

검정콩 청국장의 생리활성 및 발효중 Phytoestrogen 함량의 변화

손미예 · 서권일* · 이상원** · 최성희 · 성낙주***
한국전통발효식품연구소, *순천대학교 식품영양학과
진주산업대학교 미생물공학과, *경상대학교 식품영양학과

Biological Activities of Chungkugjang Prepared with Black Bean and Changes in Phytoestrogen Content during Fermentation

Mi-Yae Shon, Kwon-Il Seo*, Sang-Won Lee**, Seong-Hee Choi and Nak-Ju Sung***
Korea Fermented Food Research Institute
*Department of Food and Nutrition, Suncheon National University
**Department of Microbiological Engineering, Chinju National University
***Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University

Abstract

To assess functional properties of chungkugjang (CK), a traditional Korean soyfood, fermented with black beans at 42°C for 72 hrs, some biological activities of methanol extract of CK and the changes in phytoestrogen (daidzein, genistein) contents during fermentation were investigated. The methanol extract of CK (MEC) prepared with soybean had no or a little antibacterial activity. MEC prepared with black bean inhibited the growth of all bacteria tested, and MEC of small black bean was higher in antibacterial activity than that of large black bean. Hydrogen-donating activities of MEC of large and small black bean were 76.4 and 75.5%, respectively, which were higher than that of soybean being 67.3%. Nitrite-scavenging activity was found to be above 90% in all MECs tested as compared with control group. MEC showed strong antioxidant activities against both peroxidation of linoleic acid and H₂O₂-FeSO₄-induced peroxidation of rat liver homogenate. The antioxidant activities were high in the order of small black bean, large black bean and soybean. Contents of genistein and daidzein were gradually increased during fermentation of CK. The isoflavones were higher in black bean CK than in soybean CK and higher in large black bean CK than in small black bean CK. In black beans genistein content was about twice as much of daidzein.

Key words : chungkugjang, black bean, biological activity, daidzein, genistein

서 론

청국장은 한국 고유의 대두발효식품으로서, 다른 장류와는 다르게 담금 시간과 방법이 짧고 간단하며, 가을에서 이듬해 이른봄까지 이용하는 감칠맛이 있는 식물성 고단백 조미발효식품이다. 청국장에 대한 연구는 대두를 원료로 한 발효과정 중 청국장 성분의 변화⁽¹⁻³⁾, 사용 미생물과 제한적인 발효조건에 따른 차이⁽⁴⁻⁶⁾에 따른 청국장 품질의 변화⁽⁴⁻⁶⁾, 세균학적 특성⁽⁷⁾, 효소학적

특성^(8,9) 및 향기성분^(10,11)에 관한 것이 있다. 청국장의 생리활성에 대하여 최근 한국의 청국장에서 분리된 *Bacillus*속 균주(CK 11-4)가 생산하는 효소가 납두의 nattokinase보다 높은 혈전용해능을 가진다는 보고가 있으나^(7,8), 아직은 일본의 납두에 비하여 연구가 매우 미진한 상태에 있다.

한편, 민간에서 약콩이라고 전해 내려오고 있는 검정콩은 대두보다 많은 양의 isoflavone을 함유하고 있는데, 특히 이중 genistein은 유해한 활성 산소종을 제거하여 항산화 효과를 나타내며⁽¹¹⁻¹³⁾, 암세포가 면역시스템에 의한 공격을 피해 살아남을 수 있게 도와주는 heat shock protein(HSP), glucose-related protein (GRPs)과 같은 스트레스 단백질 생성을 저해함으로써 유방암, 직장암, 전립선암 등에 대한 항암작용을 나타

Corresponding author : Kwon-Il Seo, Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, 315 Maegok-Dong, Suncheon, Chonnam 540-742, Korea
Tel : 82-61-750-3655
Fax : 82-61-750-3655
E-mail : seoki@suncheon.ac.kr

내는 것으로 알려져 있다⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. 그러나 청국장은 주로 대두로 제조되어 왔으므로 검정콩을 이용한 청국장의 제조에 관한 연구는 전무한 상태에 있다.

