

Preparation of *Cheonggukjang* added onion (*Allium cepa* L.) and its antioxidative activity

Minji Lee¹, Yu Geon Lee¹, Jung-Il Cho², Kwang-Chool Na², Eom Ji Hwang³,
Mi Seung Kim⁴, Jae-Hak Moon^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, and Functional Food Research Center, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

²Department of Food Nutrient and Culinary, Chosun College of Science and Technology, Gwangju 501-744, Korea

³Bioenergy Crop Research Center, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Muan 534-833, Korea

⁴Muan-gun Agritechology Center, Muan 534-803, Korea

양파(*Allium cepa* L.) 첨가 청국장의 제조 및 항산화능 평가

이민지¹ · 이유건¹ · 조정일² · 나광출² · 황엄지³ · 김미승⁴ · 문제학^{1*}

¹전남대학교 식품공학과 및 기능성식품연구센터, ²조선이공대학교 식품영양조리학과과,

³농촌진흥청 국립식량과학원 바이오에너지작물센터,

⁴무안군 농업기술센터

Abstract

Yellow and black soybean *Cheonggukjangs* (YBSC) prepared with an addition of onion (*Allium cepa* L.) in different contents (0, 5, 10, 20, and 30% w/w) were manufactured, and the sensory evaluation was carried out. The optimum addition ratio of onion was determined to be 20%. Total phenolic and flavonoid contents of YBSC prepared with an addition of onion were higher than those of the YBSC prepared without an onion. In addition, YBSC prepared with an addition of onion showed higher 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activities than those prepared without an onion. Furthermore, rat blood plasma 1 hour after oral administration of YBSC prepared with an onion was more effective in suppressing the accumulation of cholesteryl ester hydroperoxide than those prepared without onion and control. These results indicated that the consumption of the YBSC prepared with onion may contribute to the antioxidant defense *in vivo*.

Key words : onion, *Cheonggukjang*, total phenolics, yellow and black soybeans, antioxidant

서 론

양파(*Allium cepa* L.)는 우리나라는 물론 전 세계적으로 가장 많이 섭취되고 있는 근채류 채소 중의 하나로서 예로부터 해독, 장염, 해열, 이뇨, 소화촉진 등의 민간요법에 널리 사용되어 왔다(1). 그리고 양파 및 그 추출물의 항산화(2), 항암(3), 항균(4), 항염증(5), 항동맥경화(6) 활성 등의 다양한 효능이 보고된 바 있다. 이러한 양파의 생리활성은

양파에 다량 함유된 quercetin과 그 배당체 및 함황 화합물의 존재에 기인한 것으로 익히 알려져 있다(2,6,7). 양파는 독특한 향미와 풍미를 지니고 있어 예로부터 양념채소로 이용되어 왔다. 그래서 최근 양파를 첨가한 새로운 가공식품의 개발을 위한 시도가 다양하게 행해지고 있다(8,9). 그럼에도 불구하고 재배상황에 따라 과잉생산된 양파가 발생하고 있으며, 장기간의 저장에도 한계점이 인식되어 양파에 대한 추가적인 활용방안의 필요성이 대두되고 있다(10).

청국장은 고추장 및 된장과 함께 우리나라의 대표 발효식품 중의 하나이며, 대두를 삶아 고초균(*Bacillus* spp.)으로 발효시켜 독특한 풍미를 내는 전통식품이다(11). 보고에

*Corresponding author. E-mail : nutrmoon@jnu.ac.kr
Phone : 82-62-530-2141, Fax : 82-62-530-2149

따르면 청국장의 섭취는 고혈압(12), 당뇨(13), 암(14), 골다공증(15) 등과 같은 질환의 예방효과가 있는 것으로 알려져 있어 최근 청국장에 대한 식품기능학적 측면에서의 관심이 고조되고 있다(16). 하지만 이러한 청국장의 훌륭한 기능학적 특성에도 불구하고 발효과정 중 생성되는 휘발성 암모니아계 화합물로 인해 소비자층이 넓지 못하며, 특히 외국으로의 수출에도 큰 어려움을 겪고 있는 실정이다(17). 그래서 본 연구에서는 양파의 식품가공학적 활용성의 확대는 물론, 청국장의 기호성 개선을 목적으로 양파 첨가 청국장을 제조하고자 하였다.

한편, 우리나라의 대표적인 식품원료들 중의 하나인 콩은 단백질 공급원으로써의 영양학적 기능 이외에도 isoflavonoid를 포함한 다양한 페놀성 화합물들이 함유되어 있어 기능성소재로써도 매우 큰 의미가 있다고 인식되고 있다(18). 이러한 콩은 예로부터 청국장 및 된장과 같은 장류의 주 원료로 이용되어 왔으며, 일반적으로 노랑콩(대두)이 주로 사용되어 왔다. 그러나, 최근 검정콩의 식품학적 기능성이 인식됨에 따라 가공식품시장에서 노랑콩 대체소재로써 검정콩의 활용방안이 다양하게 모색되어 왔다(19,20). 그럼에도 불구하고 실제로 제품화에 성공한 사례는 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 노랑콩과 검정콩 각각을 이용하여 기호성이 개선되고 기능성이 강화된 양파 첨가 청국장을 제조하여 그들의 산업적 활용성을 향상시키고자 하였다.

