

품종별 검은콩 발효물의 항산화 및 휘발성 화합물 특성

신동선 · 박혜영 · 박지영 · 심은영 · 김홍식 · 정광호 · 최혜선*

농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부

Properties of Antioxidant Activities and Volatile Flavor Compounds of Fermented Black Soybean Products by Soybean Cultivar

Dong Sun Shin, Hye-young Park, Ji Young Park, Eun-yeong Sim,
Hong-Sik Kim, Kwang-Ho Jeong, and Hye Sun Choi*

Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

Abstract

This study analyzed the nutritional composition properties of soybeans and the antioxidants, isoflavones, organic acids, and volatile flavor compounds of fermented black soybean products (FBSP). After 24 hours of fermentation, the range of water uptake ratio was 129.00-131.30%, respectively. Total polyphenols content and DPPH and ABTS radical scavenging activity were higher in Cheongja-3 FBSP, flavonoids in Socheongja, while DPPH and ABTS radical scavenging activities were similar in Cheongja-3 FBSP. Isoflavone contents of aglycones (daidzein, genistein, and glycitein) in Cheongja-4 FBSP increased up to 41.97 µg/g. The rank order of primary organic acids was citric acid > fumaric acid > acetic acid > lactic acid, with Cheongja-3 FBSP being the highest. This study identified a total of 34 volatile aroma-compounds, including seven alcohols, seven acids, seven ketones, five phenols, two esters, one furan, four pyrazines, and one miscellaneous. The result could be applied to determine the suitability of cultivars and the quality of the process used for fermented soybean products.

Key words: black soybean, fermenting, antioxidant, volatile flavor compounds

서 론

콩을 이용한 대표적인 발효식품으로는 간장, 된장, 청국장 등 장류로서 원료콩과 발효조건에 따라 발효특성이 달라지므로, 맛과 향 등 품질에 중요한 영향을 미치게 된다(Lee et al., 2015; Shin et al., 2020). 이러한 콩 발효제품은 발효과정에서 미생물이 생성하는 효소들에 의해 당질이나 단백질이 분해되어 소화흡수율이 향상되며, 원료콩 보다 면역기능, 항산화, 혈전용해, 항돌연변이, 항암 등 생리활성에 더 효과적인 것으로 보고되고 있다(Cho et al., 2000; Joo & Park, 2010; Han et al., 2015). 또한, 콩의 이소플라본은 여성의 노화 방지와 폐경기 여성의 갱년기 증상에 효과적이며, 특히 식물성 에스트로젠으로 알려져 있어 갱년기 완화 관련 다양한 생리활성을 나타내는 비배당체인 daidzein과 genistein 함량이 높은 것으로 보고되고 있

다(Bae et al., 2008; Kang et al., 2003; Kim et al., 2005).

검은콩(*Glycine max* [L.] Merr.)은 전 세계적으로 널리 재배되고 소비되는 작물중의 하나로 단백질, 식이섬유, 이소플라본, 안토시아닌, 사포닌, 레시틴 등의 생리활성 물질을 함유하고 있어 건강 기능성식품의 소재로 널리 이용되고 있다(Kim, 2006; Chen et al., 2013). 이러한 검은콩의 유용성분은 항산화, 항암, 비만억제, 심혈관질환 등의 다양한 효과가 연구되었다(Myung & Hwang 2008; Kim et al., 2008; Joo & Park 2010; Lee et al., 2018). 이에 따라 최근 블랙푸드에 대한 열풍과 함께 검은콩에 대한 생리활성 효능이 알려지면서 산업체 및 소비자들의 관심이 더 높아지고 있다. 검은콩에 대한 연구로는 여성의 산화 스트레스 감소로 혈관기능 향상(Joo & Park 2010; Yamashita et al., 2020), 항산화 효과(Peng et al., 2017), 검은콩의 안토시아닌이 내장지방 감소로 비만개선(Lee et al., 2016), 검은콩의 생리활성(Hwang et al., 2013) 등이 보고되었으며, 검은콩 발효물에 대한 연구로는 주로 다양한 균주를 접종하여 제조한 발효물의 품질특성(Chen et al., 2013; Hwang et al., 2013)이 보고되었고, 버섯 균사체 이용 검은콩 발효물의 기능성(Kim et al., 2017), 검은콩 발효물의 혈전용해능(Joo & Park 2010)등 보고되기도 하였지만 아직 미미한

*Corresponding author: Hye Sun Choi, Dept. of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, RDA, Suwon, Gyeonggi 16613, Korea.

Tel: +82-31-695-0623; Fax: +82-31-695-0609

E-mail: choihs9587@korea.kr

Received November 2, 2020; revised November 18, 2020; accepted November 23, 2020

실정이다.

