

Aspergillus oryzae 또는 *Bacillus natto* 발효콩의 Isoflavone 함량과 생리활성

정우열¹ · 김성기² · 손종연^{1*}

¹한경대학교 식품생물공학과 식품생물산업연구소

²경기도 농업기술원 제2농업연구소

Isoflavones Contents and Physiological Activities of Soybeans Fermented with *Aspergillus oryzae* or *Bacillus natto*

Woo-Youl Chung¹, Sung-Kee Kim², and Jong-Youn Son^{1*}

¹Dept. of Food and Biotechnology & Institute of Food Industry and Biotechnology,
Hankyong National University, Gyeonggi-do 456-749, Korea

²Northern Branch of Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services, Gyeonggi-do 486-800, Korea

Abstract

This study investigated the isoflavone contents and physiological properties of non-fermented soybean (NF) and the fermented soybeans prepared with *Asp. oryzae* (AO) and *B. natto* (BN). The total isoflavone contents (daidzin, genistin, daidzein and genistein) of NF, AO and BN were 81.8 mg/100 g, 130.7 mg/100 g and 139.5 mg/100 g, respectively. Especially, the total phenol contents of NF, AO and BN were 2.1%, 4.3% and 7.6%, and the total flavonoid contents were 1.3%, 1.6% and 2.7%, respectively. The nitrite-scavenging abilities of NF, AO and BN were 34.4%, 55.2% and 92.5%, respectively. Antimicrobial activity of BN was shown to be the strongest to *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The SOD-like activity was the strongest in AO, whereas the electron donating ability was the strongest in BN. Antioxidant activity of AO at concentration of 0.02% was stronger than BN or NF.

Key words: fermented soybeans, isoflavone content, physiological activities

서 론

대두(*Glycine max* L.)에 함유되어 있는 이소플라본(isoflavone)은 여성 호르몬인 에스트로젠과 구조가 유사하여 phytoestrogen으로 분류되며(1), 항암효과, 고혈압 및 심혈관계 질환 예방효과, 항산화 효과, 그 밖에 폐경기 증후군, 골다공증 등에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(2-4). 대두 중의 이소플라본은 일반적으로 당과 결합된 배당체나 아글리콘의 형태로 존재하며, 이들 함량과 존재형태는 콩의 종류, 가공조건(가열온도, 효소존재 등)에 따라 다르다(5). β -Glucosidase는 대두 자체에도 존재하지만, 된장과 청국장과 같은 발효식품 제조 시 미생물(*Aspergillus oryzae*, *Bacillus natto*, *Bacillus subtilis* 등)에 의해 생산된다(6,7). 청국장은 *Bacillus* 발효균에 의해, 된장은 주로 메주 중의 *Aspergillus*와 *Bacillus* 발효균의 효소에 의해 발효되어 각종 생리활성물질이 만들어진다. 이들 생리활성물질 중 이소플라본은 존재형태에 따라 생물학적 활성이 다르며, 아글리콘형태는 배당체형태보다 흡수가 빠르며, 생리활성도 높다(8,9). 따라서 아글리콘을 많이 함유한 발효대두식품은 비발

효 대두식품보다 여러 생리활성이 강하여 질병예방에 더 효과적이다. Lee 등(10)은 된장, 청국장, 두유의 항산화 활성을 측정 한 결과, 된장과 청국장의 항산화 활성이 두유보다 높았다고 보고하였다. Kim 등(11)은 재래식 된장의 지용성 및 수용성 추출물에서 높은 항산화 활성을 확인하였고, Shon 등(12)은 *Bacillus* 균주 두 가지를 이용하여 검정콩 청국장을 제조하고, 그 추출물들의 생리활성 및 isoflavone 함량을 비교하였다. 그러나 발효대두의 생리활성은 발효조건, 사용 균주나 원료의 종류에 따라 다른 결과를 보이기 때문에 객관적이고, 상대적인 생리활성의 비교가 곤란하다.