본 연구에서는 노랑콩과 검정콩에 양파의 첨가비율을 달리하여 양파 첨가 청국장의 제조가능성을 검토함은 물론, 제조 청국장을 대상으로 관능평가를 실시하여 선호도가 높은 배합비율의 청국장을 선별하였다. 그리고 선별된 청국장을 대상으로 총 페놀성 화합물, 총 flavonoid의 함량 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical-scavenging 활성 비교, 그리고 양파 첨가 청국장 추출물 투여 쥐 혈장을 대상으로 혈중 과산화물(cholesteryl ester hydroperoxide, CE-OOH) 생성억제능을 평가함으로써 양파 첨가 청국장의 기능성 향상 여부 평가 및 식품학적 우수성을 평가하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에서 사용된 양파(*Allium cepa* L.)는 전남 무안에서 2013년 6월에 재배된 것을 같은 해 7월에 구입하여 사용하였다. 그리고 청국장 제조에 사용된 노랑콩(*Glycine max*)과 검정콩(*Rhynchosia nulubilis*)은 강원도 영월군 승당농산물가공영농조합에서 구매하여 이용하였다.

실험에 사용된 시약 중 methanol(MeOH)과 *n*-hexane은 Duksan Pure Chemical Co., Ltd.(Ansan, Korea) 제품을 사용하였으며, Folin-cicalteu reagent는 Nacalai Tesque,

Inc.(Kyoto, Japan)로부터 구입하였다. 그리고 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)과 copper (II) sulfate는 Wako Pure Chemical Industries Ltd.(Osaka, Japan)의 것을 사용하였으며, gallic acid, catechin 및 2,6-di-*tert*-butyl-4-methyl phenol(BHT)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)의 것을 이용하였다. HPLC 분석에 사용된 MeOH은 Fisher Scientific Korea Ltd.(Seoul, Korea)로부터 구매하여 사용하였다.

청국장 제조

노랑콩 및 검정콩 각각의 부피 약 3배에 해당하는 물을 이용하여 3회 이상 세척 후, 상온에서 15시간 동안 수침한다음, 121°C에서 30분간 증자 후 약 50°C로 냉각하였다. 여기에 원료 대두 중량의 3%(v/w)에 해당하는 종균(*Bacillus subtilis* chungkook16, KCTC 10786BP) 배양액을 각각에 접종한 후, 41°C에서 24시간 발효하여 청국장을 제조하였다. 위 방법에 따라 원료콩 중량의 0, 5, 10, 20, 30%에 해당하는 생 양파를 약 1 cm²정도의 크기로 절단한 다음 첨가하여 청국장을 제조하였다.

그리고 노랑콩과 검정콩 균을 각각 3 균으로 나누어 시료를 제조하였다. 먼저 노랑콩을 원료로 한 군: 노랑콩 청국장(A, yellow soybean *Cheonggukjang*), 양파 첨가 노랑콩 청국장(B, yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion), 발효를 행하지 않은 양파와 노랑콩의 혼합 시료(C, non-fermented mixture of yellow soybean and onion)를 각각 제조하였다. 그리고 검정콩을 원료로 한 군: 검정콩 청국장(D, black soybean *Cheonggukjang*), 양파 첨가 검정콩 청국장(E, black soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion), 발효를 행하지 않은 양파와 노랑콩의 혼합 시료(F, non-fermented mixture of black soybean and onion) 또한 각각 제조하였으며, 이들 노랑콩과 검정콩을 이용하여 제조된 각 시료를 대상으로 양파 첨가에 따른 특성을 비교·평가하였다.

관능평가

양파의 첨가 함량을 달리하여 제조한 청국장의 관능검사는 20~30대 패널 23명을 대상으로 청국장의 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% MeOH 100 mL씩을 가한 다음, homogenizer(HG-92G, Taitec, Koshigaya, Japan)를 이용하여 균질화하였다. 이어 흡인여과(No. 2, Whatman)하여 여과액과 잔사를 분리한 다음, 회수한 잔사를 80% MeOH

100 mL로 2회 반복하여 추출을 행한 후 얻어진 여과액을 합하여 진공농축하였다. 얻어진 농축물을 80% MeOH 10 mL로 용해해 청국장 추출물로 이용하였다.

총 페놀성 함량 분석

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 법(21)에 따라 분석하였다. 즉, 상기에 조제된 청국장 추출물을 20배 희석한 다음, 그 용액의 50 μ L(청국장 wet wt. 2.5 mg)에 H_2O_4 50 μ L를 가한 후, Folin & Ciocalteu phenol 시약 500 μ L를 가해 혼합하였다. 이어 Na_2CO_3 포화용액 500 μ L를 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 산출된 값을 gallic acid 상당량(GAE)으로 제시하였다.

총 Flavonoid 함량분석

총 flavonoid 함량은 Lee 등의 방법(22)을 약간 변형하여 정량하였다. 즉, 청국장 추출물 15 μ L(청국장 wet wt. 15 mg eq.)에 tris buffer(0.01 M, pH 7.4) 985 μ L를 가한 후, 5% $NaNO_2$ 60 μ L를 넣고 vortex를 이용하여 혼합한 다음 암소에서 5분 동안 반응시켰다. 이어 10% $AlCl_3$ 100 μ L를 가한 다음, 1 N NaOH 0.5 mL를 첨가하여 잘 혼합한 후, UV/VIS spectrophotometer(JP/V-550)를 이용하여 410 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 시료의 총 flavonoid 화합물 함량은 catechin을 표준물질로 하여 작성된 표준곡선으로부터 산출된 값을 정량하였으며, catechin 상당량(CE)으로 제시하였다.

DPPH Radical-scavenging 활성평가

청국장의 항산화 활성은 DPPH radical-scavenging 활성 측정법(24)을 이용하여 평가하였다. 즉, 청국장 추출물 16 μ L(청국장 wet wt. 16 mg eq.)에 tris buffer(0.01 M, pH 7.4) 485 μ L와 500 μ M DPPH ethanol 용액(최종농도 250 μ M) 500 μ L를 가하여 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 뒤, UV/VIS spectrophotometer(JP/V-550)로 517 nm에서 흡광도 값을 측정하였으며, 시료 대신 tris buffer를 대조구로 하여 다음의 식에 의해 DPPH radical-scavenging 활성을 평가하였다.