따라서 본 연구에서는 대두에 비하여 가능성이 우수한 검정콩을 이용하여 청국장을 제조한 후 이의 메탄올추출물에 대한 항균성, 항산화성 및 아질산염 소거능 등의 기초적인 생리활성을 측정하고, 청국장의 숙성중 그 원인물질의 하나로 알려진 daidzein, genistein 과 같은 phytoestrogen 화합물의 함량 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

청국장 제조용 콩(*Glycine max*(L.) Merrill)은 1997년에 전남 나주 가보농산에서 수확한 대두를 대조구로 하였고, 검정콩은 대립종(서리태·속 파란콩)과 소립종(퀴논이콩)을 사용하였다.

청국장의 제조

정선한 대두와 검정콩 3 kg씩을 5배의 냉수에 6시간 침지한 후 충분히 물빼기를 하여 stainless steel 용기에 담아 고압솥(115°C)에서 30분 동안 증자하고 50°C 정도로 냉각하였다. 증자·냉각된 대두와 대립 및 소립의 검정콩 500 g을 적절하게 으깨기를 한 후, 플라ستيك용기에 담아 42°C 항온기에서 3일간 발효시켰다.

추출물의 조제

청국장 100 g을 잘 마쇄한 후, 메탄올 1 L씩 첨가한 후 3회 반복하여 상온에서 12시간 교반 추출하였다. 이를 filter paper(Whatman No. 42)로 거른 후 40°C에서 진공농축하여 생리활성 측정의 시료로 사용하였다.

항균활성

항균시험용으로 사용된 균주는 *Bacillus cereus* IFO-3457, *B. circulans* NFRI 8005, *B. licheniformis* NFRI 8008, *B. subtilis* ATCC 6633, *Brevibacterium linens* IFO 12141, *Micrococcus roseus* JAM 1295, *Staphylococcus aureus* R 209, *Streptococcus mutans* ATCC 27607의 Gram positive 8종과 *Escherichia coli* ATCC 15489, *Proteus vulgaris* IFO 3581, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3899, *Salmonella typhimurium* TV 119, *S. enteritidis* IFO 3313의 Gram negative 5종을 사용하였다. Test plate는 0.6% agar를 함유시킨 LB배지(soft agar) 6 mL에 전 배양한

시험균 1 mL를 첨가하여 잘 혼합시키고, soft agar가 응고되기 전에 1.5% agar를 함유시켜 미리 준비해둔 LB배지(hard agar)에 중층·응고시킨 다음, 즉시 랩으로 싸서 냉장고에 보관하면서 2주 이내에 사용하였다.

항균활성은 agar diffusion법⁽¹⁷⁾에 준하여 검토하였다. 즉, 멸균된 filter paper disk(Toyo Rhoishi Kaisha, Ltd., 8 mm)에 시료 액을 spot한 다음 80°C의 dry oven에서 용매를 완전히 휘발시키고 중층 시험용 plate의 표면에 놓아 밀착시켜 냉장고에서 1시간 동안 방치시킨 후, 인큐베이터에서 배양(30~35°C, 24시간)한 다음 clear zone의 크기(직경, mm)를 측정하여 항균력을 비교하였다.

수소공여능

검정콩 청국장에 대한 수소공여능은 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 516 nm에서 분광광도계로 측정하였다. 즉 각 추출물 0.1 ml와 대조구로 사용한 0.1% BHT 1 ml에 4×10^{-4} M DPPH 용액 3 mL를 각각 첨가한 후 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 중류수에 대한 흡광도를 측정하고, 대조구는 시료대신에 에탄올 1 mL를 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다⁽¹⁸⁾.