따라서 본 연구에서는 *Aspergillus oryzae*와 *Bacillus natto*로 각각 발효시킨 콩의 상대적인 이소플라본의 함량 및 존재형태의 변화를 비교, 조사하고, 아울러 이들 함량과 생리활성과의 관계를 비교, 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 발효콩 추출물의 생리활성 비교를 위해 사용

*Corresponding author. E-mail: nawin98@chol.com
Phone: 82-31-670-5155, Fax: 82-31-677-0990

된 콩은 대원콩(*Glycine max* (L.) Merrill)으로 농촌진흥청(2006년 수확)에서 받아 사용하였다.

발효콩의 제조

콩을 상온의 물에 약 8시간 침지하여 30분간 물을 뺀 다음 가압멸균기를 사용하여 121°C에서 1시간 동안 가압 증자한 후 50°C로 냉각하였다. *Asp. oryzae* 균주는 별도로 PDB (Potato dextrose broth)에 26°C, 48시간 배양하여 배양액을 준비하였고, *Bacillus subtilis* var. *natto* 균주는 Nutrient broth에 35°C, 24시간 배양하여 배양액을 준비하고, 배양액을 증자시킨 콩 중량의 5%(v/w)를 취하여 접종하고 잘 섞어 준 후 통기가 잘 되도록 하여 *Asp. oryzae* 발효콩은 26°C에서 60시간, *Bacillus subtilis* var. *natto* 발효콩은 38°C에서 36시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 열풍 건조(60°C)하여 수분 함량이 12% 이하가 된 발효콩을 분쇄하고 포장하여 실험 재료로 사용하였다.

Isoflavone 함량 측정

Isoflavone 분석을 위한 시료의 전처리에는 발효콩 분말 1 g에 80% ethanol 50 mL를 넣어 초음파기(US/model 8210, Branson Ultrasonic Co., USA)에서 60분간 추출한 후, 원심 분리(3,000×g에서 20분간)하였다. 그 상등액을 취하여 2회 반복 여과(Whatman 여과지 No. 41)한 후, 40°C에서 회전감압농축기(N-1000SW, EYELA Co., Japan)로 농축한 다음 80% 메탄올 10 mL를 넣고 용해하였다. 시료액은 syringe filter(0.2 µm, Whatman Co., England)로 여과하여 HPLC (Younglin M 930, Younglin Co., Korea)로 이소플라본함량을 분석하였다. HPLC의 분석 조건은 분석에 사용된 컬럼은 Symmetry C₁₈ column(3.9×150 mm, Waters Co., USA)이었고, UV 검출기(Younglin M 720, Younglin Co., Korea)를 사용하여 254 nm에서 3반복하여 측정하였다. Gradient는 0.1% acetic acid를 함유한 water(용매 A)와 0.1% acetic acid를 함유한 acetonitrile(용매 B)을 85:15로 시작하여 50분간 65:35로 증가시켰고, 유속은 1.0 mL/min이었다. 이소플라본 표준물질로는 daidzin, genistin, daidzein, genistein (Sigma Co., St. Louis, USA)을 사용하였다.

발효콩 추출물의 제조

비발효콩, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩 100 g을 각각 헥산 500 mL를 넣고 2시간 동안 진탕한 다음, 여과하였다. 탈지한 잔사에 80% 메탄올 900 mL를 가하고, 3시간 동안 70°C에서 환류 냉각한 후 여과(Whatman No. 42)하였다. 여과액은 50°C에서 감압농축한 후 진공 건조하였다.

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(13)에 의하여 분석하였다. 즉, 100 mL 메스플라스크에 75 mL의 증류수와 적당한 농도로 희석한 시료액 1 mL를 넣고 잘 혼합한 후, Folin-Denis 시약 5 mL와 탄산나트륨 포화용액 10 mL를 넣은 후 증류수

로 100 mL 용량으로 채운 후, 이것으로 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치시킨 후 spectrophotometer(UV-1201, Shimadzu, Japan)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀 함량은 표준물질 tannic acid(Sigma Co., St. Louis, USA)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 % tannic acid 당량으로 환산하였다.

총 플라보노이드 함량(14)은 시료 용액 1 mL와 diethylene glycol 10 mL를 혼합하고, 여기에 1 N-NaOH용액 1 mL 가하여 잘 혼합한 후, 37°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 naringin(Sigma Co., St. Louis, USA)을 사용하여 작성하였다.