본 연구에서는 산업체에서 건강기능성 콩 발효제품을 개발하는데 기초 자료로 활용하고자 생리활성이 우수한 검은콩을 이용하여 발효물을 제조한 후 항산화성, 이소플라본, 유기산, 휘발성 향기성분 등의 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

시료 및 검은콩 발효물 제조

실험에 사용된 원료콩은 청자3호(Cheongja-3, Miryang, Korea), 청자4호(Cheongja-4, Miryang, Korea) 및 소청자(Socheongja, Miryang, Korea) 3종으로 국립식량과학원(경남 밀양)에서 2018년 수확한 것을 제공받아 사용하였다. 균주는 단백질 분해능이 우수한 *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2을 한국농업미생물자원센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC, Jeonju, Korean)로 부터 분양받아 사용하였다. 검은콩 발효물 제조는 300 g의 콩을 15시간 동안 수침한 다음 autoclave (BF-60AC autoclave, Biofree Co., LTD, Seoul, Korea)를 이용하여 121°C에서 30분 동안 증자하였다. 증자된 콩을 무균조건에서 40°C 이하로 시킨 다음 미리 배양된 *Bacillus amyloliquefaciens* HJ5-2 (OD: 0.5, 10⁸ CFU/g)를 콩 무게의 1%(v/w)를 접종하였다. 이것을 잘 혼합한 다음 스티로폼 상자(21×27×14 cm)에 담아 온도가 37°C, 습도가 70%인 발효실에서 24시간 배양하여 검은콩 발효물을 제조하였다(Lee et al., 2014).

품종별 검은콩의 수침시간에 따른 수분흡수율

품종별 검은콩의 수분흡수율 측정은 각각의 시료를 5 g 씩 시험관에 넣고 증류수 45 mL를 넣고 즉시 항온기에 넣었다. 각각의 시료를 수침시간별 1, 3, 5, 7, 9, 12, 17 및 24시간 수침을 유지하였으며, 수침수의 온도는 항온기 안에서 25°C로 유지하면서 실험을 진행하였다. 이것을 수침 시간별로 시험관을 꺼내어 물을 제거한 다음 여과지로 표면의 물기를 제거하여 무게 증가비율로 수분 흡수율을 아래의 식으로 계산하였다(Shin et al., 2019).

$$\text{수분흡수율(\%)} = \frac{\text{수침 후 시료무게} - \text{수침 전 시료무게}}{\text{수침 전 시료무게}} \times 100$$

품종별 검은콩 발효물의 항산화 활성

품종별 검은콩 발효물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Singleton et al. (1999)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu법으로 측정하였다. 시료 추출물 100 µL에 2% Na₂CO₃ 2 mL를 가하여 혼합한 후 3분 동안 방치하였다. 여기에 50% Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich) 100 µL와 Na₂CO₃ 용액을 첨가한 다음 30분 동안 상온에서 방치한 후 750 nm에서 흡광도 측정하였다. 표준물질로 gallic acid (Sigma-

Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 검량선을 작성하였고, 이로 부터 총 폴리페놀 함량을 계산하였다. 총 플라보노이드 함량은 Amerinem & Ough (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 25 µL에 증류수 100 µL와 5% NaNO₂ 7.5 µL를 넣은 다음 5분간 방치하였다. 이후 10% AlCl₃·6H₂O 15 µL를 넣고 6분 동안 방치한 다음 1 M NaOH 50 µL 첨가한 후 11분 후에 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin hydrate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

품종별 검은콩 발효물의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의해 생성된 free radical 전자공여작용(electron donating ability, EDA) 측정은 Blois (1958)의 방법을 참고로 측정하였다. 추출물 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 용액(99.9% ethanol에 용해) 0.8 mL를 첨가한 다음 vortex mixer로 10초 동안 진탕하고 30분 후에 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 계산하였다. 총 항산화력은 ABTS radical 소거능으로 측정하였다(Leong & Shui 2002). 즉, ABTS (2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치한 다음 735 nm에서 흡광도 값이 1.4-1.5가 되도록 물로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 1 mL와 추출액 50 µL를 첨가한 후 30분 방치한 다음 흡광도를 측정하였다. 표준물질로서 L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, mg AA eq/g sample)로 하였다.

품종별 검은콩 발효물의 이소플라본

검은콩 발효물의 이소플라본 함량 분석은 Wang et al. (1990)의 방법을 참고로 하였다. 시료 2 g에 acetonitrile 24 mL와 1 M hydrogen chloride 6 mL로 실온에서 1시간 추출하여 여과(Whatman No. 2, Whatman, Clifton, NJ, USA)한 후 증류수로 2배 희석하였고, 0.22 µm membrane filter로 filtration 시켜 ultra performance liquid chromatography (UPLC, Waters Co., Milford, MA, USA)로 분석하였다. Column은 ACQUITY UPLC[®]HSS C18 column (1.8 µm, 2.1×75 mm), 이동상은 0.1% acetic acid를 함유한 10% 메탄올(용매 A)과 0.1% acetic acid를 함유한 메탄올(용매 B)을 사용하였다. 용매 gradient는 용매 B의 농도를 17분간 26%에서 50%로 증가시켰고, 유속은 0.3 mL/min, 주입량은 0.8 µL, UV detector (254 nm)로 검출하였다.

품종별 검은콩 발효물의 유기산

품종별 검은콩 발효물의 유기산 함량은 Lee et al.