Linoleic acid에 대한 항산화력

청국장 추출물의 항산화 효과를 linoleic acid의 과산화물가(peroxide value, POV)를 측정하여 *in vitro*에서 조사하였다⁽¹⁹⁾. 즉, 삼각플라스크에 linoleic acid 1 mL, carbonyl을 제거한 ethanol 20 mL 및 청국장 추출물 0.1 mL를 첨가한 후 0.2 M phosphate buffer 25 mL를 가하여 37°C에서 일정기간(1, 3, 5, 7일) 저장한 다음 반응용액을 분액깔대기에 옮겨 chloroform 25 mL를 가하여 2-3회 반복 추출하였다. 다음에 chloroform 추출액에 acetic acid 25 mL와 포화 KI용액 1 mL를 가하여 암소에서 5분간 방치한 다음 중류수 50 mL를 가하여 soluble starch를 지시약으로 하여 1/100 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 적정하였다.

간 지질에 대한 과산화 억제효과

청국장 추출물의 지질과산화 억제효과를 흰쥐의 liver homogenate를 사용하여 *in vitro*로 조사하였다⁽²⁰⁾. 즉, 흰쥐의 간을 적출하여 phosphate buffer(pH 7.4)로 균질화한 다음 균질액에 H_2O_2 (1 M)와 FeSO_4 (50 mM) 및 청국장 추출물 0.05 mL를 가하여 37°C에서 40분간 배양한 후 생성된 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 함량을 측정하였다.

아질산염의 소거효과

청국장 추출물에 대한 아질산염의 소거효과는 Gray 등의 방법⁽²¹⁾에 준하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 1 mL에 청국장 추출물 0.2 mL를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정 한 후 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 그리고 반응액 1 mL에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약 0.4 mL를 가하여 혼합하고 15분 방치후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였는데, 대조구는 NaNO₂ 용액 대신에 증류수를 첨가하여 측정하였다.

Phytoestrogen

마쇄한 청국장 2 g에 acetonitrile 10 mL, 0.1 N HCl 2 mL를 첨가한 후 2시간 동안 교반하였다. 이를 여과(Whatman No. 42)하여 30°C에서 농축한 뒤 80% HPLC용 methanol 10 mL에 녹인 다음 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC로 분리하였다⁽²²⁾. 이때 컬럼은 µ-Bondapak C₁₈(3.9 mm i.d.×30 cm)을 사용하였고, 용매는 methanol과 1 mM ammonium acetate가 6:4의 비율로 섞인 것을 분당 1 mL로 용출하였으며, detector는 UV로서 214 nm에서 사용하였다. 분리된 각 peak는 표준 phytoestrogen(Sigma)의 retention time과 비교하여 동정 및 정량하였다.

결과 및 고찰

항균활성

대두, 대립 및 소립 검정콩을 이용하여 발효시킨 청국장의 메탄올 추출물에 대한 항균활성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 대두 청국장은 대부분의 시험균에 대하여 거의 항균활성이 없거나 약하게 나타났지

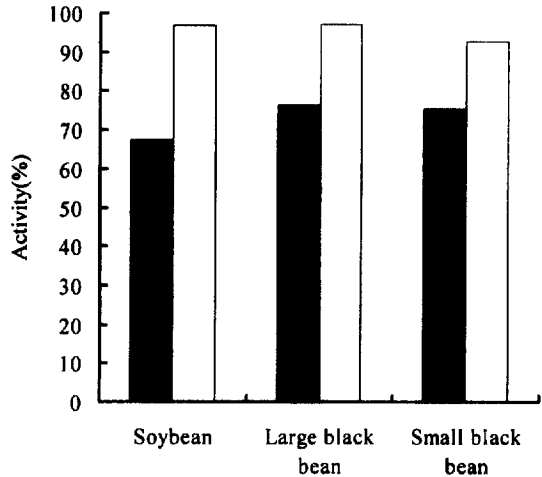


Fig. 1. Hydrogen-donating and nitrite-scavenging activities of methanol extract of chungkugjang prepared with soybean, large and small black bean.