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거작용은 Gray와 Dugan의 방법(15)에 의하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 일정농도의 시료 1 mL를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2)로 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL과 Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합하였다. 이 혼합액을 실온에서 15분간 방치한 후 UV/Vis spectrophotometer(TU-1800, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정, 잔존하는 아질산염을 구하였다. Blank 시험은 Griess 시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율로 나타내었다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B-C}\right) \times 100$$

N: nitrite scavenging ability

A: absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for 1 hour

B: absorbance of 1 mM NaNO₂

C: absorbance of black

Paper disc법에 의한 항균활성 측정

발효콩 추출물의 항균효과 검색은 paper disc법(16)을 이용하여 측정하였다. 각 시험균주를 해당 액체 배지에 24시간 전 배양하였고, 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 1.5% agar를 petridish에 20 mL씩 분주하여 응고시킨 후 각 시험 균액을 0.1 mL씩 첨가하여 멸균된 유리봉으로 배지 위에 고르게 퍼지도록 도포하여 사용하였다. 발효콩 추출물들을 각각 일정농도로 주입한 paper disc(8 mm, Toyo Roshi Kaicha, Ltd., Japan)를 평판배지 위에 흡착시켜 멸균수 30 µL를 주입 후 37°C에서 24시간 배양하여 paper disc 주변의 inhibition clear zone의 직경(mm)을 측정하였다. 항균성 실험에 사용된 균주 및 배지는 Table 1과 같았다.

Table 1. List of strains and media used for antimicrobial experiments

Microorganisms		Media
<i>Bacillus cereus</i>	KCCM 40935	NA
<i>Staphylococcus aureus</i>	KCCM 11335	NA
<i>Escherichia coli</i>	KCCM 11234	NA
<i>Salmonella</i> Enteritidis	KCCM 12021	NA

SOD 유사활성 측정

Superoxide 라디칼($\cdot O_2^-$) 소거활성은 Iio 등의 방법(17)에 따라 xanthine-xanthine oxidase cytochrome C 환원법으로 측정하였다. 즉, 시료 0.2 mL, 50 mM PBS 완충용액 (pH 7.8) 1.2 mL, 1 mM xanthine 0.2 mL와 0.05 mM cytochrome C 0.2 mL를 혼합하였다. 여기에 550 nm에서 분당 흡광도의 변화가 0.02가 되도록 희석한 xanthine oxidase 0.2 mL를 가하여 3분간 흡광도 변화를 측정하였다. 이때 superoxide anion의 소거능은 아래의 식으로부터 구하였다.

$$\text{Superoxide anion scavenging activity} = \left(1 - \frac{\text{Abs}}{\text{Absc}}\right) \times 100$$

Absc: Absorbance of control at 550 nm

Abs: Absorbance after sample treatment at 550 nm

전자공여능 측정(electron donating ability, EDA)

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 소거활성의 측정은 Blois방법(18)을 사용하였다. 0.0035% DPPH 용액 3 mL과 시료 0.15 mL을 넣고 잘 혼합한 후, 실온에서 30분간 방치한 다음 516 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성을 다음 식에 대입하여 계산하였다.

$$\text{EDA (\%)} = \left(1 - \frac{\text{SA}}{\text{CA}}\right) \times 100$$

SA: sample absorbance

CA: control absorbance

리놀레산 기질에서의 항산화 활성 측정

발효콩 추출물을 리놀레산(Sigma Co., St. Louis, USA)에

각각 200 ppm의 농도로 첨가하였다. 또한 기존 항산화제인 α -토코페롤도 위와 동일한 방법을 사용하여 비교, 조사하였다. 대조구는 시료를 첨가하지 않은 것으로 그 외의 조건은 동일하게 하였다. 이와 같이 대조구와 발효콩 추출물이 첨가된 리놀레산은 100 mL 비이커에 50 g씩 분취하여 37°C를 유지하는 항온기에 저장하면서 일정 저장기간 별로 과산화물가(19)를 측정하여 발효콩 추출물의 항산화 활성을 비교, 조사하였다.

