것으로 나타났다($p<0.001$). 이를 대사체 loading plot를 이용하여 시각화하여 Fig. 6에 나타내었다.

그룹 분리에 관여하는 대사체들을 확인하기 위해 전체 대사체(1,055개) 중 유의수준 $p<0.05$와 VIP(variable importance in the projection) 값이 >1.0 이상인 것으로 통계분석한 후 동정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 제조방법이 다른 된장의 대사체들을 동정한 결과 된장의 기능성성분이나 품질지표가 될 수 있는 펩타이드, 아미노산 그리고 isoflavones 등을 확인할 수 있었다. 콩단백질 분해과정에서 생성되는 펩타이드는 ACE 저해활성, 항산화기능, 빠른 흡수력 및 콜레스테롤 상승억제 등의 기능성 효과를 가지고 있다고 알려져 있는데(Lee 등 2002), 본 연구에서는 Glu-Gln, Val-Thr, Leu-Pro, Ser-Pro, Val-Leu, Leu-Glu 그리고 Val-Gln 펩타이드 7종을 동정하였다. 특히 Glu-Gln의 경우 제조방법, 저장기간에 따라 전통, 저

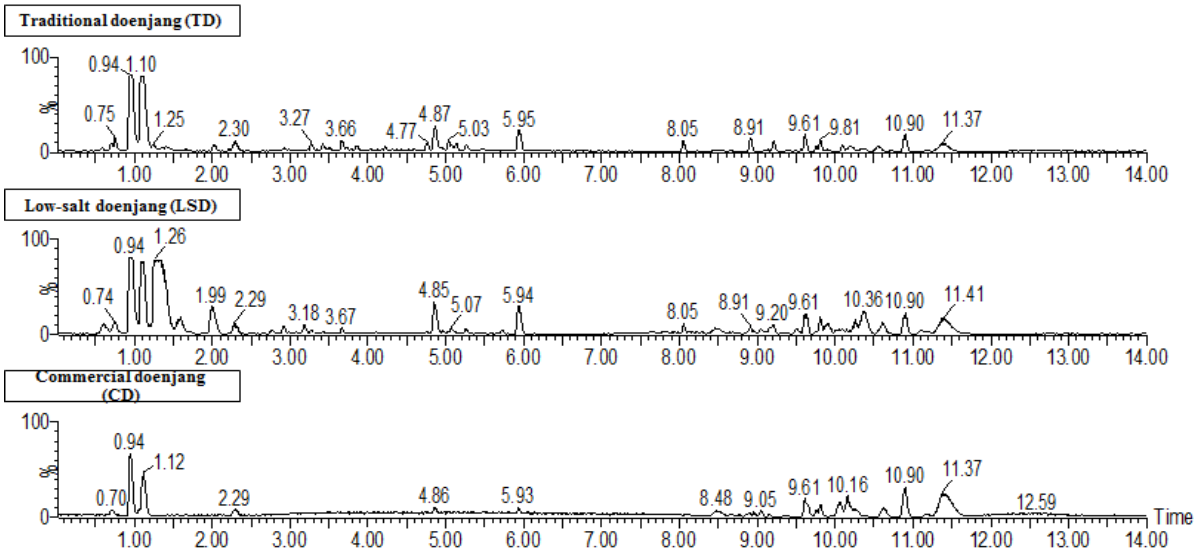
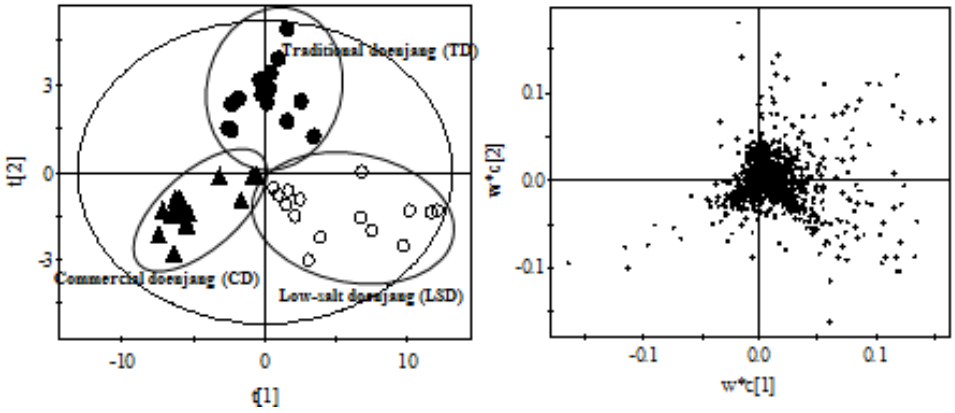