■: hydrogen-donating activity, □: nitrite-scavenging activity

만, 대립 및 소립 검정콩 청국장은 시험균주 모두에 대하여 항균활성을 보였다. 특히 소립 검정콩의 경우는 *Bre. linens*, *B. circulans*, *Pro. vulgaris*, *M. roseus*, *B. licheniformis*, *E. coli* 등의 순으로 항균활성이 강하게 나타났으며, 대립 검정콩의 경우는 *B. subtilis*, *E. coli* 및 *Pro. vulgaris* 균주에 대하여 가장 활성이 강하였고, 다음으로 *B. licheniformis* 및 *Str. mutans* 균주에 대한 항균활성이 높게 나타났으나, 소립 검정콩에 비하여 그 활성은 약하였다.

수소공여능 및 아질산염 소거능

각 청국장의 메탄올 추출물에 대한 수소공여능 및 아질산염 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 청국장 메탄올 추출물의 수소공여능은 0.1% BHT를 첨

Table 1. Antibacterial activity of methanol extract of chungkugjang prepared with soybean, large and small black bean (unit: mm)

Bacteria	Soybean	Large black bean	Small black bean	
Gram +	<i>Bacillus cereus</i> IFO-3457	8.5	9	11
	<i>Bacillus circulans</i> NFRI 8005	0	11	18
	<i>Bacillus licheniformis</i> NFRI 8008	10	11.5	14
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	9	12	12.5
	<i>Brevibacterium linens</i> IFO 12141	10	11	20
	<i>Micrococcus roseus</i> JAM 1295	0	10.5	16.5
	<i>Staphylococcus aureus</i> R 209	8.5	10.5	11.5
	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27607	0	11.5	12
	Gram -	<i>Escherichia coli</i> ATCC 15489	10.5	12
<i>Proteus vulgaris</i> IFO 3581		0	12	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3899		0	9	11
<i>Salmonella typhimurium</i> TV 119		0	10.5	11
<i>Salmonella enteritidis</i> IFO 3313		0	9	10.5

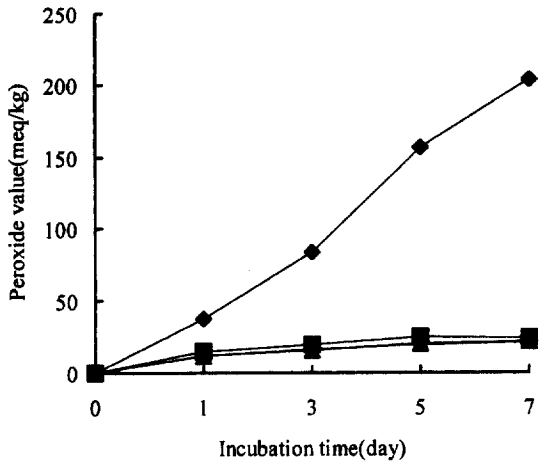


Fig. 2. Peroxide value of linoleic acid emulsion treated with methanol extract of soybean, large and small black bean chungkugjang. ◆: control, ■: soybean chungkugjang, ●: large black bean, ▲: small black bean

가한 것의 93.1%보다는 그 효과가 낮게 나타났지만 모두 상당한 효과를 나타내었다. 또한 대두 청국장의 67.3%에 비하여 대립 및 소립 검정콩 청국장이 각각 76.4 및 75.5%로서 더 높게 나타났다. 또한 아질산염 소거능을 조사한 결과 청국장 메탄을 추출물의 아질산염 소거능은 대두, 대립 및 소립 검정콩 메탄을 추출물에서 각각 96.8, 97.2 및 92.8%로서 모두 90% 이상을 나타내었다.