통계처리

실험결과는 SAS package(release 8.01)를 이용하여 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 평균값의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

이소플라본의 함량

비발효콩과 발효콩의 이소플라본(daidzin, genistin, daidzein, genistein)의 함량을 측정한 결과는 Fig. 1 및 Table 2와 같다. 아글리콘인 daidzein의 함량은 비발효콩(0.57 mg/100 g)보다 *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩이 11.86 mg/100 g 및 15.69 mg/100 g로 크게 증가하였다. Genistein의 함량 역시 비발효콩(8.9 mg/100 g)보다 *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩에서 28.9 mg/100 g 및 34.9 mg/100 g로 증가하였다. 이상의 결과에서 *Asp. oryzae*나

Table 2. Isoflavone contents in fermented soybeans (mg/100 g)

Isoflavone	NF	AO	BN
Daidzin	45.6 \pm 0.6	43.1 \pm 0.3	43.6 \pm 1.1
Genistin	26.8 \pm 1.2	46.9 \pm 0.4	45.3 \pm 0.3
Daidzein	0.6 \pm 0.4	11.9 \pm 1.0	15.7 \pm 1.2
Genistein	8.9 \pm 0.3	28.9 \pm 1.3	34.9 \pm 0.6
Total	81.8 \pm 1.8	130.7 \pm 2.0	139.5 \pm 2.2

NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

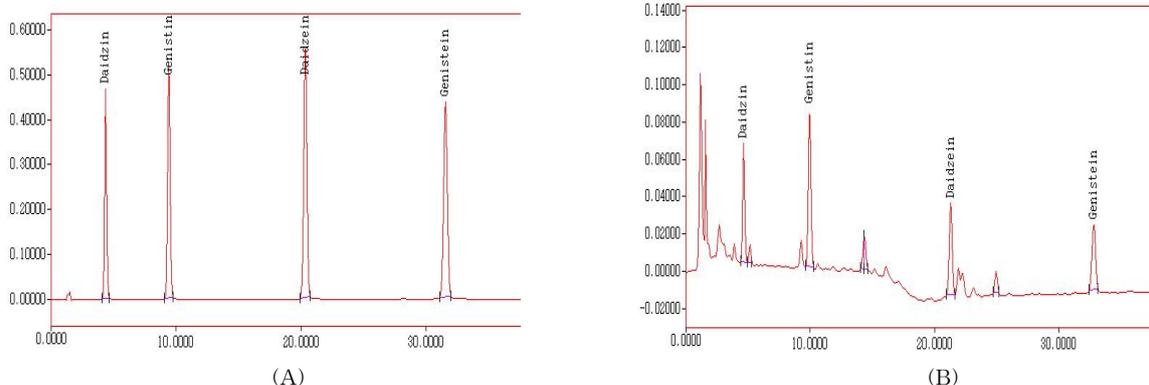


Fig. 1. Chromatogram of isoflavone (A: isoflavone standards, B: sample).

*B. natto*로 콩을 발효할 경우, daidzein 및 genistein의 함량을 크게 증가시키며, 특히 *B. natto*로 발효했을 때, 그 효과가 다소 큰 것을 알 수 있었다. 이와 같이 발효에 의해 아글리콘 형태의 이소플라본이 증가하는 것은 β -glucosidase에 의한 배당체인 genistin과 daidzin의 가수분해 때문인 것으로 사료된다.

한편 배당체인 daidzin 함량은 비발효콩(45.6 mg/100 g)과 *Asp. oryzae*(43.1 mg/100 g) 및 *B. natto* 발효콩(43.6 mg/100 g)에서 큰 차이는 보이지 않았으나, genistin은 발효에 의해 증가되는 경향을 보였다. 비발효콩, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩의 genistin의 함량은 각각 26.8, 46.9 및 45.3 mg/100 g으로 비발효콩에 비해 약 1.7 배정도 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 *Asp. oryzae*과 *B. natto* 발효콩 간의 유의차는 보이지 않았다. 발효콩 중의 daidzin과 genistin의 함량은 daidzein과 genistein으로의 분해에도 불구하고, daidzin의 감소량이 상대적으로 적고, genistin의 경우는 오히려 증가하는 현상을 보였다. 이는 콩 중에 존재하는 6"-O-malonyl-daidzin, 6"-O-malonyl-genistin, 6"-O-acetyl-daidzin, 6"-O-acetyl-genistin 등이 발효 중에 daidzin과 genistin으로 분해되기 때문인 것으로 사료된다(20).