Fig. 5. UPLC-Q-TOF-MS base peak intensity (BPI) profiles of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang* & commercial *Doenjang* to initial time at 35℃



Models	R^2X_{cum} [a]	R^2Y_{cum} [a]	Q^2Y_{cum} [a]	R intercept [b]	Q intercept [b]	P [c]
TD &LSD &CD	0.421	0.857	0.533	0.361	−0.239	0.001

Fig. 6. PLS-DA score and loading plots derived from the UPLC-Q-TOF MS profile of the comparison for the each *Doenjang* group (traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang*, and commercial *Doenjang*. [a]: R^2X_{cum} and R^2Y_{cum} were the cumulative modeled variation in X and Y matrix, respectively, and Q^2Y_{cum} was the cumulative predicted variation in Y matrix. [b]: R and Q intercepts were obtained after permutation test (n=200). [c]: *p*-value obtained from 7-fold cross validation ANOVA.

염된장보다 개량식된장에서 유의적으로 높은 수치를 보였다. 이는 제조방법에 따라 사용된 재료(대두함량 등) 또는 발효기간 등의 차이인 것으로 판단하였다. 또한 전통된장과 저염된장의 경우 개량식된장보다 아미노산의 수치가 높은 것으로 보아 펩타이드에서 아미노산으로의 변화가 더 일어난 것으로 사료되었다. 일반적으로 발효과정 중 생성되는 아미노산의 함량이 높을수록 된장은 품질과 맛이 뛰어난 식품으로 평가하는데, 본 실험에서는 arginine, alanine, valine, isoleucine, tyrosine, proline, leucine, phenylalanine 그리고 tryptophan 총 9개의 아미노산이 동정되었고 맛에 영향을 끼치는 아미노산은 전통된장>저염된장>공장식 된장 순인 것으로 나타났다. 또한 쓴맛을 낸다고 알려져 있는 isoleucine, phenylalanine, valine 및 tryptophan은 비교적 높은 수치로 나타났고 단맛을 내는 alanine과 proline은 비교적 낮은 수치로 확인되어 제조방법에 따라 맛의 차이가 있을 것으로 예상하였다. Isoflavones은 항비만, 갱년기증상 완화 및 골다공증개선 등의 다양한 기

Table 3. Identification of traditional *Doenjang*, low-salt *Doenjang*, and commercial *Doenjang* metabolites by UPLC-Q=TOF mass spectrometry