(2014)의 방법을 참고로 하였다. 시료 1 g에 증류수 10 mL를 첨가하여 1시간 초음파(Sonicator, BKUP-600N, Biokonvison)처리한 다음 0.22 µm membrane filter (Merck Millipore)로 여과한 것을 시험용액으로 하였다. 유기산 분석은 HLB Sep-pak C18 cartridge (Waters Co., USA)에 통과시킨 후 HPLC (Dionex Ultimate 3000, pump, autosampler, USA)로 분석하였다. 사용된 column은 Aminex 87H (300 mm×6.5 mm, Waters Co., USA)이었으며 mobile phase는 0.01N sulfuric acid이었다. Injection volume은 10 µL, flow rate는 0.5 mL/min로 하여 UV detector (Shodex RI-101, RefractoMAX520, Japan)로 검출하였다. 표준물질로는 citric acid, lactic acid, fumaric acid, succinic acid 및 acetic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

품종별 검은콩 발효물의 휘발성 화합물

품종별 검은콩 발효물의 휘발성 화합물 분석은 GC/MS (TRACE1310, Thermo, USA, TSQ8000, Thermo, USA)를 이용하였다. 휘발성 화합물의 향기성분 포집은 SPME (solid phase micro extraction)방법으로 하였고, fiber는 carboxen/polydimethylsiloxane fiber (CAR/PDMS, 75 mL, Supelco, Bellefonte, PA, USA)이 코팅된 것을 이용하였다. 향을 포집한 후 injector에서 5분 동안 정치시킨 다음 NIST library (Mass spectral program, version 4.5, USA)를 함께 이용하였다. 사용된 컬럼은 DB-WAX 컬럼(Agilent 60 m×0.25 mm, 필름 두께 0.5 µm)이었으며, injector의 온도는 240°C이었고 질량 선택적 검출기의 계면온도는 250°C로 하였다. GC/MS로 얻은 mass spectrum을 Wiley 275 data base로 library search한 결과를 이용하여 동정하였다 (Park et al., 2017).

통계처리

본 실험 데이터는 SPSS 시스템(Statistical Pack-age for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) soft-ware package (version 12.0)를 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 평균값은 one-way analysis of variance (ANOVA)로 비교 분석하였으며, Duncan's multiple range test에 의하여 $p < 0.05$ 유의수준에서 평균 간 다중비교를 실시하여 검정하였다.

결과 및 고찰

품종별 검은콩의 수침시간에 따른 수분흡수율

품종별 검은콩 발효물 제조 시 원료콩의 수침시간을 결정하기 위하여 수분흡수율을 측정된 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같았다. 원료콩의 수분흡수율은 1, 3, 5, 7, 9, 12, 17 및 24시간 동안 시간별로 측정하였는데, 모든 품종에서 수침 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 모든

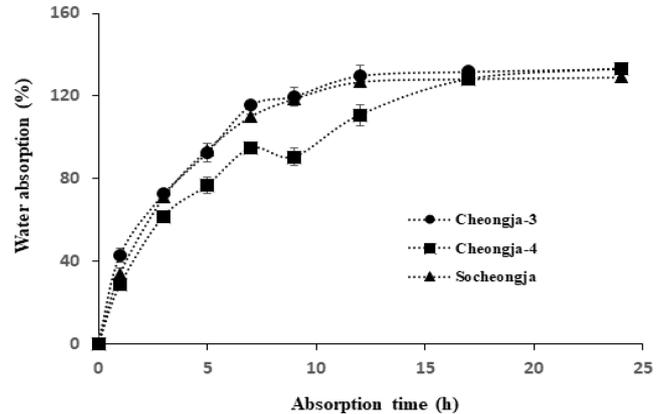


Fig. 1. Water absorption of fermented black soybean of according to cultivars.

품종에서 수침 5시간까지는 급격히 증가하다가 그 이후 완만하게 증가하는 경향으로 나타났다. 수분흡수율이 평형을 이루는 시간은 청자3호와 소청자의 경우 12시간 전후이었고 청자4호는 17시간 전후로 나타나 다른 품종에 비해 수분흡수속도가 느리게 나타났다. 이는 수분흡수속도가 느린 콩은 종피의 성분 중 칼슘 및 조섬유 함량이 더 높았다고 한 보고(Seio, 1976)가 있어 콩의 수분흡수율 차이는 품종, 저장방법 등에 의한 화학적 성분과 종피유에 따라 다른 것으로 사료된다(Shin et al., 2019). 수침 12시간 기준으로 품종별 검은콩의 수분흡수율은 청자3호가 129.87%로 가장 높았고 그 다음으로 소청자가 126.76%, 청자4호가 110.66% 수준이었다. Shin et al. (2019)은 장류용 콩의 수분흡수율이 수침 3시간까지 급격히 증가하다가 수침 12시간 전후로 완만하게 수분평형을 이루었다고 하였으며, Chu et al. (2014)의 보고에서 콩의 수침 2시간에 수분흡수율이 가장 급격히 증가하였고 16시간 전후에 수분평형을 이루었다고 하여 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.

품종별 검은콩 발효물의 항산화 활성

Table 1는 품종별로 제조한 검은콩 발효물의 총 폴리페놀과 플라보노이드, DPPH와 ABTS radical 소거능 등의 항산화성을 측정된 결과이다. 일반적으로 원료콩 보다 콩을 발효하였을 때 항산화 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Joo & Park 2010; Lee et al., 2016). 검은콩 발효물의 항산화 활성은 품종별로 다르게 나타났는데, 총 폴리페놀 함량은 청자3호 발효물의 경우 473.41 mg gallic acid equivalent (GAE)/g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 플라보노이드 함량은 소청자 발효물이 17.72 mg catechin equivalent (CE)/g로 가장 높았고 청자4호 발효물이 11.50 mg (CE)/g로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 기 보고된 연구에서 검은콩인 서리태 청국장(청)의 총 폴리페놀함량은 403.58 mg (GAE)/g이라고 보고(Joo & Park 2010)하여 본 실험과 유사하였다. 또한, Kim et al. (2017)은 쥐눈이콩