DPPH radical-scavenging 활성(%)=

$$\frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{실험구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

실험동물 및 혈장의 분리

실험에 사용된 쥐는 6주령의 Sprague-Dawley계(180-200 g body wt.)로 수컷만을 구입(Samtako Bio Korea, Osan,

Korea)하여 stainless wire cover plastic cage에서 3일 동안 사육하였다. 생육조건은 $20 \pm 2^\circ C$, 습도는 50~60%, 그리고 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였으며, 식이와 물은 자유롭게 섭취할 수 있도록 하여 실험실 환경에 순화시켰다. 청국장 추출물 투여 13시간 전에 절식, 3시간 전에 절수시킨 후, ether 마취하에서 개복한 다음, 대동맥으로부터 채혈한 다음, 원심분리(3000 rpm, $4^\circ C$, 15 min, VS-15 CFN, Vision, Gyeonggi, Korea)하여 상층액(혈장)을 분리하였다. 분리한 혈장은 사용 직전까지 $-40^\circ C$ 에서 냉동 보관하였다. 본 실험에서는 앞서 청국장 제조에서 설명한 것들 중 양과 첨가군과 무첨가군의 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장을 시료만을 섭취한 대조군을 대상으로 행하였다(21,25). 그리고 본 동물실험은 전남대학교 동물윤리위원회의 승인(CNU IACUC-YB-2013-52)을 득하여 행하였다.

동이온 유도산화에 따른 쥐 혈장의 CE-OOH 분석

각 군(n=4)의 쥐 혈장으로부터 각각 동일량(150 μ L)을 취하여 혼합한 다음, PBS buffer(pH 7.4) 1560 μ L를 가한 후, 최종적으로 100 μ M이 되도록 동이온($CuSO_4$)을 PBS buffer에 희석한 용액 240 μ L를 첨가함으로써 산화를 개시하였다. 혼합 용액은 $37^\circ C$ 에서 shaking incubation 시키면서 1시간 간격으로 100 μ L를 취하여 2.5 mM BHT를 함유한 MeOH과 n-hexane을 각각 3 mL씩 가한 후 vortex로 혼합하였다. 상층액(n-hexane 층)을 농축수기에 취한 후, 하층용액에 다시 n-hexane 3 mL를 가하고 재차 vortex로 혼합하였다. 그 상층액을 취하여 전 단계의 n-hexane 층과 혼합하여 농축한 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, Tokyo, Japan) column이 장착된 system 상에서 MeOH/ H_2O =97:3 (v/v)의 isocratic 용매계를 이용하여 행하였다. 그리고 235 nm(SPD-10A, Shimadzu, Kyoto, Japan)의 파장과 유속 1.0 mL/min(LC-6AD, Shimadzu)의 조건에서 분석을 행하였다. 여기에서 사용된 CE-OOH 표준품은 본 연구실의 선현연구(24)에 의해 합성된 것을 이용해 표준곡선을 작성하여 CE-OOH의 함량을 계산하였다(24).

통계처리

실험결과는 3회 반복 측정하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 각 추출물의 생리활성 결과에 대한 유의성은 SPSS(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 p<0.05 수준에서 Tukey's test로 실시하였다. 그리고 노랑콩과 검정콩 각각의 군에 대해서만 유의차 검정을 행하였다.

결과 및 고찰

관능평가

양과 추출물이 강한 항균활성을 발현한다는 기존의 보고

(4,25)들을 참고하였을 때, 청국장 제조시 양파가 첨가되면 청국장의 발효에 관여하는 미생물의 생육에 악영향을 미쳐 발효가 순조롭게 진행되지 않을 가능성이 있을 수 있다고 추측하였다. 그러나 본 연구에서 행한 양파 최대 첨가량(원료 콩 중량비 30%)의 범위 내에서는 노랑콩과 검정콩 청국장 모두 발효과정을 거친 다음에 외형, 맛, 그리고 청국장 특유의 냄새가 발현되었던 것으로부터 발효가 원활히 진행됨을 알 수 있었다.

그래서 양파를 노랑콩과 검정콩 중량의 0, 5, 10, 20, 30%가 되도록 제조된 각각의 청국장을 대상으로 관능평가를 실시하여 양파의 적정 첨가량을 설정하였다. 양파를 첨가한 노랑콩 청국장을 대상으로 한 관능평가 결과(Table 1), 향에 대한 항목에 대해서만 양파의 첨가량이 많을수록 선호도가 낮아지는 경향이 관찰되었다. 반면 5, 10, 20% 양파 첨가 청국장의 경우, 외관, 색, 맛 및 조직감이 양파를 첨가하지 않은 청국장에 비하여 비슷한 수준이거나 오히려 기호도가 상승하는 경향을 나타냈다. 특히 20% 양파 첨가 청국장의 경우, 향에 대한 항목만을 제외하고 전체적인 기호도를 포함한 다른 모든 평가항목에 있어서 높은 기호도를 나타냈다. 반면 30% 양파 첨가 청국장에서는 모든 평가항목에 대해 기호도가 낮게 나타났다. 그래서 양파의 적정 첨가량은 기호도 측면에 있어서 원료 콩 중량의 20%가 적합할 것으로 판단되었다.