Group	Ret. time	m/z	Formula [M+H] +	Identity	VIP*	Traditional *Doenjang*		Low-salt *Doenjang*		Commercial *Doenjang*		*p*-value
						0 week	8 week	0 week	8 week	0 week	8 week	
Peptides	0.9599	276.1549	C10H18N3O6	Glu-Gln	3.26	0.194	0.193	0.304	0.417	0.727	1.424	0.001
	1.1503	219.1466	C9H20N2O4	Val-Thr	1.65	0.194	0.176	0.200	0.184	0.061	0.051	0.007
	1.1883	229.165	C11H22N2O3	Leu-Pro	2.7	0.394	0.362	0.606	0.476	0.414	0.200	0.022
	1.2428	203.1484	C9H20N2O3	Ser-Pro	2.94	0.665	0.584	0.714	0.639	0.300	0.234	0.001
	1.7096	231.1819	C11H24N2O3	Val-Leu	3.17	0.000	0.000	0.269	0.277	0.043	0.113	0.001
	1.8558	261.1575	C11H22N2O5	Leu-Glu	1.8	0.179	0.241	0.027	0.039	0.096	0.136	0.008
	4.2174	247.1571	C10H20N2O5	Val-Glu	2.05	0.434	0.463	0.052	0.113	0.005	0.019	0.001
Amino acids	0.6207	175.1303	C6H15N4O2	Arginine	1.67	0.087	0.066	0.222	0.298	0.277	0.176	0.003
	0.7453	90.0612	C3H8NO2	Alanine	1.11	0.314	0.358	0.239	0.240	0.145	0.150	0.001
	0.7489	118.0896	C5H12NO2	Valine	1.9	1.115	1.835	1.243	1.221	0.918	0.492	0.032
	0.9561	132.0961	C6H14NO2	Isoleucine	3.11	6.612	7.228	6.373	5.718	6.048	5.775	0.048
	0.961	182.094	C9H12NO3	Tyrosine	1.34	0.157	0.165	0.118	0.111	0.192	0.162	0.005
	1.2388	116.0782	C5H10NO2	Proline	1.7	0.244	0.201	0.300	0.327	0.240	0.145	0.002
	1.243	132.1094	C6H14NO2	Leucine	2.15	0.635	0.510	0.494	0.525	0.343	0.096	0.001
	1.0975	166.0782	C9H13NO2	Phenylalanine	3.08	6.679	7.287	6.394	5.663	6.015	5.199	0.002
	1.5965	205.1048	C11H13N2O2	Tryptophan	2.38	1.300	1.124	0.884	0.358	1.142	0.295	0.026
Isoflavones	3.2002	417.1404	C21H20O9	Daidzin	1.25	0.000	0.000	0.001	0.000	0.094	0.086	0.001
	3.5933	433.1364	C21H20O10	Genistin	1.4	0.000	0.000	0.005	0.007	0.124	0.119	0.001
	4.8537	255.0751	C21H20O9	Diadzein	2.98	2.932	2.568	2.435	2.409	1.883	1.405	0.001
	4.9622	257.0837	C15H12O5	Dihydrodiadzin	1.72	0.000	0.000	0.217	0.034	0.000	0.000	0.005
	5.0682	285.0894	C16H12O5	Glycitein	2.13	0.887	0.835	0.664	0.595	0.370	0.291	0.001
	5.7181	273.0921	C15H12O4	Dihydrogenistin	2.14	0.000	0.086	0.163	0.027	0.000	0.000	0.008
	5.9324	271.0681	C15H10O5	Genistein	3.04	2.551	2.500	2.169	1.963	1.585	1.204	0.001
Other chemicals	0.7398	104.0715	C4H10NO2	v-Aminobutyric acid	1.48	0.265	0.295	0.233	0.387	0.005	0.017	0.045
	0.7521	144.113	C7H14NO2	L-Proline betaine	1.01	0.175	0.202	0.097	0.089	0.027	0.000	0.001
	2.0216	137.1147	C5H6N4O	hypoxanthine	2.31	0.348	0.255	0.027	0.016	0.013	0.028	0.001
	8.9484	520.3574	C26H51NO7P	LPC (18:2)	1.3	0.082	0.004	0.276	0.107	0.521	0.379	0.002

*VIP was variable importance in the projection and the value of more than 1.0 calculated by PLS-DA indicated high relevance for explaining the differences of sample groups. Different letters on the same line indicated significant differences at each p-value analyzed by ANOVA. All experiments were replicated five times.

능성 가지고 있다고 알려져 있다(Cassidy A 1996; Knight & Eden 1996; Setchell & Cassidy 1999). 본 연구에서는 daidzin, genistin, diadzein, dihydrodiadzin, glycitein, dihydrogenistin 그리고 genistein 등 총 7종의 isoflavones이 차이나는 것으로 확인되었다. 앞서 HPLC로 분석한 isoflavones 결과에서도 언급한 것과 같이 많은 연구에서 된장 중에 isoflavones은 발효과정을 거치면서 효소 및 미생물 대사에 의해 생체이용률이 높은 aglycone 형태로 전환된다고 알려져 있다. 이 중 glycoside 형태인 daidzin과 genistin, aglycone 형태인 diadzein, glycitein 그리고 genistein은 제조방법에 따라 다른 양상을 타나냈다. 즉, Glycoside 형태는 개량식된장에서 유의적으로 높게 나타났으나, 전통식된장과 저염된장에서는 낮은 함량이거나 거의 측정되지 않는 것으로 나타났다. 반면, aglycone 형태의 isoflavone은 개량식된장에서 보다 전통식된장과 저염식된장에서 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 기타 대사체들을 분석한 결과 GABA, L-proline betaine, hypoxanthine 그리고 LPC(18:2) 대사체를 확인하였다.

이중 GABA는 글루탐산에서 이산화탄소가 빠져 나가는 과정을 거쳐 효소로써 생성되는데, 신경전달물질로써 뇌세포 대사기능을 촉진하거나 신경안정제 역할을 하며 혈압강하, 이뇨작용 등의 기능성물질로써 알려져 있다(Park 등 2002; Leventhal 등 2003). 본 실험에서는 개량식된장에 비하여 전통식된장과 저염된장에서 유의적으로 GABA가 높은 것으로 나타났다.