Table 1. Antioxidant activities of fermented black soybean of according to cultivars

Antioxidant activities	Cultivars		
	Cheongja-3	Cheongja-4	Socheongja
Polyphenol and flavonoid contents ¹⁾			
Total polyphenol (mg GAE/g)	473.41±6.22 ^{a3)}	470.33±3.64 ^b	469.31±8.32 ^c
Total flavonoid (mg CE/g)	16.50±0.67 ^b	11.50±0.67 ^c	17.72±0.51 ^a
Radical-scavenging activity ²⁾			
DPPH (mg AEAC/g)	19.64±0.15 ^{a1)}	18.01±0.30 ^c	19.21±0.26 ^b
ABTS (mg AEAC/g)	58.97±0.06 ^a	57.67±0.05 ^b	57.06±0.11 ^c

¹⁾ Polyphenol and flavonoid contents: mg GAE/g; mg gallic acid equivalent/extract g, mg CE/g; mg catechin equivalent/extract g.

²⁾ Radical scavenging activity: mg AEAC/g; mg ascorbic acid equivalent antioxidant capacity/extract g.

³⁾ Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

발효물의 총 플라보노이드는 32.7 mg (CE)/g으로 본 실험과 차이가 있었다. 이러한 차이는 미생물 균주의 특성과 품종 및 온도 등의 발효조건에 따른 효소활성에 의해 항산화 활성이 다르게 나타난 것으로 사료된다. DPPH와 ABTS radical 소거능은 Table 1에서 보는 바와 같이 항산화 성분인 총 폴리페놀과 플라보노이드와 비슷한 양상으로 청자3호 발효물이 높은 활성을 나타내었다. 앞서 총 폴리페놀 함량의 결과와 ABTS radical 소거능 결과와의 유사한 경향을 보였다. Kim et al. (2017)은 검은콩 발효물의 항산화 활성의 상관성을 분석한 결과 총 폴리페놀과 ABTS radical 소거능의 항산화 활성간의 유의적인 상관성을 확인하였다고 하였다(Kim et al., 2017). 이러한 검은콩 발효물의 항산화성 결과로 항산화성이 우수한 검은콩 발효물의 품종 선택과 산업체에서 기능성식품으로서 이용가능성을 제시 할 수 있을 것이다.

품종별 검은콩 발효물의 이소플라본

품종별 검은콩 발효물의 이소플라본을 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다. 검은콩 발효물에 함유된 이소플라본은 비배당체인 daidzein, genistein, glycitein 3종류와 배당체인 daidzin, genistin, glycitin, 각각의 배당체인 malonyl화, acetyl화 배당체 등 12개의 종류가 확인되었다. 비배당체의 총 함량은 품종별로 각각 대립종인 청자3호가 40.85 µg/g, 청자4호가 41.97 µg/g이었고 소립종인 소청자가 34.30 µg/g으로 나타나 대립종 보다 소립종이 낮은 함량을 나타내었다. Shon et al. (2001)은 검은콩 청국장장의 이소플라본의 함량을 측정된 결과 비배당체 중 daidzein 보다 genistein 함량이 높았으며 소립종에 비해 대립종으로 제조한 청국장장에서 이소플라본 함량이 높았다고 한 보고와 본 실험의 결과와 유사하였다. 또한, 콩을 발효하였을 때 이소플라본이 증가는 발효과정 중 daidzein과 genistein을 함유한 배당체 이소플라본류에서 당류 부분이 분해되기 때문이라고 하였다. 일반적으로 이소플라본은 glycosided 형태(malonyl-, β- 및 acetyl-)의 이소플라본 이성질체와 비배당체 형태로 존재하는데 콩의 수침 및 가열 등 가공처리에 의해 용출된

Table 2. Isoflavone contents of fermented black soybean of according to cultivars (µg/g, dry basis)

Isoflavone	Cultivars		
	Cheongja-3	Cheongja-4	Socheongja
Daidzein	16.05±3.64 ^{b1)}	16.30±0.96 ^a	13.05±2.42 ^c
Genistein	20.05±2.46 ^a	20.29±6.02 ^a	17.75±0.65 ^b
Glycitein	4.75±2.62 ^b	5.38±3.45 ^a	3.50±1.27 ^c
Daidzin	188.75±4.56 ^b	190.35±5.67 ^a	172.80±5.52 ^c
Genistin	494.30±6.26 ^b	527.52±7.15 ^a	416.75±4.79 ^c
Glycitin	72.80±9.63 ^b	75.40±2.56 ^a	64.40±1.95 ^c
Malonyl-daidzin	7.25±1.14 ^a	7.19±0.95 ^a	5.34±0.15 ^b
Malonyl-genistin	18.55±2.34 ^a	18.63±4.53 ^a	16.70±0.81 ^b
Malonyl-glycitin	ND ²⁾	ND	ND
Acetyl-daidzin	38.60±7.92 ^b	39.91±1.34 ^a	26.65±1.13 ^c
Acetyl-genistin	39.50±2.41 ^a	39.75±3.84 ^a	31.74±0.64 ^b
Acetyl-glycitin	8.50±2.05 ^b	8.75±0.78 ^a	8.00±1.72 ^c

¹⁾ Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

²⁾ ND: not detected

β-glycosidase의 작용에 의해 비배당체로 전환되는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2016). 따라서, 본 실험에서 검은콩 발효과정 중 미생물이 가지고 있는 β-glucosidase에 의한 배당체가 가수분해 되는 정도가 다르기 때문에 품종별로 이소플라본 함량의 차이가 있는 것으로 사료된다.