양파를 첨가한 검정콩 청국장을 대상으로 한 평가결과

(Table 2)에 있어서도 노랑콩을 원료로 하여 제조한 청국장의 결과와 비슷한 경향이 관찰되었다. 즉, 5, 10, 20% 양파 첨가 청국장의 경우, 그 비율이 증가함에 따라 기호도가 상승하는 경향을 나타냈다. 특히, 검정콩을 원료로 하여 청국장을 제조했을 때에는 노랑콩 청국장에 있어서 낮은 기호도를 나타냈던 향에 대한 선호도가 다소 개선되는 경향이 관찰되었다. 또한 양파 첨가 검정콩 청국장에 있어서도 20% 양파 첨가 청국장의 기호도가 모든 항목에 있어서 높게 나타났다. 그리고 양파를 30% 첨가한 검정콩 청국장은 노랑콩을 원료로 하여 제조한 청국장의 결과와 마찬가지로 모든 평가항목에서 낮은 기호도를 나타냈다. 따라서 본 연구에서는 노랑콩과 검정콩을 원료로 한 두 청국장 모두 양파를 20%씩 첨가하여 청국장을 제조하였다. 이어, 제조된 20% 양파 첨가 청국장(노랑콩, 검정콩)과 양파를 첨가하지 않은 청국장(노랑콩, 검정콩), 그리고 발효를 행하지 않은 양파와 콩(노랑, 검정)의 혼합시료 각각을 대상으로 함유성분 분석 및 항산화활성을 평가하여 양파 첨가에 따른 청국장의 기능성 향상여부를 판단하였다. 이하의 실험에서 이용된 양파 첨가 청국장은 원료 콩의 중량을 기준으로 생양파 20%가 첨가된 시료를 의미한다.

총 페놀성 함량

노랑콩을 원료로 하여 제조한 청국장들의 총 페놀성 함량을 비교한 결과(Fig. 1A-C), 양파 첨가 노랑콩 청국장(Fig. 1B, 554.9 ± 19.9 mg/100 g)이 양파를 첨가하지 않은 노랑콩

Table 1. Sensory evaluation data for preference test of yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion in different content

Onion content (w/w, %)	Responses					
	Appearance	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability
0%	4.30±1.58 ^{ab}	4.13±1.55	4.65±0.93	3.04±1.55 ^{ab}	4.09±1.47 ^{ab}	4.13±1.06 ^{ab}
5%	4.26±1.57 ^{ab}	4.43±1.73	4.57±1.04	2.96±1.07 ^{ab}	4.39±1.23 ^{ab}	4.26±1.45 ^b
10%	4.52±1.24 ^{ab}	4.57±1.12	4.26±1.18	3.65±1.30 ^b	4.70±1.46 ^{ab}	3.83±1.34 ^b
20%	4.78±1.54 ^b	5.09±1.31	4.22±1.81	4.04±1.61 ^b	5.26±1.29 ^b	5.43±1.41 ^b
30%	3.39±1.92 ^a	4.17±1.95	3.87±1.58	2.00±1.31 ^a	3.00±1.78 ^a	2.48±1.38 ^a

^{a-c}All values were expressed as the mean±SEM.

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

Table 2. Sensory evaluation data for preference test of yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion in different content

Onion content (w/w, %)	Responses					
	Appearance	Color	Flavor	Taste	Texture	Overall acceptability
0%	4.52±1.70 ^b	4.65±1.56 ^b	4.43±1.24 ^b	3.61±1.23 ^{ab}	4.09±1.47 ^{abc}	4.13±1.06 ^b
5%	4.30±1.36 ^b	4.61±1.27 ^b	4.48±1.08 ^b	4.00±1.31 ^b	4.39±1.23 ^{bc}	4.26±1.45 ^b
10%	4.70±1.22 ^b	4.22±1.48 ^{ab}	4.26±1.29 ^{ab}	3.78±1.44 ^{ab}	3.70±1.46 ^{ab}	3.83±1.34 ^b
20%	4.83±1.53 ^b	5.04±1.26 ^b	5.09±1.16 ^b	5.26±1.45 ^c	5.26±1.29 ^c	5.43±1.41 ^c
30%	2.96±1.82 ^a	3.26±1.79 ^a	3.17±1.87 ^a	2.65±1.64 ^a	3.00±1.78 ^a	2.48±1.38 ^a

^{a-c}All values were expressed as the mean±SEM.

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

청국장(Fig. 1A, 472.7 ± 12.9 mg/100 g)보다 총 페놀성 함량이 유의하게 높게 나타났다. 또한 발효를 행하지 않은 양파 첨가 노랑콩 시료(Fig. 1C, 328.5 ± 52.7 mg/100 g)와의 비교에 있어서도 양파 첨가 노랑콩 청국장의 총 페놀성 함량이 유의하게 높게 나타났다. 그리고 노랑콩에 양파를 첨가하였으나 발효를 행하지 않은 시료(Fig. 1C)보다 양파를 첨가하지 않은 노랑콩 청국장(Fig. 1A)의 총페놀성 함량이 유의하게 높게 나타났다.

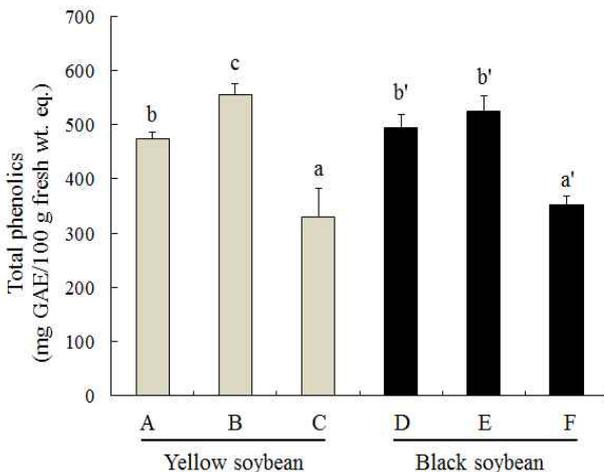


Fig. 1. Total phenolic content of *Cheonggukjang* extracts.

Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. The statistical treatment was carried out only between samples of yellow soybean and black soybean, respectively. GAE, gallic acid equivalents; A, yellow soybean *Cheonggukjang*; B, yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); C, non-fermented mixture of yellow soybean and onion (20%, w/w); D, black soybean *Cheonggukjang*; E, black soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); F, non-fermented mixture of black soybean and onion (20%, w/w).