Lee 등⁽²³⁾은 된장의 메탄을 추출물에 대하여 수소공여능에 대하여 보고하였고, Rhee 등⁽²⁴⁾은 탈지 대두, 메주 및 된장 phenol 물질의 수소공여능을 측정된 결과 시료 모두에서 그 효과가 나타났다고 보고하였으며, Choi 등⁽²⁵⁾은 대두, 메주 및 된장의 메탄을 추출물에 대한 아질산염 소거능을 조사한 결과 된장, 대두 및 메주의 순으로 그 효과가 컸다고 보고하여 청국장의 수소공여능과 아질산염 소거능은 원료콩 자체 및 발효과정중 생성되는 물질에 의하여 생성되는 것으로 생각된다.

Linoleic acid에 대한 항산화 효과

각 청국장의 메탄을 추출물을 조제하여 linoleic acid에 대한 항산화력을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 청국장 메탄을 추출물의 linoleic acid에 대한 항산화력은 linoleic acid에 청국장 메탄을 추출물을 첨가한 후 50°C에서 7일간 저장하면서 과산화물가를 측정된 결과, 청국장 메탄을 추출물을 첨가하지 않은 대조구는 저장 1, 3, 5 및 7일 후에 과산화물가가 38, 84, 157 및

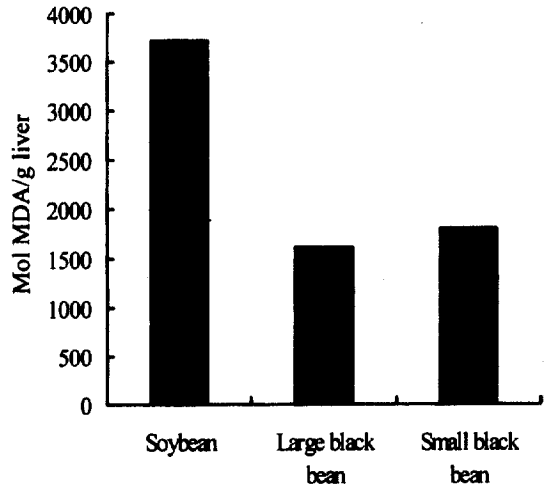


Fig. 3. Effect of methanol extract of chungkugjang prepared with soybean, large and small black bean on TBA value of liver.

204 meq/kg이었는데, 청국장 메탄을 첨가한 시험구에는 저장 7일 후에도 모두 30 meq/kg이하로서 상당한 항산화효과가 있었다. 시험구 중에서도 대두 청국장의 메탄을 추출물보다도 대립 및 소립 검정콩 청국장류의 메탄을 추출물의 과산화물가가 약간 낮게 나타났다.

Bae 등⁽²⁶⁾은 linoleic acid에 된장의 핵산, 메탄을 및 물 추출물을 첨가한 후 50°C에서 25시간 저장하면서 과산화물가를 측정된 결과 추출물을 첨가하지 않은 대조구에 비하여 과산화물가가 크게 감소하여 강한 항산화효과가 있는 것으로 보고하였다. Lee 등⁽²³⁾은 linoleic acid에 된장 메탄을 추출물을 농도별로 첨가한 후 50°C에서 48시간 저장하면서 과산화물가를 측정된 결과 대조구에 비하여 과산화물가가 크게 감소하여 항산화효과가 우수한 것으로 나타났으며, 첨가 추출물 농도가 높을수록 그 효과는 더 크다고 보고하였다. Rhee 등⁽²⁴⁾은 탈지 대두, 메주 및 된장 phenol물질의 항산화력을 측정된 결과 이들 모두 대조구에 비하여 항산화력이 뛰어났으며, 그 순서는 된장, 메주 및 탈지대두 순으로 항산화력이 크게 나타났다고 보고하여 청국장의 항산화력 역시 콩 원료 자체 성분 및 발효과정 중 생성되는 물질에 의한 효과로 판단된다.