품종별 검은콩 발효물의 유기산

품종별 검은콩 발효물의 유기산 함량을 측정된 결과 Table 3과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 acetic acid, citric acid, fumaric acid 및 lactic acid 4종이 검출되었다. 유기산 함량은 청자4호 발효물이 가장 많이 검출되었으며 유기산 중 citric acid가 가장 높은 함량을 나타내었다. Gil et al. (2016)은 청국장장의 유기산 함량은 미생물 접종 균주와 상관없이 lactic acid가 가장 높은 함량을 나타내었다는 보고와 Youn et al. (2002)의 연구에서 장류용 콩을 이용한 청국장장의 주된 유기산은 acetic acid가 가장 많이 검출되었다는 보고와는 본 실험의 결과와 다른 양상을 보였다. Oh et

Table 3. Organic acid composition of fermented black soybean of according to cultivars (% , dry basis)

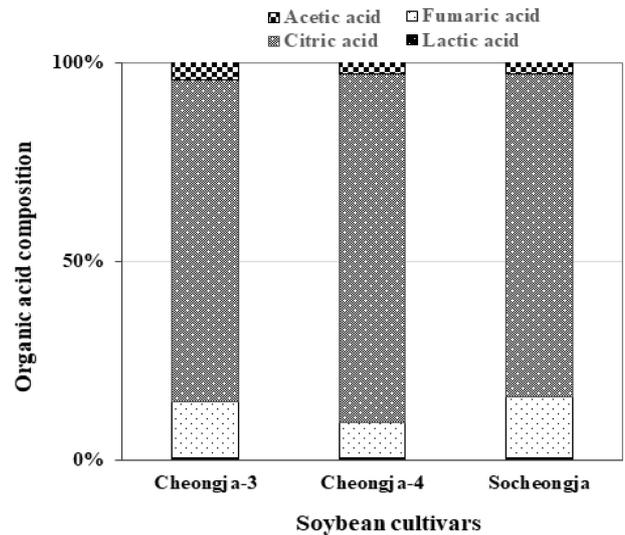
Organic acid	Cultivars		
	Cheongja-3	Cheongja-4	Socheongja
Acetic acid	4.67±0.05 ^{A1)c2)}	3.21±0.03 ^{Bc}	3.11±0.03 ^{Bc}
Citric acid	80.99±0.81 ^{Ba}	87.56±0.88 ^{Aa}	81.30±0.79 ^{Ba}
Fumaric acid	14.01±0.14 ^{Bb}	8.93±0.10 ^{Cb}	15.29±0.15 ^{Ab}
Lactic acid	0.34±0.01 ^{Ad}	0.30±0.01 ^{Ad}	0.30±0.01 ^{Ad}
Succinic acid	ND ³⁾	ND	ND

¹⁾ Any means in the same row followed by the capital letter (A-C) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

²⁾ Any means in the same column followed by the small letter (a-m) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

³⁾ ND: not detected

al. (2003)은 원료 콩에는 유기산 중 citric acid가 많이 함유되어 있지만 발효과정에서 미생물의 에너지원으로 이용되면서 급격히 감소되고 lactic acid는 내염성 젖산균에 의해 생성되고, acetic acid는 *Bacillus* sp.의 작용으로 증가되는 것으로 보고되었다. 이러한 차이는 장류용콩 발효물 보다 검은콩 발효물의 안토시아닌으로 인해 미생물의 에너지원 이용이 달랐던 것으로 보인다. 또한, 콩 발효물의 유기산 함량의 차이는 콩 품종 및 발효조건, 발효미생물 분포의 차이에서도 기인되는 것으로 생각된다.

**Fig. 2. Organic acid composition ratio of fermented black soybean of according to cultivars.**

품종별 검은콩 발효물의 휘발성 화합물

품종별 검은콩 발효물의 휘발성 화합물을 SPME를 이용하여 GC/MS로 분석한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같았다. 콩 발효물의 휘발성 화합물은 발효과정에서 미생물에 의한 효소, 아미노산, 지방산, 유기산 및 당류 등의 성

Table 4. Volatile compound of fermented black soybean products according to cultivars