요약 및 결론

본 연구는 전통된장과 저염된장, 개량식된장을 수집하여 저장 중 일반성분 분석 및 이소플라본, 폴리페놀, 플라보노이드 등 기능성성분 변화, 대사체 분석을 통해 제조방법별 저장기간에 따른 품질 변화 특성을 조사하였다. 저장 초기 전통된장, 저염된장, 개량식된장의 염도는 각각 13.2±1.15, 7.17±2.74, 10.67±0.35%이었고. 35℃에서 8주간 저장 실험한 결과 품질지표인 색도는 모두 낮아졌으나 전통된장은 개량식된장에 비해 색도 변화가 적었다. 아미노산성질소, 산도, 미생물 등은 된장 종류와 숙성기간, 사용된 메주, 발효방법에 따라 다소 불규칙한 변화를 보이긴 하였으나 대부분 증가하는 추세였다. 총 이소플라본의 경우 전통된장은 유의적으로 증가하였고 개량식된장은 다소 감소하는 경향을 보였으며, 이는 대두의 품종, 제조 공정, 미생물 분포, 함께 사용된 재료 및 함량 등에 의해 영향을 보이는 것으로 사료된다. 특히 생체이용률이 높은 aglycone (daidzin, glycitin, genistin) 형태의 이소플라본은 전통된장이 높은 수치를 보였고, glycoside(daidzein, glycitein, genistein) 형태의 이소플라본은 개량식된장에서 높게 나타났다. 총 플라보노이드의 경우 전통된장과 저염된장은 비슷한 경향으로 증가되었으며, 총 폴리페놀은 저장기간 동안 증가되는 경향을 보였으나 제조방법에 따른 차이는 확인할 수 없었다. 또한 UPLC-Q-ToF를 이용하여 된장 추출물의 전체 metabolite profile을 확인한 결과, 맛에 영향을 끼치는 아미노산이나 기능성물질로 알려진 GABA 등은 전통된장에서 높은 수치를 보였다. PLS-DA 결과 제조방법에 따라 된장의 맛과 기능성을 나타내는 대사체들의 양상이 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 대사체 분석을 통해 맛이나 기능성과 같은 품질에 대한 객관적 제시를 할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원 주요사업 '전통장류 대사/유전체 정보 분석연구(E0141501-03)'의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

Ahn EJ, Park WJ, Lee JH, Kim M. 2016. The nutritional analysis in fish/meat/*Doenjang* and wild herbs/fish/meat *Doenjang*. *Korean J Food Nutr* 29:171-177

Ahn JB, Park JA, Jo H, W I, Lee SH, Jang KI. 2012. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial *Doenjang* and traditional *Doenjang* in Korea. *Korean J Food Nutr* 25:142-148

Bae CR, Kwon DY, Cha YS. 2013. Anti-obesity effects of salted and unsalted *Doenjang* supplementation in C57BL/6J mice fed with high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1036-1042

Bowey E, Adlercreutz H, Rowlang I. 2003. Meabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: A study in germ-free and human flora associated rats. *Food Chem Toxicol* 41:631-636

Cassidy A. 1996. Physiological effects of phytoestrogens in relation cancer and other human health risk. *Proc Nutr Soc* 55:399-417

Cha YS, Park YS, Lee MS, Chae SW, Park KM, Kim YS, Lee HS. 2014. *Doenjang*, a Korean fermented soy food, exerts antiobesity and antioxidative activities in overweight subjects with the PPAR-2 C1431T polymorphism: 12-week, double-blind randomized clinical trial. *J Med Food* 17:119-127

Chang M, Kim IC, Chang HC. 2010. Effect of solar salt on the quality characteristics of *Doenjang*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:116-124

Cheigh HS, Park KS, Moon GS, Park KY. 1990. Antioxidative characteristics of fermented soybean paste and its extracts on the lipid oxidation. *J Korean Soc Food Nutr* 19:163-167

Choi DW. 2003. A plan for improving quality of traditional soybean paste. *J Korean J Food Nutr* 16:218-223

Choi YB, Sohn HS. 1998. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. *Korean J Food Sci Technol* 30:745-750

Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein and their β-glycoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 41:1961-1967

Jo SJ, Hong CO, Yang SY, Choi KK, Kim HK, Yang H, Lee KW. 2011. Changes in contents of γ-aminobutyric acid (GABA) and isoflavones in traditional Korean *Doenjang* by ripening periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:557-564

Jung KO, Park SY, Park KY. 2006. Longer aging time increases the anticancer and antimetastatic properties of *Doenjang*.