흰쥐의 간 지질에 대한 과산화 억제효과

각 청국장의 메탄을 추출물에 대한 항산화 효과를 측정하기 위하여, 흰쥐의 간 지질에 청국장 메탄을 추출물을 첨가한 다음 42°C에서 72시간 동안 저장한 후 TBA가를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

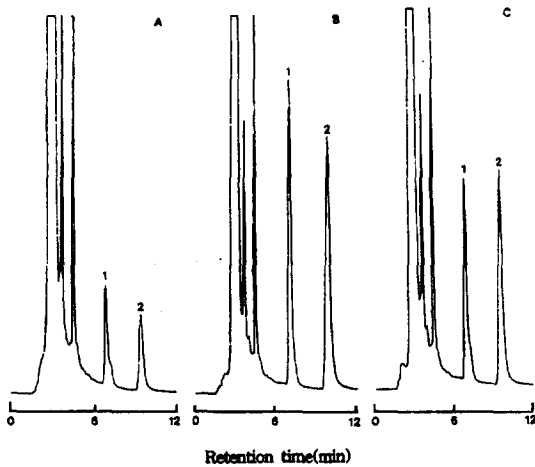


Fig. 4. HPLC chromatogram of daidzein and genistein in soybean(A), large(B) and small black soybean chungkugjang(C). (1. Daidzein, 2. Genistein)

흰쥐의 간 지질에 대한 TBA가는 청국장 메탄을 추출물을 첨가하지 않은 대조구에서 3597 μmol malondialdehyde(MDA)/g liver이었고, 청국장 메탄을 추출물을 첨가한 시험구들의 TBA가는 1443 μmol MDA/g liver로서 모두 대조구에 비하여 낮게 나타나 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 대두 청국장의 메탄을 추출물을 첨가한 시험구 보다 대립 및 소립 검정콩 청국장류의 메탄을 추출물을 첨가한 시험구의 TBA가 더 낮게 나타났다.

Phytoestrogen

청국장의 발효과정중 daidzein 및 genistein의 함량을 측정된 결과는 Fig. 4 및 Table 2와 같다. Daidzein 및 genistein의 함량은 발효기간이 지날수록 계속적으로 증가하는 경향이였으며, 대두에 비하여 검정콩 청국장의 함량이 훨씬 높았고, 그중 대립 검정콩이 소립 검정콩으로 제조한 청국장의 함량보다 높게 나타났다. 또한 genistein의 함량의 대체로 daidzein 함량의 2배정도 되는 것으로 나타났다. 대두의 경우 daidzein과 genistein의 total 함량이 처음에 283.34 $\mu\text{g/g}$ 이었던 것이 발효 3일 후에는 499.15 $\mu\text{g/g}$ 로 증가하였고, 대립 검정콩의 경우는 처음에 779.92 $\mu\text{g/g}$ 이었던 것이 발효 3일 후에는 1,278.04 $\mu\text{g/g}$ 으로 증가하였으며, 소립 검정콩의 경우는 처음에 582.56 $\mu\text{g/g}$ 이었던 것이 발효 3일 후에는 907.85 $\mu\text{g/g}$ 로 증가되었는데, 이는 발효과정중 daidzein과 genistein을 함유한 배당체 isoflavone류 들의 당류 부분이 분해된 결과라고 생각된다.

Wang 등⁽²⁷⁾은 HPLC를 이용하여 대두에서 daidzein

Table 2. Changes in daidzein and genistein contents of chungkugjang prepared with soybean, large and small black bean during fermentation (unit: $\mu\text{g/g}$)

Fermentation time(hr)	Compound	Soybean	Large black bean	Small black bean
0	Daidzein	121.03	272.02	186.64
	Genistein	166.07	507.90	396.92
	Total	283.34	779.92	582.56
24	Daidzein	129.30	317.48	204.88
	Genistein	190.82	567.67	426.52
	Total	320.12	885.15	630.40
48	Daidzein	171.02	338.72	274.22
	Genistein	289.37	712.23	575.59
	Total	460.39	1,050.95	849.81
72	Daidzein	198.17	412.81	309.97
	Genistein	300.98	865.23	597.88
	Total	499.15	1,278.04	907.85