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

발효콩 추출물의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과(Fig. 2), 비발효콩, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩의 총 페놀 함량은 각각 2.1%, 4.3% 및 7.6%이었으며, 총 플라보노이드 함량은 각각 1.3%, 1.6% 및 2.7%로 비발효콩보다 모두 높았다. 또한, *B. natto* 발효콩의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 *Asp. oryzae* 발효콩에 비해 약 1.7배 높게 나타난 것과 *B. natto* 발효콩의 총 이소플라본 함량(139.5 mg/100 g)이 *Asp. oryzae* 발효콩(130.7 mg/100 g)보다 약 1.1배 높은 점으로 볼 때(Table 2), *B. natto* 균은 이소플라본

이외의 플라보노이드 화합물의 함량을 크게 증가시키는 것을 알 수 있었다.

아질산염 소거능

아질산염은 식품의 가공 및 저장 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성 억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있지만, 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하며 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키며, 아질산 화합물의 다량 섭취시 혈관확장을 일으키고 혈액의 효소운반 능력을 저하시키고 혈구를 붕괴하여 혈색소는 혈장, 소변 중에 출현하고 뇨세관을 폐색시키고 아질산과 2급 아미노와의 반응에 의해 생성한 nitrosamine의 발암성이 문제되고 있어 nitrosamine의 생성을 억제하는 연구가 진행되고 있다(21).

발효콩 추출물의 아질산염 소거능을 측정된 결과(Fig. 3), 2,500 ppm에서 비발효콩, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩이 13.3%, 18.6% 및 30.8%으로, 비발효콩보다 발효콩 추출물에서 높은 아질산염 소거능을 보였다. 그러나 비타민 C(98.4%)나 BHT(88.9%)의 소거능보다는 낮았다. 한편, 5,000 ppm에서는 비발효콩, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩이 21.5%, 31.2% 및 56.8%, 10,000 ppm에서는 34.2%, 55.2% 및 92.5%로 첨가농도의 증가에 따라 아질산염소거능이 크게 증가하였으며, 특히 *B. natto* 발효콩은 비발효콩보다 모든 첨가 농도에서 2배 이상 높았다.

항균효과

발효콩 추출물의 항균효과를 측정된 결과(Table 3), 비발효콩의 경우 *Staphylococcus aureus*에서만 약한 항균효과를 보였다. *B. natto* 발효콩의 경우, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*와 *Escherichia coli*에서 강한 항균효과를 보

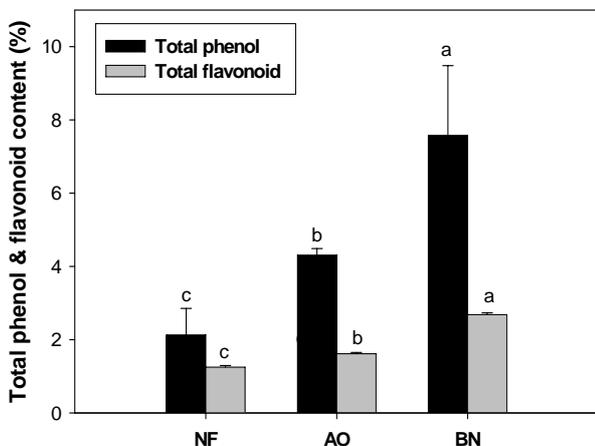


Fig. 2. Total phenol and flavonoid contents of fermented soybeans extract
 NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

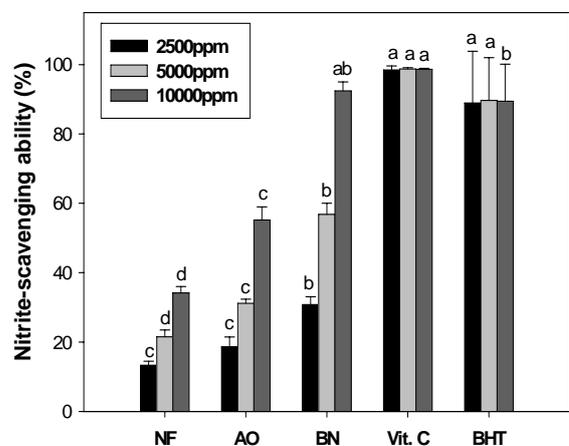


Fig. 3. Nitrite-scavenging abilities of fermented soybeans extract
 NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