그리고 검정콩을 원료로 하여 제조한 청국장들을 비교한 결과(Fig. 1D~F), 노랑콩 청국장의 실험결과와 유사한 경향이 관찰되었다. 즉, 양파를 첨가하여 제조한 검정콩 청국장(Fig. 1E, 524.7 ± 27.8 mg/100 g)이 양파를 첨가하지 않고 제조한 검정콩 청국장(Fig. 1D, 493.2 ± 24.6 mg/100 g)에 비하여 총 페놀성 함량이 더 높은 경향을 나타냈다. 또한 양파를 첨가한 후 발효를 행하지 않은 검정콩 시료(Fig. 1F, 351.1 ± 17.8 mg/100 g)와의 비교에 있어서도 양파를 첨가한 검정콩 청국장의 총 페놀성 함량이 유의하게 더 높게 나타났다. 그리고 검정콩 청국장의 경우에서도 양파를 첨가하지 않고 제조한 청국장(Fig. 1D)이 발효를 행하지 않은 양파 첨가 검정콩 시료(Fig. 1F)보다 유의하게 더 높은 총 페놀성 함량을 나타냈다.

본 결과로부터 양파를 첨가함에 따라 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장 양자 모두 총 페놀성 함량이 증가되는 현상이 관찰되었다. 그리고 노랑콩과 검정콩 각각에 양파를 첨가하였으나 발효를 행하지 않은 시료(Fig. 1C, F)들보다 양파를 첨가하지 않은 청국장(Fig. 1A, D)의 총 페놀성 함량이 더 높았던 결과로부터, 양파 원재료에 함유된 성분들보다

발효과정 중 새롭게 형성되는 다양한 페놀성 화합물이 양파 첨가 청국장의 총 페놀성 함량 상승에 상당 부분 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 이 같은 결과는 발효과정 중 양파에 함유된 quercetin을 포함한 다양한 flavonoid가 배당체 형태로부터 유리됨에 따라 추가적인 분해가 이루어졌기 때문인 것으로 판단된다.

총 Flavonoid 함량

노랑콩을 원료로 하여 제조한 청국장을 비교한 결과(Fig. 2A~C), 양파를 첨가하여 제조한 청국장(Fig. 2B, 289.9 ± 35.8 mg/100 g)이 양파를 첨가하지 않고 제조한 청국장(Fig. 2A, $207.9.1 \pm 27.1$ mg/100 g)에 비해 총 flavonoid 함량이 더 높은 경향을 나타냈다. 또한 발효를 행하지 않은 양파 첨가 노랑콩 시료(Fig. 2C, 228.9 ± 30.3 mg/100 g)에 비해서도 양파를 첨가하여 제조한 청국장 시료(Fig. 2B)의 총 flavonoid 함량이 더 높은 경향을 나타냈다. 그리고 양파를 첨가하지 않은 노랑콩 청국장(Fig. 2A)의 총 flavonoid 함량에 비해 발효를 행하지 않은 양파 첨가 노랑콩 시료(Fig. 2C)의 총 flavonoid 함량이 더 높은 경향을 나타냈다.

이어, 검정콩을 원료로 하여 제조한 청국장을 비교한 결과(Fig. 2D~F), 노랑콩 청국장 군의 결과(Fig. 2A~C)와 매우 유사한 경향이 관찰되었다. 즉, 유의차는 인정되지 않았으나 양파를 첨가하여 제조한 검정콩 청국장(Fig. 2E, 377.11 ± 23.0 mg/100 g)이 양파를 첨가하지 않은 청국장(Fig. 2D, 306.0 ± 31.0 mg/100 g)과 발효를 행하지 않은 양파 첨가 검정콩 시료(Fig. 2F, 330.7 ± 43.5 mg/100 g)의 총 flavonoid 함량보다 더 높은 경향을 나타냈다. 또한 검정콩 실험 군에서도 발효를 행하지 않았으나 양파를 첨가한 검정콩 혼합 시료(Fig. 2F)가 양파를 첨가하지 않고 제조한 청국장(Fig. 2D)의 총 flavonoid 함량보다 더 높은 경향을 나타냈다.

본 결과는 상기의 총 페놀성 함량의 결과와 밀접한 상관성을 보이는 결과라 판단된다. 즉, 양파중에 존재하는 flavonoid의 대부분은 quercetin이며, 이는 거의 대부분이 배당체 형태로 함유되어 있다(6,26-28). 이들이 대두 중에 함유되어 있는 flavonoid 배당체들과 함께 발효가 진행되어짐에 따라 aglycon으로 유리됨으로써 유리형 페놀성 수산기 수가 증가하여 양파 첨가 청국장의 총 flavonoid의 함량이 높게 검출된 현상을 보였을 것으로 추측된다. 또한 발효를 행하지 않은 양파 첨가 시료의 총 flavonoid 함량이 양파를 첨가하지 않고 제조한 청국장의 함량보다 높게 나타난 것은 원료 콩에 함유된 flavonoid의 함량보다 양파에 포함된 flavonoid의 함량이 더 높다는 것을 시사하는 결과라 판단된다.

DPPH Radical-scavenging 활성

청국장 추출물 16 μ L(청국장 wet wt. 16 mg eq.)를 대상으로 DPPH(final concentration, 250 μ M) radical-scavenging

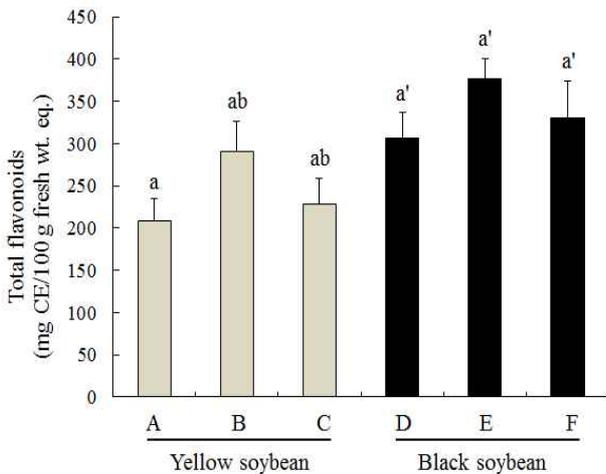


Fig. 2. Total flavonoid content of *Cheonggukjang* extracts.

Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. The statistical treatment was carried out only between samples of yellow soybean and black soybean, respectively. CE, catechin equivalent; A, yellow soybean *Cheonggukjang*; B, yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); C, non-fermented mixture of yellow soybean and onion (20%, w/w); D, black soybean *Cheonggukjang*; E, black soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); F, non-fermented mixture of black soybean and onion (20%, w/w).

활성을 평가하였다. 노랑콩 실험 군의 평가 결과(Fig. 3A~C), 양파를 첨가하여 제조한 청국장(Fig. 3B)이 양파를 첨가하지 않은 청국장(Fig. 3A)과 발효를 행하지 않았으나 양파를 첨가한 노랑콩 혼합 시료(Fig. 3C)보다 현저히 높은 radical-scavenging 활성을 나타냈다. 그리고 노랑콩에 양파를 첨가하였으나 발효를 행하지 않은 시료(Fig. 3C)와 양파를 첨가하지 않은 청국장(Fig. 3A)의 radical-scavenging 활성은 거의 같은 수준으로 관찰되었다.

이어 검정콩 청국장 군의 평가결과(Fig. 3D~F), 노랑콩 청국장의 결과에 비해 다소 높은 radical-scavenging 활성을 나타냈지만 비슷한 경향의 결과가 관찰되었다. 양파를 첨가하여 제조한 검정콩 청국장(Fig. 3E)의 radical-scavenging 활성이 검정콩에 양파를 첨가하였으나 발효를 행하지 않은 시료(Fig. 3F)에 비해 유의하게 더 높은 활성을 보였다. 그러나 양파를 첨가하지 않은 청국장(Fig. 3D)과의 비교에 있어서는 양파 첨가 검정콩 청국장이 약간 더 높은 경향을 나타냈다.

본 결과는 상기 항에서 행한 총 페놀성 및 flavonoid 함량 분석에서 서술한 바와 같이 원료콩과 양파에 함유되어있는 flavonoid와 같은 페놀성 화합물의 발효과정 중에 발생하는 bioconversion에 의한 것이라 추측된다.

동이온 유도산화에 따른 쥐 혈장의 CE-OOH 분석

활성산소종, 자유라디칼 및 친이금속이온 등은 인체 혈액 내 지단백질의 지질 과산화를 유발함으로써 그 양이 과다할 경우 동맥경화와 같은 순환기계질환의 발병원인으로 작용한다(29). 하지만 혈액 내에 우수한 항산화 화합물이 존재하게 되면, 혈액 내 지질과산화반응의 초기단계를 억

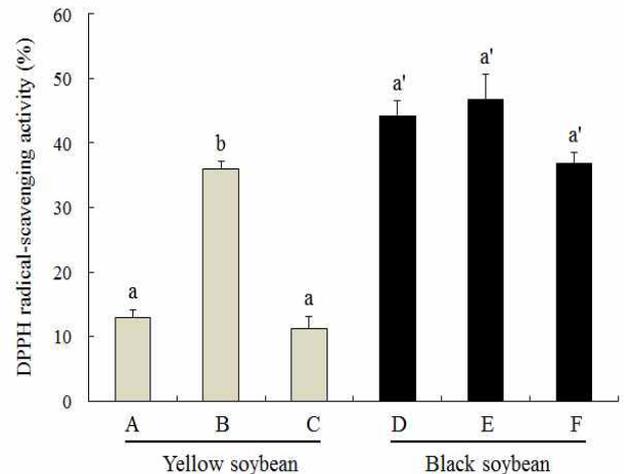


Fig. 3. DPPH radical-scavenging activity of *Cheonggukjang* extract.

Different letters mean significant differences at $p < 0.05$ by Turkey multiple range test. The statistical treatment was carried out only between samples of yellow soybean and black soybean, respectively. CE, catechin equivalent; A, yellow soybean *Cheonggukjang*; B, yellow soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); C, non-fermented mixture of yellow soybean and onion (20%, w/w); D, black soybean *Cheonggukjang*; E, black soybean *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w); F, non-fermented mixture of black soybean and onion (20%, w/w).

제함으로써 순환기계질환의 발병을 예방할 수 있다고 알려져 있다(30). 혈액의 저비중지단백질(low density lipoprotein, LDL)에 다량 존재하는 cholesteryl ester가 산화되어 생성되는 cholesteryl ester hydroperoxide(CE-OOH)는 건강한 일반인의 혈액 내에도 약 3 nM 수준으로 존재해있음이 보고된 바 있다(31). 그래서 본 연구에서는 LDL에 그 존재율이 높은 cholesteryl ester가 산화되어 생성되는 CE-OOH를 혈장산화의 지표성분으로 하여 혈장이 산화됨에 따라 생성되는 그 양을 검토함으로써 양파 첨가 청국장 투여 쥐 혈장의 피산화성을 검토하였다. 그래서 양파 첨가군과 무첨가군의 노랑콩 청국장과 검정콩 청국장을 각각 제조하여 각 시료들의 추출물을 쥐에 경구투여 후, 얻어진 각 혈장을 대상으로 동이온 유도산화에 따른 CE-OOH 생성 억제능을 비교·평가하였다.