Nutrition 22:539-545

Kang HJ, Yang HJ, Kim MJ, Han ES, Kim HJ, Kwon DY. 2011. Metabolomic analysis of meju during fermentation by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS). *Food Chem* 127: 1056-1064

Kim JG. 2004. Changes of compounds affecting organoleptic quality during the ripening of traditional Korean soybean paste amino nitrogen, amino acids and color. *J Fd Hyg Safety* 19:31-37

Kim JS, Choi SH, Lee SD, Lee GH, Oh MJ. 1999. Quality changes of sterilzed soybean pasted during its storage. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:1069-1075

Kim MH, Im SS, Yoo YB, Kim GE, Lee JH. 1994. Antioxidative materials in domestic *Meju* and *Doenjang*. *J Korean Soc Food Nutr* 23:792-798

Kim MJ, Rhee HS. 1990. Studies on the changes of taste compounds during soy paste fermentation. *Korena J Soc Food Sci* 6:1-8

Kim SH. 1998. New trend of studying on potential activites of *Doenjang* fibriolytic activity. *Korean Soybean Digest* 15:8-15

Knight DC, Eden JA. 1996. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obnecol Gynecol* 87:897-904

Ku KH, Park KM, Kim HJ, Kim YS, Koo MS. 2014. Quality Characteristics of *Doenjang* by aging period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:720-728

Kwon DJ, Kim YJ, Kim HJ, Hong SS, Kim HK. 1998. Changes of color in *Doenjang* by different browning factors. *Korean J Food Sci Technol* 30:1000-1005

Lee BK, Jang YS, Yi SY, Chung KS, Choi SY. 1997. Immunomodulators extracted from Koran-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

Lee HT, Kim JH, Lee SS. 2009. Analysis of microbiological contamination and biogenic amines content in traditional and commercial *Doenjang*. *J Fd Hyg Safety* 24:102-109

Lee JJ, Kim AR, Lee H, Kim CH, Jang HC, Lee MR. 2010a. Effects of powders of soybean and *Doenjang* on cholesterol level and antioxidant activities in rats fed with a high cholesterol diet. *Journal of Life Science* 20:1134-1142

Lee MH, Park YH, OH HS, Kwak TS. 2002. Isoflavone content in soybean and its processed products. *Korean J Food Sci Technol* 34:365-369

Lee S, Kim DH. 2012. Changes in physicochemical properties of low-salt *Doenjang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 44:592-599

Lee SW, Park YW, Jang PS, Lee JH. 2010b. Isoflavone distribution and β-glucosidas activity in home-made and factory-produced *Doenjang*. *Korean J Food Sci Technol* 42:125-129

Leventhal AG, Wang YC, Pu ML, Zhou YF, Ma Y. 2003. GABA and its agonists improved visual cortical function in senscen monkey. *Science* 300:812-815

Nam YR, Won SB, Chung YS, Kwak CS, Kwon YH. 2015. Inhibitory effects of *Doenjang*, Korean traditional fermented soybean paste, on oxidative stress and inflammation in adipose tissue of mice fed a high-fat diet. *Nutrition Research and Practice* 9:235-241

O HJ, Kim CS. 2007. Antioxidant and nitrite scavenging ability of fermented sorybean foods (*Chungkukjnag*, *Doenjang*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:1503-1510

Park JH, Han SH, Shin MK, Park KH, Lim KC. 2002. Effect of hypertention falling of functional GABA green tea. *Korean J Medicinal Crop Sci* 10:37-40

Park MK, Cho IH, Lee S, Choi HK, Kwon DY, Kim YS. 2010. Metabolite profiling of *Cheonggukjang*, a fermented soybean paste, during fermetation by gas chromatography-mass spectrometry and principal compoent analysis. *Food Chem* 122: 1313-1319

Park SK, Seo KI, Choi SH, Moon JS, Lee YH. 2000. Quality assessment of commercial *Doenjang* prepared by traditional method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29:211-217

Setchell KDR, Cassidy A. 1999. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 129:758S-767S

Shukla S, Park J, Kim DH, Hong SY, Lee JS, Kim M. 2016. Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and α-glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture *Doenjang*, a Korean fermented soybean sauce variety. *Food Control* 59:854-861

Sim JA, Park US, Kim IS, Park GY. 2015. Antioxidative and anticancer effects of *Doenjang* prepared with bamboo salt in HT-29 human colon cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:524-531

Yang SH, Choi, MR Kim JK, Chung YG. 1992. Optimization of the taste components composition in traditional Korean soybean paste. *J Korean Soc Food Nutr* 21:449-453

Received 19 September, 2016
Revised 04 October, 2016
Accepted 24 October, 2016