Table 3. Antimicrobial activities of fermented soybeans extract

Microorganisms tested	Conc. (µg/disc)	NF (mm)	AO (mm)	BN (mm)
<i>Bacillus cereus</i> KCCM 40935	4000	-	-	++
	2000	-	-	++
	1000	-	-	+
	500	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> KCCM 11335	4000	++	++	++
	2000	+	++	++
	1000	-	++	++
	500	-	-	+
<i>Escherichia coli</i> KCCM 11234	4000	-	-	++
	2000	-	-	++
	1000	-	-	+
	500	-	-	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis KCCM 12021	4000	-	+	-
	2000	-	-	-
	1000	-	-	-
	500	-	-	-

-, no inhibition (8 mm); ±, very slight inhibition (8~9 mm); +, slight inhibition (9~10 mm); ++, moderate inhibition (10~14 mm).

NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

였으며, 농도가 증가함에 따라 항균효과도 증가하는 경향을 보여 항균효과에 대한 추출물의 농도의존성을 잘 보였다. *Asp. oryzae* 발효콩은 *Staphylococcus aureus*에서 *B. natto* 발효콩보다 약한 항균효과를 보였다. *Asp. oryzae* 발효콩은 특이적으로 다른 추출물에서 항균효과를 보이지 않았던 *Salmonella* Enteritidis에서 항균효과를 보이는 특이성을 나타냈다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높게 나타난 *B. natto* 발효콩에서 항균력이 가장 높게 나타난 것으로 보아, 발효콩 추출물의 항균력은 페놀성 물질에 기인되는 것으로 사료된다.

SOD 유사활성

생체내 항산화 효소중의 하나인 SOD는 세포내 활성산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉진하는 효소이며 SOD에 의해 생성된 과산화수소는 catalase 또는 peroxidase에 의해 물분자와 산소분자로 전환되는 중요한 효소 중 하나이다($2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). 발효콩 추출물의 SOD 유사활성을 측정한 결과(Fig. 4), 1,000 ppm 농도에서 비발효콩(25.4%)보다 *Asp. oryzae* 발효콩 및 *B. natto* 발효콩에서 81.6% 및 64.1%의 SOD 유사활성을 보여 발효콩에서 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 가장 높았던 *B. natto* 발효콩이 *Asp. oryzae* 발효콩보다 낮은 활성을 보이는 상이한 경향을 나타냈다. 대두의 생리활성물질로는 이소플라본, 페놀산 이외에 토코페롤, 아미노산과 펩타이드, aromatic amine과 같은 함질소화합물, 인지질, 사포닌 등이 알려져 있다(22). *Asp. oryzae* 발효콩의 SOD 유사활성은 페놀성 물질이나 플라보노이드성분과 이

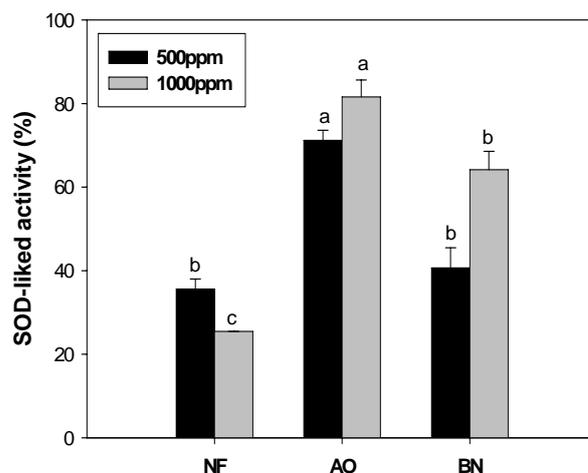


Fig. 4. SOD-like activities of fermented soybeans extract. NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

들 생리활성물질의 복합작용으로 기인되는 것으로 사료된다.