Possible compound	RT ¹⁾ (min)	Relative Peak Area (%)		
		Cheongja-3	Cheongja-4	Socheongja
Alcohols				
2,3-Butanediol-(S-(R*,R*))	41.81	4.57±0.05 ^{A2)d3)}	4.21±0.24 ^{Af}	2.11±0.12 ^{Bg}
2,3-Butanediol-(R-(R*,R*))	60.02	27.35±1.67 ^{Ca}	28.89±1.14 ^{Ba}	30.98±2.43 ^{Aa}
3-Octanol	12.95	0.04±0.00 ^{Bm}	0.23±0.01 ^{Bl}	0.78±0.00 ^{Ai}
Benzeneethanol	59.66	0.47±0.04 ^{Bl}	0.53±0.00 ^{Bk}	1.22±0.03 ^{Ah}
2-Furanmethanol	15.08	0.19±0.01 ^{Am}	0.14±0.00 ^{Al}	0.15±0.00 ^{Ak}
Benzyl alcohol	41.81	0.25±0.00 ^{Cm}	0.71±0.02 ^{Bk}	1.48±0.12 ^{Ah}
Oxirane	51.73	0.40±0.01 ^{Al}	0.46±0.01 ^{Ae}	0.58±0.00 ^{Aj}
Acids				
Acetic acid	52.28	4.22±0.16 ^{Ae}	2.94±0.07 ^{Bg}	0.76±0.02 ^{Ci}
Butanoic acid	46.77	0.42±0.00 ^{Al}	0.35±0.00 ^{Ae}	0.27±0.00 ^{Bk}
Propanoic acid	38.02	0.35±0.02 ^{Al}	0.42±0.01 ^{Ak}	0.29±0.01 ^{Bk}
Dimethyl-propanedioic acid	53.78	0.98±0.04 ^{Bk}	1.24±0.01 ^{Aj}	0.72±0.00 ^{Ci}
2-Mehtylbutanoic acid	60.10	1.78±0.02 ^{Ci}	2.15±0.02 ^{Bh}	2.73±0.02 ^{Af}
3-Mehtylbutanoic acid	60.02	2.15±0.06 ^{Bh}	2.67±0.04 ^{Ag}	2.53±0.04 ^{Af}
2-Ethyl-butanoic acid	35.68	1.19±0.02 ^{Be}	1.72±0.05 ^{Ai}	0.72±0.02 ^{Ci}
Ketones				
Acetoin	52.30	20.54±2.52 ^{Ab}	16.27±1.06 ^{Cb}	16.70±0.24 ^{Bc}
3-(Acetyloxy)-2-butanone	59.46	0.10±0.00 ^{Am}	0.10±0.00 ^{Al}	0.12±0.00 ^{Ak}
2-Nonanone	74.19	0.43±0.00 ^{Al}	0.59±0.00 ^{Ak}	0.46±0.01 ^{Aj}
2-Tridecanone	48.79	0.44±0.01 ^{Al}	0.41±0.01 ^{Ak}	0.47±0.00 ^{Aj}

¹⁾ Retention time

²⁾ Any means in the same row followed by the capital letter (A-C) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

³⁾ Any means in the same column followed by the small letter (a-m) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

Table 4. Continued

Possible compound	RT ¹⁾ (min)	Relative Peak Area (%)		
		Cheongja-3	Cheongja-4	Socheongja
Ketones				
2-Tetradecanone	79.46	0.14±0.00 ^{Am}	0.11±0.00 ^{Al}	0.11±0.00 ^{Ak}
Maltol	88.68	4.64±0.42 ^{Cd}	6.16±1.02 ^{Bd}	6.70±0.67 ^{Ad}
Acetophenone	93.60	0.20±0.00 ^{Be}	0.38±0.00 ^{Ae}	0.40±0.03 ^{Aj}
Phenols				
Phenol	35.71	0.41±0.01 ^{Be}	0.45±0.01 ^{Bk}	0.64±0.04 ^{Ai}
2-methoxy-phenol	26.60	1.59±0.07 ^{Bj}	1.30±0.04 ^{Ci}	3.24±0.06 ^{Ae}
2-Methoxy-4-vinylphenol	32.62	1.03±0.04 ^{Bk}	0.42±0.03 ^{Ck}	1.23±0.14 ^{Ah}
Butyl hydroxy toluene	77.55	2.20±0.27 ^{Ah}	1.45±0.02 ^{Bi}	1.05±0.03 ^{Ci}
Geraniol	74.19	0.26±0.00 ^{Am}	0.29±0.00 ^{Al}	0.27±0.00 ^{Ak}
Esters				
2-Mehtylpropanoic acid-ethyl ester	53.79	0.30±0.00 ^{Ae}	0.38±0.02 ^{Ak}	0.31±0.01 ^{Ak}
Ethylester-butanoic acid	67.33	3.36±1.04 ^{Bg}	5.31±0.36 ^{Ae}	1.60±0.02 ^{Ch}
Furan				
2,3-Dihydro-benzofuran	90.45	0.65±0.03 ^{Bl}	0.52±0.02 ^{Bk}	0.86±0.02 ^{Ai}
Pyrazines				
2,5-Dimethyl-pyrazine	38.70	1.42±0.02 ^{Aj}	1.25±0.07 ^{Bj}	0.52±0.02 ^{Cj}
2,6-Dimethyl-pyrazine	38.50	0.16±0.00 ^{Ae}	0.20±0.00 ^{Al}	0.08±0.00 ^{Ak}
Tetramethyl-pyrazine	49.14	3.67±0.67 ^{Af}	1.39±0.03 ^{Be}	0.19±0.00 ^{Ck}
Trimethyl-pyrazine	44.40	4.22±0.76 ^{Ae}	2.94±0.27 ^{Bg}	0.76±0.04 ^{Ci}
Miscellaneous				
Styrene	34.03	9.89±1.02 ^{Cc}	13.39±0.86 ^{Bc}	18.95±1.24 ^{Ab}

¹⁾ Retention time

²⁾ Any means in the same row followed by the capital letter (A-C) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