그 결과, 양파 첨가 유무와 관계없이 노랑콩 청국장 추출물(Fig. 4A)과 검정콩 청국장 추출물(Fig. 4B) 각각을 투여한 쥐 혈장이 청국장 추출물을 투여하지 않은 대조군 쥐 혈장에 비하여 더 높은 혈장 산화 억제능을 나타냈다. 그리고 노랑콩과 검정콩 모두 양파를 첨가하여 제조한 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장이 양파를 첨가하지 않은 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장에 비해 더 높은 CE-OOH 생성 억제능을 나타냈다. 본 결과로부터 어떤 특별한 소재를 따로 첨가하지 않은 일반 청국장만을 섭취하여도 혈액 내의 항산화능이 향상될 가능성이 매우 강하게 시사되었다. 그에 더하여 노랑콩과 검정콩 모두 양파를 첨가하여 제조한 청국장 추출물을 투여하였을 때, 대조군은 물론 양파를 첨가하지 않고 제조한 일반 청국장 추출물을 투여한 군보다 더 효과적인 CE-OOH 생성억제능이 관찰되었다. 이와 같은

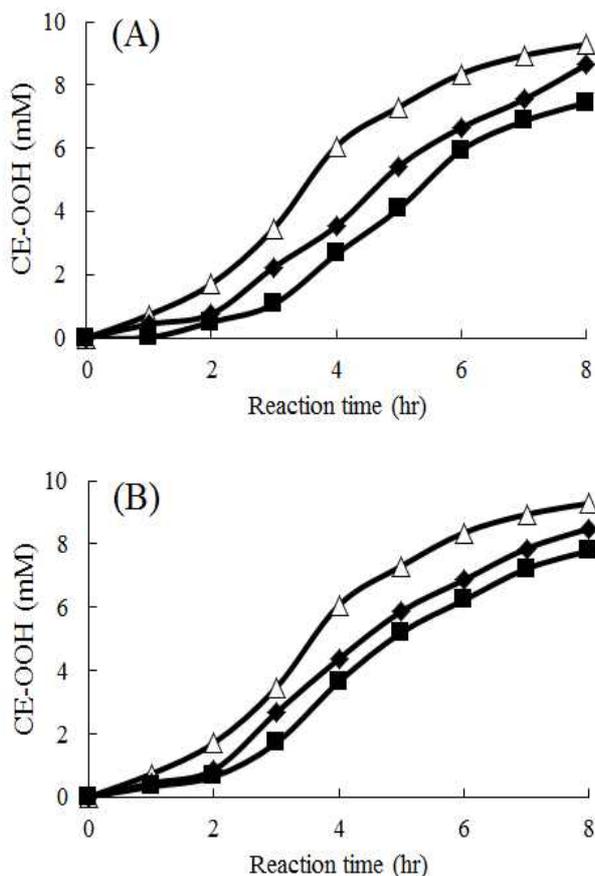


Fig. 4. Comparison of inhibitory effect against CE-OOH formation copper ion-induced oxidation of rat plasma after oral administration of the *Cheonggukjang* extract.

A, *Cheonggukjang* prepared with yellow soybean; B, *Cheonggukjang* prepared with black soybean. \triangle , Control rat plasma; \blacklozenge , rat plasma 1 hr after oral administration of *Cheonggukjang*; \blacksquare , rat plasma 1 hr after oral administration of *Cheonggukjang* prepared with addition of onion (20%, w/w). The rat plasmas of the equal volume in each group (n=4) were mixed between the separated group and then diluted 4 times with PBS buffer (pH 7.4) and incubated with 100 μ M (final concentration) CuSO_4 to induce CE-OOH formation. The data are representative of two experiments.

결과는 양파 첨가 청국장을 일상적으로 섭취하였을 때, 혈액 내의 항산화능을 향상시킴으로써 동맥경화와 같은 심혈관계질환의 질병을 예방하는 인자로 작용할 가능성을 보여준 의미있는 결과라 판단된다.

본 연구결과로부터 청국장을 제조할 때 양파를 첨가함에 따라 청국장에 유효함유성분이 증가됨으로써 청국장의 기능이 강화됨을 확인하였다. 이상의 본 연구결과가 양파의 식품가공학적 활용방안 제시 및 청국장 소비의 저변확대를 위한 홍보자료로 활용되어지길 기대한다.

요 약

양파를 첨가한 청국장 제조 가능성을 평가하고, 제조된 시료들을 대상으로 항산화능을 비교하였다. 먼저 양파의

적정 첨가량을 판단하기 위해 노랑콩과 검정콩 각각의 중량을 기준으로 0, 5, 10, 20, 30%가 되도록 양파를 첨가하여 청국장을 제조한 후 관능평가를 실시하였다. 그 결과, 노랑콩과 검정콩 청국장 모두 20% 양파 첨가 청국장이 높은 기호도를 나타냈다. 그래서 20%의 양파를 첨가하여 제조한 청국장을 대상으로 특정성분의 함량 및 항산화능을 비교·평가하였다. 그 결과, 양파를 첨가하여 제조한 청국장이 첨가하지 않은 청국장보다 유의하게 더 높은 총 페놀성 및 flavonoid 함량을 나타냈다. 그리고 DPPH radical-scavenging 활성평가에 있어서도 양파를 첨가하여 제조한 청국장이 첨가하지 않고 제조한 청국장보다 더 높은 radical-scavenging 활성을 나타냈다. 또 쥐 혈장 산화에 따른 CE-OOH 생성 억제능 평가에 있어서도 양파 첨가 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장이 양파를 첨가하지 않은 청국장 추출물을 투여한 쥐 혈장에 비해 더 높은 산화 억제능을 나타냈다. 이상의 결과들은 양파에 다량 함유된 quercetin을 포함한 flavonoid들과 발효과정 중 생성되는 다양한 페놀성 화합물들에 의한 효과라 판단된다. 본 연구결과가 국산 양파의 가공시장확대 및 청국장 소비의 저변확대를 위한 기초 자료로 활용되길 기대한다.