전자공여능

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 시료의 전자공여능을 측정하는데 이용할 수 있다. 발효콩 추출물의 전자공여능을 측정한 결과(Fig. 5), 5,000 ppm의 농도에서 비발효콩은 22.9%의 활성을 나타낸 반면, *Asp. oryzae* 및 *B. natto* 발효콩은 각각 28.5% 및 54.2%의 활성을 보였다. 1,000 ppm과 2,500 ppm의 농도에서도 발효콩에서 유의적으로 증가하였으며, 전체적으로 *B. natto* 발효콩이 가장 강한 전자공여능을 나타냈다. 그러나 5,000 ppm의 농도에서 발효콩의 수소공여능은 항산화제인 α-tocopherol(92.5%)과 BHT(91.3%)보다는 낮았다.

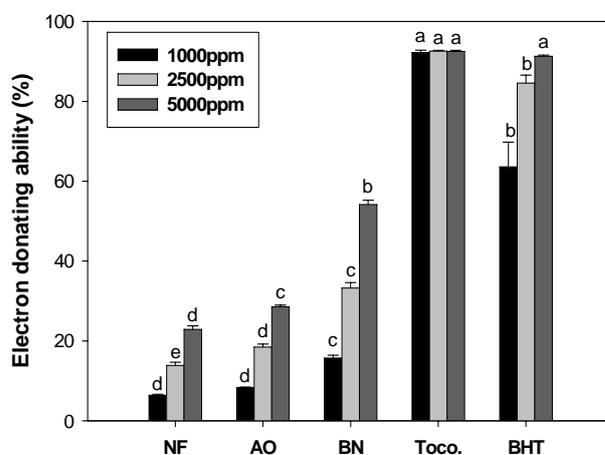


Fig. 5. Electron donating abilities of fermented soybeans extract.

NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

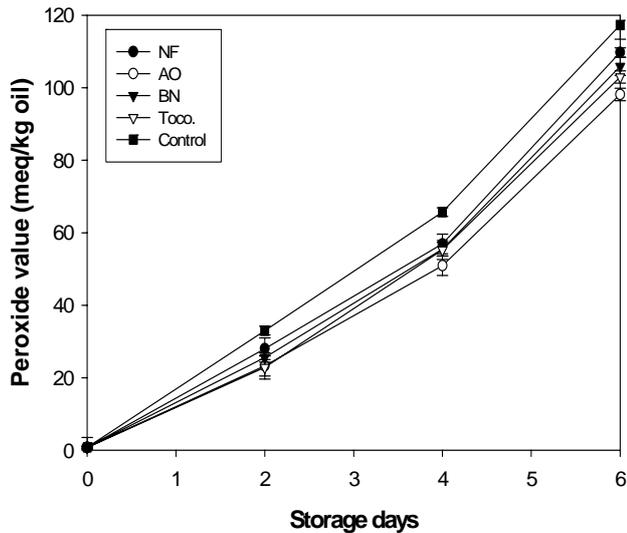


Fig. 6. Change of peroxide values of the linoleic acid substrate containing fermented soybeans extract (0.02%) at 37°C.

NF: Non-fermented soybean, AO: Fermented soybean with *Asp. oryzae*, BN: Fermented soybean with *B. natto*.

리놀레산 기질에서의 항산화활성

리놀레산기질에 발효콩 추출물을 0.02%의 농도로 첨가한 후 항산화활성을 측정된 결과(Fig. 6), 저장 6일째의 비발효콩, *Asp. oryzae*, *B. natto* 발효콩 및 α -토코페롤 첨가구의 과산화물가는 각각 109.8, 98.2, 105.9 및 103.0 meq/kg oil로 대조구(117.3 meq/kg oil)보다 모두 항산화효과를 나타냈다. 즉, *Asp. oryzae* 발효콩에서 가장 좋은 항산화 활성을 보였으며, 항산화제인 α -tocopherol보다 강한 항산화활성을 보였다.