³⁾ Any means in the same column followed by the small letter (a-m) are not significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

의 휘발성 화합물은 총 34종이 검출되었는데, alcohol 7종, acid 7종, ketone 7종, phenol 5종, ester 2종, furan 1종, pyrazine 4종 및 miscellaneous 1종으로 동정되었다. 가장 많이 검출된 휘발성 화합물은 2,3-butanediol-R-이였으며 그 다음으로 acetoin, styrene, maltol 순으로 나타났다. 콩 발효물이나 청국장 등의 불쾌취로 알려진 butanoic acids는 모든 발효물에서 소량 검출되었는데, 기 보고된 연구와 비슷하였다(Choe et al., 1999). 특히, 콩 발효물의 휘발성 화합물 중 pyrazine류는 amino-sugar 반응에 의해 생성되는 것으로 가열에 의한 아미노산 열분해, 당과 단백질의 반응으로 생성되는 휘발성 화합물로 식품의 향에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Choe et al., 1999; Park et al., 2017). 본 실험의 결과에서 검출된 휘발성 화합물 중 pyrazine류는 2,5-dimethyl pyrazine, 2,6-dimethyl pyrazine, tetramethyl-pyrazine, trimethyl-pyrazine 등 4종이었으며, 품종별로는 청자3호 발효물이 9.47%, 청자4호 발효물이 5.78%, 소청자 발효물이 1.55% 순으로 높게 나타났다. 이는 기 보고된 Park et al. (2017)의 연구에서 콩 발효물의 휘발성 화합물은 특이적으로 pyrazine 화합물이 검출되었다는 보고와 본 연구 결과가 비슷한 경향을 확인되었다. 따라서, 콩 발효물의 휘발성 화합물은 콩 품종, 발효환경

및 분석방법에 따라 휘발성 화합물의 조성과 함량의 차이가 나타나며 맛과 향 등 품질특성에 대한 연구가 구체적으로 이루어진다면 콩 발효제품의 품질향상 및 개선이 이루어질 것으로 사료된다(Shin et al., 2019).

요 약

본 연구에서는 생리활성이 우수한 검은콩을 이용하여 발효물을 제조한 후 항산화성, 이소플라본, 유기산, 휘발성 화합물 등의 특성을 조사하였다. 원료콩의 수분흡수율은 모든 품종에서 수침 시간이 경과함에 따라 증가하였으며, 수분흡수율이 평형을 이루는 시간은 12-17시간 전후로 나타났다. 항산화 활성이 높은 시료는 총 폴리페놀의 경우 청자3호 발효물(473.41 mg GAE/g), 플라보노이드는 소청자 발효물(17.72 mg CE/g)으로 나타났다. DPPH와 ABTS radical 소거능도 비슷한 양상으로 청자3호 발효물에서 높은 활성을 보였다. 이소플라본은 비배당체인 daidzein, genistein, glycitein 3종류와 배당체인 daidzin, genistin, glycitin, 각각의 배당체인 malonyl화, acetyl화 배당체 등 12개의 종류가 확인되었다. 비배당체의 총 함량은 소청자 발효물이 가장 낮았다. 유기산 함량을 acetic acid, citric