및 genistein을 분리하였는데, 그 함량이 각각 306.5 및 427.9 $\mu\text{g/g}$ 이었고, Choi 등⁽²⁸⁾은 검정콩에서 daidzein 및 genistein을 분리하였는데, 그 함량이 각각 379 및 318 $\mu\text{g/g}$ 이었다고 보고하였다. Lee 등⁽²³⁾은 발효 기간이 60일 경과한 된장에서 daidzein, genistin 및 genistein과 같은 3종류의 isoflavone 물질을 분리하였으며, 그 함량이 각각 7.47, 59.59 및 283.78 $\mu\text{g/g}$ 이었다고 보고하였는데, 본 실험의 청국장과 비교하여 볼 때 대두 청국장과는 그 함량이 비슷하였으나, 대두 및 소립 검정콩 청국장의 경우는 된장에 비하여 그 함량이 훨씬 더 많았으며, 이는 대두보다 검정콩의 isoflavone 함량이 많기 때문인 것으로 판단된다.

요 약

검정콩을 이용하여 제조된 청국장의 기능적 특성을 평가하기 위하여 검정콩 청국장의 메탄을 추출물에 대한 몇가지 기초적인 생리활성과 발효중 phytoestrogen 화합물(daidzein, genistein)의 함량변화를 조사하였다. 대두 청국장의 추출물은 대부분의 시험군주에 대하여 거의 항균활성이 없거나 약하게 나타났으나, 검정콩 청국장의 추출물은 시험군주 모두에서 항균활성을 나타내었다. 특히, 소립 검정콩의 청국장 추출물의 항균활성이 대립 검정콩보다 강하였다. 대립 및 소립 검정콩 청국장의 수소공여능은 각각 76.4 및 75.5%로서 대두 청국장의 67.3%에 비하여 더 높게 나타났다. 또한 아질산염 소거능은 각 청국장 추출물에서 대조구에 비하여 모두 90%이상을 나타내었다. Linoleic acid에 대한 과산화물 및 흰쥐의 간 지질에 대한 TBA의 수치는 청국장의 추출물을 첨가한 시험구가 첨가하지 않

은 대조구에 비하여 낮았으며, 그 항산화 효과는 소립 검정콩, 대립 검정콩 및 대두 청국장의 추출물 순이었다. Daidzein 및 genistein의 함량은 청국장 발효중 점진적으로 증가하였으며, 대두 청국장에 비하여 검정콩 청국장의 함량이 훨씬 높았고, 대립 검정콩이 소립 검정콩으로 제조한 청국장의 함량보다 높게 나타났다. 또한 genistein 함량은 대체로 daidzein 함량의 2배정도였다.