요 약

본 연구에서는 *Asp. oryzae* 및 *B. natto*로 각각 발효시킨 콩의 이소플라본의 함량변화, 생리활성에 대하여 비교, 조사하였다. 총 이소플라본 함량은 비발효콩이 81.80 mg/100 g, *Asp. oryzae* 발효콩이 130.70 mg/100 g, *B. natto* 발효콩이 139.50 mg/100 g이었다. 비발효콩, *Asp. oryzae* 발효콩 및 *B. natto* 발효콩의 총 페놀 함량은 각각 2.1, 4.3 및 7.6%이었고, 아질산염소거능은 각각 34.2, 55.2 및 92.5%로 측정되었다. 항균효과의 경우, *B. natto* 발효콩은 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*와 *Escherichia coli*에서 가장 강한 항균효과가 나타났다. *Asp. oryzae* 발효콩은 *Staphylococcus aureus*와 *Salmonella Enteritidis*에서 항균효과를 보였다. 전체적으로 *B. natto* 발효콩의 항균성이 강하였다. SOD 유사활성은 *Asp. oryzae* 발효콩에서 가장 강했던 반면, 전자공여능에서는 *B. natto* 발효콩에서 가장 강한 radical 소거능이 측정되었다. 리놀레산 기질에 대한 *Asp. oryzae* 발효콩의 항산화 효과는 비발효콩이나 *B. natto*보다 큰 것으로 나타났

으나, 유의적인 차이는 없었다.

문 헌

- Brouns F. 2002. Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health foods sector. *Food Research International* 35: 187-193.
- Lee SY, Bae YJ, Lee SY, Choi MK, Choe SH, Sung CJ. 2005. The effect of soy isoflavone on sex hormone status and premenstrual syndrome in female college students. *Korean J Nutr* 38: 203-210.
- 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.
- Lee CH, Yang L, Xu JZ, Yeung SYV, Huang Y, Chen ZY. 2005. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chemistry* 90: 735-741.
- Reramoto RY, Ohta N, Ueda S. 1994. Solubilization of a novel isoflavone glycoside-hydrolyzing β -glucosidase from *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnose*. *J Ferment Bioeng* 77: 493-441.
- Low GH, Custer LJ. 1999. Isoflavone levels in soy foods consumed by multiclinic populations in Singapore and Hawaii. *J Agric Food Chem* 47: 977-986.
- Fukutakc M, Takahashi M, Ishida K, Karamura H, Sugimura T, Wakabayashi K. 1996. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol* 34: 457-461.
- Setchell KD, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe BE, Brashear WT, Kirschner AS, Cassidy A, Heubi JE. 2001. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavones supplements. *J Nutr* 131: 1362S-1375S.
- Izumi T, Piskura MK, Osawa S, Obata A, Tobe K, Saito M, Kataoka S, Kubota Y, Kikuchi M. 2000. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than glucosides in humans. *J Nutr* 13: 1695-1699.
- Lee CH, Moon SY, Lee JC, Lee JY. 2004. Study on the antioxidant activity of soybean product extracts for application of animal products. *Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 405-410.
- Kim HY, Sohn KH, Chae SH, Kwak TK, Yim SK. 2002. Brown color characteristics and antioxidizing activity of *doenjang* extracts. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 644-654.
- Shon MY, Seo KI, Park SK, Cho YS, Sung NJ. 2001. Some biological activities and isoflavone content of *chungkugjang* prepared with black beans and bacillus strains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 662-667.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
- Teresa-Satue M, Huang SW, Frankel EN. 1995. Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached and deodorized olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 72: 1131-1137.
- Gray JL, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-985.
- Kim MS, Lee DC, Hong JE, Chang KS, Cho HY, Kwon YK, Kim HY. 2000. Antimicrobial effects of ethanol extracts from Korean and Indonesian plants. *Korean J Food Sci Technol* 32: 949-958.
- Iio M, Moriyama A, Matsumoto Y, Takai N, Fukumoto M.

1985. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Agric Biol Chem* 49: 2173-2182.
18. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
19. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. Cd 8-35.
20. Eom KY, Kim JS, Choi HS, Cha BS, Kim WJ. 2006. Changes in isoflavone and some characteristics of Chokong of germinated soybeans during pickling in vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 359-365.
21. Jin Q, Park JR, Cha MH. 1997. Physiological activity of zizyphus leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 593-598.
22. Kim SH, Yang JL, Song YS. 1999. Physiological functions of chongkukjang. *Food Industry and Nutrition* 4: 40-46.

(2007년 11월 28일 접수; 2008년 1월 22일 채택)