감사의 글

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

References

- Chang MS, Kim JG, Kim GH (2010) Survey on consumer's perception of fresh-cut root vegetables. *Korean J Food Cookery Sci*, 26, 649-654
- Murota K, Hotta A, Ido H, Kawai Y, Moon JH, Sekido K, Hayashi H, Inakuma T, Terao J (2007) Antioxidant capacity of albumin-bound quercetin metabolites after onion consumption in humans. *J Med invest*, 54, 2007
- Rho SN, Han JH (2000) Cytotoxicity of gallic and onion methanol extract on human lung cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 29, 874-879
- Nithyameenakshi S, Jeyaramraja P R, Manian S (2006) Cytotoxicity of the fungicides azoxystrobin and difenoconazole in root tips of *Allium cepa* L. *Asian J Cell Biol*, 1, 65-80
- Takahashi M, Shibamoto T (2008) Chemical compositions and antioxidant/anti-inflammatory activities of steam distillate from freeze-dried onion (*Allium cepa* L.) sprout.

- J Agric Food Chem, 56, 10462-10467
6. Moon JH, Nakata R, Oshima S, Inakuma T, Terao J (2000) Accumulation of quercetin conjugates in blood plasma after the short-term ingestion of onion by women. *Am H Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 279, 461-467
 7. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidant: Determination of radical-scavenging effectiveness. *Meth Enzymol*, 186, 343-335
 8. Lee JI, Cho YS, Shon MY, Kang KS, Seo KI (2000) Changes in physicochemical component and bacterial count during the fermentation of onion *Kimchi*. *J East Asian Soc Dietary Life*, 10, 419-424
 9. Cheun KS, Kang SG, Kang SK, Jung ST, Park YK (2005) Change of the flavonoids in onion vinegar fermented with onion juice and ethanol. *Korean J Food Preserv*, 12, 650-655
 10. Kim HD, Kim WI, Suh JK, Choi JU, Lee MJ, Kim CY (2000) Effect of calcium spraying on storage quality of onion (*Allium cepa* L.). *Korean J Postharvest Sci Technol*, 7, 19-22
 11. Lee JJ, Lee DS, Kim HB (1999) Fermentation patterns of *chungkookjang* and *kanjang* by *Bacillus licheniformis* B1. *Kor J Microbiol*, 35, 269-301
 12. Yang JL, Lee SH, Song YS (2003) Improving effect of powders of cooked soybean and chongkukjang on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32, 899-905
 13. Kim HJ, Kim YC (2006) Antidiabetic and antioxidant effect of *chunggugjang* powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Environ Toxicol*, 21, 139-146
 14. Kwak CS, Kim MY, Kim SA, Lee MS (2006) Cytotoxicity on human cancer cells and antitumorigenesis of *chungkookjang*, a fermented soybean product, in DMBA-treated rats. *Korean Nutr Soc*, 39, 347-356
 15. Lee YK, Lee MY, Kim MK, Choe WK, Kim SD (2004) Effect of calcium lactate and chungkukjang on calcium status in rat. *J Food Sci Nutr*, 9, 45-52
 16. Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Chang CM (1998) Physicochemical properties of traditional *chungkugjang* produced in different regions. *Agric Chem Biotechnol*, 41, 377-383
 17. Choe JS, Kim JS, Yoo SM, Park HJ, Kim TY, Chang CM, Shin SY (1996) Survey on preparation method and consumer response of *chungkookjang*. *Korean J Soybean Res*, 13, 29-43
 18. Bae EA, Moon GS (1997) A study on the antioxidative activities of Korean soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 26, 203-208
 19. Kim HE, Han SY, Jung JB, Ko JM, Kim YS (2011) Quality characteristics of *doenjang* (soybean paste) prepared with germinated regular soybean and black soybean. *Korean J Food Sci Technol*, 43, 361-368
 20. Kwon SH, Choi JH, Ko YR, Shon MY, Park SK (2003) Change in free sugar, organic acids and fatty acid composition of *kanjang* prepared with different cooking conditions of whole black bean. *Korean J Food Preserv*, 10, 333-338
 21. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer J Enol Viticult*, 16, 144-158
 22. Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD (1997) Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J Food Sci Technol*, 29, 847-853
 23. Abe N, Nemoto A, Tsuchiya Y, Hojo H, Hirota A (2000) Studies of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging mechanism for a 2-pyrone compound. *Biosci Biotech Biochem*, 64, 306-333
 24. Kim GD, Lee YS, Cho JY, Lee YH, Choi KJ, Lee Y, Han TH, Lee SH, Park KH, Moon JH (2010) Comparison of the content of bioactive substances and the inhibitory effects against rat plasma oxidation of conventional and organic hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Agric Food Chem*, 58, 12300-12306
 25. Jung KA, Park CS (2013) Antioxidative and antimicrobial activities of juice from garlic, ginger, and onion. *Korean J Food Preserv*, 20, 134-139
 26. Caridi D, Trenerry VC, Rochfort S, Duong S, Laughler D, Jones R (2007) Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chem*, 105, 691-699
 27. Tsushida T, Suzuki M (1995) Isolation of flavonoid-glycosides in onion and identification by chemical synthesis of the glycosides. *J Japan Soc Food Sci*, 42, 100-108
 28. Tsushida T, Suzuki M (1996) Content of flavonol glucosides and some properties of enzymes metabolizing the glucosides in onion. *J Japan Soc Food Sci*, 43, 642-649
 29. Lonn ME, Dennis JM, Stocker R (2012) Action of "antioxidants" in the protection against atherosclerosis. *Free Rad Biol Med*, 53, 863-884

30. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JLN (1989) Beyond cholesterol. Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenesis. N Engl J Med, 320, 915-924
31. Yamamoto Y, Niki E (1989) Presence of cholesteryl ester hydroperoxides in human blood plasma. Biochem Biophys Res Commun, 165, 988-993

(접수 2013년 10월 22일 수정 2013년 12월 11일 채택 2013년 12월 12일)