문 헌

1. Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. Physico-chemical properties of viscous substance extracted from chungkook-jang. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 599-604 (1991)
2. Lee, K.H., Lee, H.J. and Chung, M.K. Studies on chungkookjang(Part I). On the changes of soybean protein in manufacturing chungkookjang. J. Korean Agric. Chem. Soc. 14: 191-200 (1971)
3. Lee, B.Y., Kim, D.M. and Kim, K.H. Studies on the change in rheological properties of chungkook-jang. Korean J. Food Sci. Technol. 23: 478-484 (1991)
4. Lee, H.J. and Suh, J.S. Effect of *Bacillus* strains on the chungkookjang processing(1). Changes of the components and enzyme activities during chungkookjang-koji preparation. Korean J. Nutr. 14: 97-104 (1981)
5. Kim, K.J., Ryu, M.K. and Kim, S.S. Chungkook-jang koji fermentation with rice straw. Korean J. Food Sci. Technol. 14: 301-308 (1982)
6. Seok, Y.R., Kim, Y.H., Woo, H.S., Kim, T.W., Lee, S.H. and Choi, C. Change of protein and amino acid composition during chungkook-jang fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. J. Korean Chem. Soc. 37: 65-73 (1994)
7. Kim, Y.T., Kim, W.K. and Oh, H.I. General microbiology, Physiology and metabolism; Screening and identification of the fibinolytic bacterial strain from chungkook-jang. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23: 1-5 (1995)
8. Kim, B.N. and Lee, S.Y. Nattokinase, γ -GTP, protease activity and sensory evaluation of natto added with spice. J. Korean Soc. Food Nutr. 24: 228-233 (1995)
9. Jung, J.H., Kang, S.G., Kim, Y.S. and Chung, H.J. Degradation of phytic acid in chungkookjang fermented with phytase-producing bacteria. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 18: 423-428 (1990)
10. Joo, H.K. Studies on chemical composition of commercial chungkookjang and flavor compounds of chungkookjang by mugwort(*Artemisia asiatica*) or red pepper seed oil. Korea Soybean Digest 13: 44-56 (1996)
11. Choi, S.H. and Ji, Y.A. Changes in flavor of chungkookjang during fermentation, Korean J. Food Sci. Technol. 21: 229-234 (1989)
12. Record, I.R., Dreosit, I.E. and McInerney, J.K. The antioxidant activity of genistein in vitro. J. Nutr. Biochem. 6: 481-485 (1995)
13. Pratt, D.E. and Birac, P.M. Sources of antioxidant activity of soybeans and soy products. J. Food Sci. 44: 1720-1275 (1979)
14. Wei, H., Wei, L., Frenkel, K., Bowen, R. and Barnes, S. Inhibition of tumor promotor-induced hydrogen peroxide formation *in vitro* and *in vivo* by genistein. Nutr. Cancer 20: 1-5 (1993)
15. Wei, H., Cai, Q. and Rahn, R. Inhibition of UV light- and Fenton reaction-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. Carcinogenesis 17: 73-78 (1996)
16. Cancer Institute News: The anticarcinogenic properties of soybean. U.S.A. 1998. 3. 6.
17. Park, S.K., Park, J.R., Lee, S.W., Seo, K.I., Kang, S.K. and Shim, K.H. Antimicrobial activity and heat stability of water-pretreated extract of leaf mustard *Dol-san(Brassica juncea)*. J. Korean Soc. Food. Nutr. 24: 707-712 (1995)
18. Bois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1204 (1958)
19. A.O.A.C. Official Method of Analysis. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. p.223 (1980)
20. Gutteridge, J.M.C. Free-radical damage to lipids, amino acids, carbohydrates and nucleic acids determined by thiobarbituric acid reactivity. Int. J. Biochem. 14: 649-654 (1982)
21. Gray, J.I. and Dugan, L.R. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. J. Food Sci. 40: 981-986 (1975)
22. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Hayashi, T. and Taniyama, T. Characterization of saponin constituents in soybeans of various origins and quantitative analysis of soyasaponins by gas-liquid chromatography. Yakugaku Zasshi 104: 162-168 (1984)
23. Lee, J.S. and Cheigh, H.S. Antioxidative characteristics of isolated crude phenolics from soybean fermented foods(*Doenjang*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 376-382 (1997)
24. Rhee, S.H., Kim, S.K. and Cheigh, H.S. Studies on the lipids in Korean soybean fermented foods. Korean J. Food Sci. Technol. 15: 399-403 (1983)
25. Choe, G.S., Lim, S.Y. and Choi, J.S. Antioxidant and nitrite scavenging effect of soybean, Meju and Doenjang. Korean J. Life Science 8: 473-478 (1998)
26. Bae, E.A. and Moon, G.S. A study on the antioxidative activities of Korean soybeans. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 203-208 (1997)
27. Wang, G., Kuan, S. S., Francis, O. J., Ware, G. M. and Carman, A.S. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. J. Agric. Food Chem. 38: 185-190 (1990)
28. Choi, J.S., Kwon, T.W. and Kim, J.S. Isoflavone contents in some varieties of soybean. Food and Biotechnology 5: 167-169 (1996)