acid, fumaric acid 및 lactic acid 4종이 검출되었고 청자4호 발효물이 가장 높았다. 휘발성 화합물은 alcohol 7종, acid 7종, ketone 7종, phenol 5종, ester 2종, furan 1종, pyrazine 4종 및 miscellaneous 1종 등 34종이 동정되었으며 2,3-butanediol-R-화합물이 가장 많이 검출되었다. 불쾌취로 알려진 butanoic acids화합물은 모든 발효물에서 소량 검출되었다. 본 실험의 결과로부터 콩 발효제품의 품질 향상 및 개선을 위하여 용도에 맞는 생리기능성 물질 및 향미특성을 고려한 품종을 선택 한다면 고 품질 기능성식품 개발에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 AGENDA 연구사업(과제번호 :PJ01350803)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Amerin MA, Ough CS. 1958. Method for analysis of musts and win. Wiley & Sons. New York, USA, p 176-180
- Anderson RL, Wolf WJ. 1995. Compositional changes in trypsin inhibitor, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J. Nutr.* 125: 581-588.
- Baek LM, Park LY, Park KS, Lee SH, 2008. Effect of starter cultures on the fermentative characteristics of *Cheonggukjang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 400-405.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 26: 1999-2000.
- Chen YF, Chiang ML, Chou CC, Lo YC. 2013. Enhancing the antitumor cell proliferation and Cu²⁺-chelating effects of black soybeans through fermentation with *Aspergillus awamori*. *J. Bio-science and Bioengineering.* 115: 400-404.
- Cho YJ, Cha WS, Chun SS, Choi UK, Bok SK, Kim MU. 2000. Production and separation of anti-hypertensive peptide during *chunggukjang* fermentation with *Bacillus subtilis* CH-1023. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 43: 247-252.
- Choe JS, Yoo SM, Kim HR, Kim JS, Chang CM. 1999. Volatile compounds of *Cheonggukjang* prepared by different fermentation methods and soybean cultivars. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42:111-115.
- Chu YH, Park JH, Yun SG, Kim YH, Kim SM, Chung KW. 2014. Seed characteristics of domestic breeding varieties in black soybean (*Glycin max* L. Merr.) *Korean J Intl Agri* 14:252-259
- Gil NY, Song J, Eom JS, Park SY, Choi HS. 2016. Changes of physicochemical properties of Cheonggukjang prepared with various soybean cultivars and *Bacillus subtilis* HJ18-9. *Korean J. Food Preserv.* 23: 811-818.
- Han KH, Kim DH, Song KY, Lee SW, Han SH. 2015. The effects of methanol extract from *Cheonggukjang* in T98G cells and early stage of focal ischemia rodent models. *Korean J. Food Nutr.* 28: 965-972.
- Hwang CE, Seo WT, Cho KM. 2013. Enhanced antioxidant effect of black soybean by *Cheonggukjang* with potential probiotic *Bacillus subtilis* CSY191. *Korean J. Microbiology.* 49: 391-397.
- Joo EY, Park CS. 2010. Antioxidative and fibrinolytic activity of extracts from soybean and Chungkukjang(fermented soybeans) prepared from a black soybean cultivar. *Korean J. Food Preserv.* 17: 874-880.
- Kang SA, Jang KH, Cho Y, Hong K, Suh JH, Choue R. 2003. Effects of artificial stomach fluid and digestive enzymes on the aglycon isoflavone contents of soybean and black bean (*Rhynchosia molubilis*: Yak-Kong). *Korean J. Nutr.* 36: 32-39.
- Kim H, Shin JY, Lee AR, Hwang JH, Yu KW. 2017. Physiological Activity of the Fermented small black soybean (*Rhynchosia volubilis*) with a solid state culture of the bearded tooth mushroom (*Hericium erinaceum*) mycelia. *Korean J. Food Nutr.* 30: 1348-1358.
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Choung MS, Moon GS. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 73-77.
- Kim SO. 2006. Research and industrial trend of the functional components of soybean. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 2-10.
- Kim YH, Kim DS, Woo SS, Kim HH, Lee YS, Kim HS, Ko KO, Lee SK. 2008. Antioxidant activity and cytotoxicity on human cancer cells of anthocyanin extracted from black soybean, *Korean J. Crop Sci.* 53: 407-412.
- Lee JH, Kim HJ, Lee BW, Lee YY, Lee BK, Ko JY, Woo KS. 2018. Physicochemical and antioxidant properties of rice cooked with different proportions of black soybeans and cooking methods. *Food Biochemistry.* 1-12.
- Lee KH, Choi HS, Hwang KA, Song J. 2015. Changes in isoflavone content and quality characteristics of *Cheonggukjang* prepared by some different strains. *Korean J. Int. Agric.* 27: 481-488.
- Lee M, Sorn SR, Park Y, Park HK. 2016. Anthocyanin rich-black soybean testa improved visceral fat and plasma lipid profiles in overweight/obese Korean adults: a randomized controlled trial. *J. Med. Food.* 19: 995-1003.
- Lee SY, Eom JS, Choi HS. 2014. Quality characteristics of fermented soybean products by *Bacillus* sp. isolated from traditional soybean paste. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 756-762.
- Leong LP, Shui G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76: 69-75.
- Myung JE, Hwang IK. 2008. Functional components and antioxidative activities of soybean extracts. *Korean Soybean Digest.* 25: 23-29.
- Oh GS, Kang KJ, Hong YP, An YS, Lee HM. 2003. Distribution of organic acids in traditional and modified fermented foods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 1177-1185.
- Park MK, Choi HS, Kim YS, Cho IH. 2017. Change in profiles of volatile compounds from two types of *Fagopyrum esculentum* (buckwheat) *soksungjang* during fermentation. *Food Sci. Biotechnol.* 26:871-882.
- Peng H, Li W, Li H, Deng Z, Zhang B. 2017. Extractable and non-extractable bound phenolic compositions and their antioxidant properties in seed coat and cotyledon of black soybean (*Glycinemax* (L.) merr). *J. Functional Foods.* 32: 296-312.
- Saio K. 1976. Soybeans resistant to water absorption. *Cereal Foods World.* 21: 168-173.
- Shin SD, Choi ID, Lee SK, Park JY, Kim NG, Park CH, Han SI,

Choi HS. 2020. Evaluation of the fermentation properties of different soybean(*Glycine max* L.) cultivars. *Legume Research-An Int. J.* 43: 75-80.

Shon MY, Seo KI, Park SK, Cho YS, Sung NJ. 2001. Some biological activities and isoflavone content of chungkugiang prepared with black beans and *Bacillus* strains. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 662-667.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.

Wang G, Kuan SS, Francis OJ, Ware GM, Carman AS. 1990. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.* 38: 185-190.

Yamashita Y, Wang L, Nakamura A, Nanba F, Saito S, Toda T, Nakagawa J, Ashida H. 2020. Black soybean improves the vascular function through an increase in nitric oxide and a decrease in oxidative stress in healthy women. *Archives of Biochemistry*

and Biophysics. 688: 108408

Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. 2002. Quality characteristics of the *Cheonggukjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *Bacillus licheniformis*. *J. Korean Food Sci. Technol.* 31: 201-210.

Author Information

신동선: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 전문연구원
 박혜영: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구사
 박지영: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구사
 심은영: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구사
 김홍식: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구관
 정광호: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구관
 최혜선: 국립식량과학원 중부작물부 수확후이용과 농업연구사